

Investigaciones y avances en conservación y almacenamiento de los alimentos : trabajos completos del V CICYTAC 2014 / Pablo Daniel Ribotta ... [et al.] ; compilado por Romina Cabrera ... [et al.] ; coordinación general de Victoria Rosati ; editado por Alicia del Valle Aguirre ... [et al.]. - 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 978-987-45738-8-9

1. Conservación de Alimentos. 2. Almacenamiento. I. Ribotta, Pablo Daniel II. Cabrera, Romina, comp. III. Rosati, Victoria , coord. IV. Aguirre, Alicia del Valle, ed.

CDD 664

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



EDITORES

Alicia, Aguirre. (ICYTAC-UNC - CONICET, Córdoba, Argentina).

Agustín, González. . (ICYTAC–UNC - CONICET, Córdoba, Argentina).

Miriam, Strumia. (Universidad Nacional Córdoba - CONICET, Córdoba, Argentina).

PRÓLOGO

Con motivo de haberse realizado en noviembre del 2014 el V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos en la ciudad de Córdoba, Argentina, se pone a disposición del sector académico, científico, tecnológico y empresarial la Primera Edición completa del Libro de Trabajos Completos.

La trascendencia que ha alcanzado la realización de este último Congreso y la relevancia en calidad de las diferentes presentaciones mostrando los avances más recientes en el área de la ciencia y la tecnología de los Alimentos, son el resultado de un trabajo constante orientado a incorporar nuevas temáticas, tendencias y actividades en la materia. Es por esta razón que la publicación de la presente edición ha sido posible gracias al gran número de trabajos de excelente calidad presentados en el CICyTAC 2014 por autores nacionales e internacionales.

Este Libro tiene como objetivo principal suministrar información científica y actualizada sobre "Conservación y almacenamiento" de alimentos. La publicación será especialmente útil en innovación y actualización en el área de conservación presentando nuevos productos y novedosas metodologías de incorporación y mecanismos de acción en temas de conservación, como así también en materiales para envases. Estos enfoques tienden a facilitar acciones intersectoriales y multisectoriales a nivel nacional e internacional para promover el avance en el conocimiento y el desarrollo tecnológico en el área.

Los Editores

CAMBIOS TEXTURALES Y QUÍMICOS DURANTE LA MADURACIÓN DE QUESO PORT SALUT ARGENTINO LIGHT CON CONCENTRADO DE PROTEÍNAS DE LECHE (MPC) LUEGO DE UN LARGO PERÍODO CONGELADO.

Alberini I.C.¹, Miccolo M.E.¹, Rubiolo A.C.^{1,2}

1: INTEC I, Grupo de Alimentos y Biotecnología — Colectora Ruta Nacional 168, km 472.5 — Paraje "El Pozo" S/N. Parque Tecnológico Litoral Centro — S3000GLC — Santa Fe — Santa Fe — Argentina.

2: ITA – FIQ – UNL – Santiago del Estero 2829. S3000GLC – Santa Fe – Argentina.

ialberini@intec.unl.edu.ar

Resumen: Se estudió la textura de un queso Port Salut Argentino con MPC lightluego de permanecer cinco meses congelados. Se analizó el comportamiento de las mediciones reológicas dinámicas durante el tiempo de maduración (6, 20, 33, 47 y 68 días) con el índice de maduración (IM). A los 68 días de maduración, en los quesos congelados disminuyó 11% la humedad y aumentó 25% el contenido de nitrógeno total con respecto a los quesos refrigerados. Entre los 6 y 68 días de maduración, el IM fue mayor para los quesos congelados (17,8 a 29,1) que para los quesos refrigerados (4,4 a 11,6). G' fue mayor que G'' mostrando un comportamiento elástico dominante. Durante la maduración, estos parámetros disminuyeron en los quesos refrigerados, pero aumentaron en los quesos

congelados. De acuerdo a los parámetros del modelo de la Ley de Potencia, las propiedades elásticas fueron más sensibles a los cambios de frecuencia. El coeficiente *a,* fue significativamente afectado tanto por el proceso de congelación como por el tiempo de maduración; el coeficiente *b,* solamente por el proceso de congelación. El largo período de almacenamiento congelado afectó significativamente las características fisicoquímicas y texturales de los quesos.

Palabras Clave: Queso Port Salut Argentino light con MPC, cambios texturales con el tiempo de maduración, almacenamiento congelado, comportamiento reológico.

Abstract: Texture of a Port Salut Argentino light cheese with MPC after five months of frozen storage was studied. Behavior of dynamic rheological measurements during ripening time (6, 20, 33, 47 and 68 days) with maturation index (MI) was analyzed. At 68 days of ripening, moisture decreased 11% and total nitrogen content increased 25% in frozen cheeses respect to control cheeses. Between 6 and 68 days of ripening, MI was higher for frozen (17,8 to 29,1) than control cheeses (4,4 to 11,6). G' was higher than G" showing that elastic behavior was dominant. During ripening, these parameters decreased in control cheeses, but increased in frozen cheeses. According power law model parameters, elastic properties were more sensitive to changes with frequency. Coefficient a, was significantly affected for both freezing process and ripening time; coefficient b, only by freezing process. Long frozen storage period affected significantly the physicochemical and textural characteristics.

Keywords: Port Salut Argentino light cheese, texture changes with ripening, long frozen storage, rheological behavior.

INTRODUCCION

Para el consumidor, la textura del queso es determinante de la calidad y preferencia. Los cambios físicos y químicos que ocurren durante la maduración del queso causan que el cuerpo fresco del queso pierda su firmeza, dureza y textura grumosa (Tunick 2000). En las diferentes variedades de quesos, los cambios en el contenido de humedad, concentración de sal, pH, contenido de grasa y proteína pueden afectar la textura del queso (Verdini y Rubiolo 2002). Desde una perspectiva comercial, un entendimiento de los cambios concretos que ocurren durante la maduración pueden ayudar al control de calidad y al desarrollo de productos.

De acuerdo a Lucey *et al.* (2003), todas las características texturales del queso son una combinación de propiedades reológicas medibles.La matriz continua de proteína del queso tiene una estructura abierta con glóbulos de grasa dispersos, y la naturaleza de esta red determina las propiedades reológicas y de fractura, y la viscoelasticidad del queso (Ustunol *et al.* 1995).Los análisis dinámicos utilizando pequeñas deformaciones oscilatorias es uno de los métodos más importantes y fundamentales para la determinación de las propiedades reológicas de materiales viscoelásticos, y han sido muy utilizados para analizar la estructura de los quesos (Diefes *et al.* 1993, Ak y Gunasekaran 1996, Subramanian y Gunasekaran 1997a, 1997b).

La congelación ha sido citada tradicionalmente como una manera efectiva para preservar el color, flavor y valor nutritivo del queso y para extender la vida útil de los productos lácteos (Lück 1977). Sin embargo, es relativamente efectiva para preservar la textura del queso porque tiende a afectar las características estructurales (Fennema 1972). Durante el proceso de congelación, la formación de cristales de hielo y la concentración por congelación podría generar la ruptura de la red de caseína. Además, la congelación puede dañar las células del starter y la estructura nativa de las enzimas, liberando enzimas proteolíticas al medio con diferente actividad. Este fenómeno podría aumentar con el índice de maduración de los quesos como fue reportado por Graiver *et al.* (2004), Lück (1977) y Verdini *et al.* (2005).

Meza et al. (2011), quienes trabajaron con un queso bajo en grasa conteniendo proteínas de suero microparticuladas como reemplazo de la grasa, reportaron que el proceso de congelación durante 30 días, contribuye al comportamiento viscoelástico durante la maduración, mejorando las características y extendiendo la vida útil de los quesos.

Los quesos con alto contenido de proteínas, características como estructura firme y baja ruptura de proteínas durante el tiempo de maduración, podrían ayudar a reducir el efecto del proceso de congelación, mejorando las características viscoelásticas (Fennema y Powrie 1973).

El concentrado de proteínas de leche (MPC) se obtiene por eliminación delos constituyentes no proteicos de la leche descremada pasteurizada, de manera que el producto final tiene un porcentaje de proteína mayor a 38%. El MPC es utilizado en la fabricación de quesos con leche descremada para aumentar el contenido de proteínas y sólidos, y contrarrestar el alto contenido de agua de este tipo de quesos.

El objetivo de este trabajo fue analizar la textura de queso Port Salut Argentino light con el agregado de MPC, luego de un largo período de almacenamiento congelado (cinco meses), a través de mediciones reológicas durante el tiempo de maduración, y estudiar el comportamiento de estos parámetros con el índice de maduració

MATERIALES Y METODOS Quesos: proceso de congelación y muestreo.

Se utilizaron quesos Port Salut Argentino reducido en grasa, realizados por coagulación con cuajo y con agregado de concentrado de proteína de leche (MPC), provistos por SanCor. Los quesos en bolsas termocontraíbles, de forma cuadrada de 30 cm de lado y 7 cm de altura, fueron transportados hasta el laboratorio para su estudio en contenedores con hielo, en donde fueron separados en dos grupos. Un grupo de 12 quesos fue almacenado en una cámara TABAI Comstar PR 4GM (TABAI ESPEC CORP., Osaka, Japan) a –18°C durante 5 meses, y luego descongelados a 8-10°C y almacenados a esa temperatura para la maduración (quesos congelados). El otro grupo de 12 quesos fue almacenado a 8-10°C y fueron utilizados como quesos control (quesos refrigerados).

Análisis fisicoquímicos

El procedimiento de muestreo fue realizado por duplicado utilizando la metodología descripta por Meza *et al.* (2011). A partir del queso entero (30 cm x 30 cm x 7 cm) se obtuvo una porción central rectangular (30 cm x 7 cm x 7 cm) que fue dividida en tres partes. La parte central cúbica de 7 cm de lado fue utilizada para los realizar los análisis fisicoquímicos, y a partir de las otras dos partes rectangulares (11,5 cm x 7 cm x 7

cm) se obtuvieron las muestras para los análisis reológicos (**Figura 1**). Las muestras de losquesos, refrigerados y congelados, fueron tomadas a distintos tiempos de maduración: 6, 20, 33, 47, 68 y 100 días.

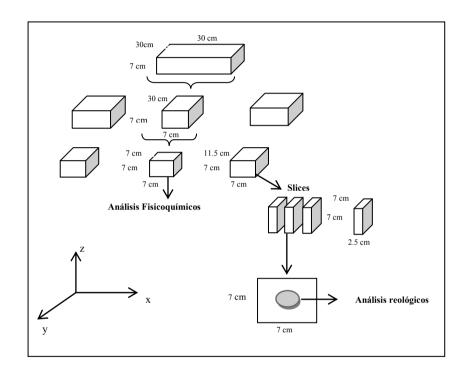


Figura 1: Representación esquemática del proceso de muestreo delos quesos Port Salut Argentino light con concentrado de proteínade leche (MPC) para los distintos análisis.

El contenido de humedad fue medido utilizando un microondas CEMAVC 80 y el contenido inicial de grasa fue determinado usando el procedimiento estándar (AOAC 1990; IDF 1969). Utilizando un protocolo desarrollado por Kuchroo y Fox (1982) y modificado por Verdini y Rubiolo (2002), fue extraída la fracción soluble en agua a pH 4,6 para determinar el contenido de nitrógeno soluble en agua. El contenido de nitrógeno total (NT) y de nitrógeno soluble en agua a pH 4,6 (NS_{pH4,6}) fueron determinados usando un método micro-Kjeldhal con el mismo equipamiento utilizado previamente por Meza *et al.* (2010). El índice de maduración (IM) fue expresado como porcentaje del NS_{pH4,6}al NT, de acuerdo a la ecuación 1. Todos estos análisis fueron realizados por triplicado.

$$IM = \frac{(NS_{pH4,6})}{NT} 100_{(1)}$$

donde IM es el índice de maduración del queso, $NS_{pH4,6}$ es el contenido de nitrógeno soluble en agua a pH 4,6 y NT es el contenido de nitrógeno total.

Análisis reológicos Mediciones reológicas dinámicas

Las mediciones reológicas se realizaronsobre discos de queso de 20 mm de diámetro y 2,5 mm de alto,utilizando un reómetro RheoStress 80 (Haake Inc. Instruments, Karlsruhe, Germany) con geometría plato-plato (diámetro: 20 mm; gap: 2,5 mm). Los barridos de deformación (entre 0,001 y 0,1) a una frecuencia de 62,8rad/s y a 20°C fueron realizados para determinar la región

de viscoelasticidad lineal. Los barridos de frecuencia (entre 0,0628 y 62,8rad/s) en la región de viscoelasticidad lineal a 20°C y a deformación constante de 0,005 se realizaron para medir los parámetros reológicos: módulo elástico (G'), módulo viscoso (G''), módulo complejo ($|G^*|$) y la tangente del ángulo de fase (tan \square). Todas las pruebas reológicas fueron realizadas por duplicado para cada muestra a cada tiempo de maduración.

Parámetros reológicos

La dependencia de G' y G'' con la frecuencia (□) a 20°C de las muestras de quesos fue modelada utilizando las ecuaciones 2 y 3 de la Ley de Potencia (Steffe 1992):

$$G' = a\omega^{x}_{(2)}$$
$$G'' = b\omega^{y}_{(3)}$$

donde los coeficientes *a* y *b* representan la magnitud de G' y G" a una frecuencia de 1 rad/s, y los exponentes *x* e *y* representan las pendientes de la relación lineal entre el módulo y la frecuencia.

Análisis estadísticos

Análisis de la varianza (ANOVA) y análisis múltiple de rango de HSD Tukey fueron aplicados cuando el efecto de los factores fue significativo (P<0,05). Los correspondientes parámetros reológicos derivados de las ecuaciones de la Ley de Potencia fueron determinados utilizando regresión lineal. Los análisis estadísticos completos fueron realizados utilizando Statgraphics (Statgraphics Inc., Rockville, MD, USA).

RESULTADOS Y DISCUSION Propiedades fisicoquímicas

El pH inicial de los quesos fue de 5,35 y el contenido inicial de humedad, grasa y nitrógeno total de los quesos fue de 56,08 ± 0,14%, 12,81 ± 0,09% y 25,22 ± 0,39%, respectivamente. El contenido de grasa y el pH se mantuvieron casi constantes durante todo el tiempo de maduración, aún después del almacenamiento congelado. Los cambios en la humedad y en el contenido de nitrógeno total (NT) a distintos tiempos de maduración para los quesos refrigerados y congelados se muestran en la **Tabla 1**.

Tiempo de		Contenido	Contenido
Maduración	Tratamiento	de	de
(días)		Humedad	nitrógeno
6	Pofrigorados	56,78 ±	24,48 ±
0	Refrigerados	0,82 ^h	0,87 ^a
20		55,64 ±	25,75 ±
20		0,43 ^{g,h}	0,49 ^{a,b}
33		55,45 ±	25,03 ±
33		0,94 ^{f,g,h}	0,43 ^{a,b}
47		55,52 ±	26,76 ±
47		0,44 ^{f,g,h}	1,05 ^{a,b}
68		55,99 ±	26,85 ±
00		0,06 ^{f,g,h}	1,03 ^b
100		55,64 ±	28,72 ±
100		0,01	1,59
·	•		

^aValores medios y desviaciones estándares de tres réplicas. Las medias dentro de una misma columna con la misma letra no son significativamente diferentes (P < 0,05).

Tabla 1: Cambios en los contenidos de humedad y de nitrógeno total (NT) durante la maduración para queso Port Salut Argentino light con concentrado de proteína de leche (MPC). ^a

El contenido de humedad cambia significativamente en los quesos congelados durante el período de maduración estudiado, siendo mayor para los refrigerados que para los congelados. La humedad de los quesos congelados disminuyó 2-7% respecto de los refrigerados, entre los 6 y 47 días, y 11 % a los 68 días de maduración. Después de 100 días de almacenamiento congelado, el agua no fue retenida por la matriz del queso luego del descongelado, causando la disminución de la humedad y el consecuente incremente del NT. Debido a que 100 días es un tiempo de maduración muy largo, usualmente no empleado en el mercado para este tipo de queso, los valores obtenidos para este tiempo de maduración no fueron incluidos en los análisis estadísticos.

La comparación entre el NS_{pH4,6} y el NT durante el tiempo de maduración, para los quesos congelados y refrigerados, se muestra en la **Figura 2**. El contenido de NT cambia significativamente entre los 6 y 68 días, tanto en los congelados como en los refrigerados. Los quesos congelados perdieron más agua y tuvieron menor contenido de humedad, por lo que presentaron 12 a 25% más contenido de NT que los quesos refrigerados. El contenido de NS_{pH4,6} aumentó tanto en los quesos congelados como en los refrigerados, sin embargo no se

observó un cambio estadísticamente diferente durante el tiempo de maduración. Aún así, el contenido de $NS_{pH4,6}$ fue significativamente mayor para los quesos congelados.

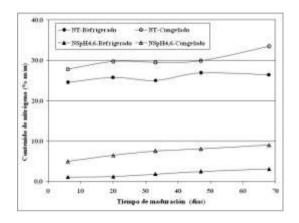


Figura 2:Cambios en el contenido de nitrógeno total (NT) y de nitrógeno soluble en agua a pH 4,6 (NS_{pH4,6}) con el tiempo de maduración, para los guesos congelados y refrigerados.

Bertola *et al.* (1996), quienes trabajaron con queso mozzarella de baja humedad, reportaron que la matriz del queso congelada puede ser más susceptible a la proteólisis primaria, porque el proceso de congelación puede dañar las células del starter liberando altas cantidades de enzimas proteolíticas, incrementando el contenido de nitrógeno soluble. La fracción $NS_{pH4,6}$ contiene péptidos y aminoácidos libres, producidos por la acción de las enzimas del coagulantes que hidrolizan preferentemente la \square_{S1} -caseína en lugar de la \square -caseína (Bertola *et al.* 1991). Graiver *et al.* (2004) estudiaron muestras de queso mozzarella de baja humedad y reportaron mayor contenido de

NS_{pH4,6} en las muestras que fueron congeladas antes de la maduración. Probablemente el daño causado por los cristales de hielo sobre la red de proteínas, que favorece la acción de las enzimas, fue el motivo de la mayor concentración de NS_{pH4,6} que encontraron inicialmente después del ciclo de congeladodescongelado.

En la **Figura 3** se muestran los IM de los quesos congelados y refrigerados. Entre 6 y 68 días de maduración, el IM fue mucho mayor enlos quesos congelados (17,8 a 29,1) que en los refrigerados (4,4 a 11,6). Este comportamiento fue el esperado por el mayor contenido de NS_{pH4,6} de los quesos congelados, incrementando la relación entre NS_{pH4,6} y NT, y en consecuencia el aumento del IM. Meza *et al.* (2010, 2011) reportaron un IM de 4,1 a 13,0 entre 1 y 76 días de maduración, respectivamente, sin diferencias significativas de humedad, en quesos blandos con bajo contenido de grasa, almacenados congelados durante 33 días y luego descongelados. Por otra parte, Verdini *et al.* (2002), quienes estudiaron 2 zonas de muestreo (central y externa) de queso Port Salut Argentino con 30 días de almacenamiento congelado, un IM de 7 a 17 en la zona central, y de 6 a 13 en la zona externa, entre 1 y 56 días de maduración.

En nuestro trabajo, los resultados obtenidos mostraron que un largo período de almacenamiento congelado, produjo diferencias significativas en la proteólisis, incrementando el contenido de NS_{pH4,6} y el IM, y disminuyendo la humedad, lo que aumenta la diferencia entre esos valores.

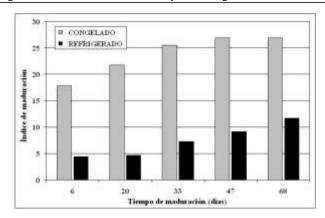


Figura 3: Cambios en el índice de maduración (IM) con el tiempo de maduración (días) para los quesos refrigerados y congelados.

Región de viscoelasticidad lineal y espectro mecánico

Las condiciones experimentales utilizadas para los quesos Port Salut Argentino reducidos en grasa con el agregado de MPC fueron las mismas que utilizó Meza *et al.*(2010, 2011). Los valores de | G* |, a todo tiempo de maduración, no fueron afectados por la deformación aplicada a una frecuencia de 62,8 rad/s. La relación lineal entre la deformación y la tensión aplicadas, indicó que tanto los quesos congelados como los refrigerados, se comportaron como materiales viscoelásticos lineales durante las pruebas dinámicas. Estos resultados indicaron que la extensión de la región lineal viscoelástica utilizada no fue afectada por el proceso de congelación.

Losmóduloselástico (G') y viscoso (G") durante 6, 33 y 68 días de quesos Port Salut Argentino light congelados y refrigerados fueron determinados en función de la frecuencia a 20°C (Figura 4). La dependencia de G' y G" con la frecuencia (en escala loglog) fue aproximadamente lineal en el rango de 0,0628 a 62,8 rad/s, para los quesos congelados y refrigerados, la misma respuesta que reportó Meza et al. (2011). El valor de G' fue significativamente mayor que G" en todo el rango de frecuencias aplicado, y durante el período completo de maduración, indicando un comportamiento elástico predominante en ambos quesos, congelados y refrigerados. Los valores de G' y G" disminuyeron con el tiempo de maduración en el caso de los guesos refrigerados. Sin embrago estos parámetros aumentaron con el tiempo de maduración en los quesos congelados, mostrando que el comportamiento elástico fue más dominante en estos últimos. La diferencia de comportamiento podría ser debido a la disrupción de los glóbulos de grasa y a la proteólisis, la matriz de proteína se reacomoda y se forma una textura más compacta, conteniendo agregados de caseína, como ha reportado Karami et al.(2009), en queso feta UF iraní. Además, este proceso es aumentado en este caso por el agregado de concentrado de proteína de leche (MPC) y la mayor pérdida de humedad.

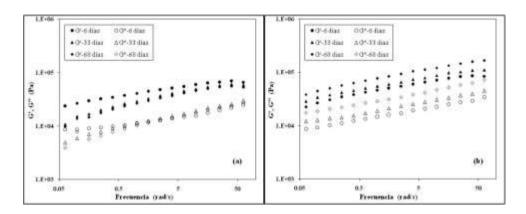


Figura 4:G' y G'' en función de la frecuencia para los quesos refrigerados (a) y congelados (b) alos 6, 33y 68 días de maduración.

Desde un punto de vista estructural, los gráficos de ln (G', G'') en función del ln \square , no exhiben cambios en la pendiente cuando los cambios dentro del gel son reducidos. En geles débiles estas pendientes son positivas, siendo G' mayor que G'' en todo el rango de frecuencias (Rao 1999). En la **Figura 5** se pueden observar pendientes positivas para ln (G', G''), obtenidas para los quesos Port Salut Argentino con MPC, refrigerados y congelados. Para los quesos refrigerados, las pendientes, y también sus cambios con el tiempo de maduración, fueron menores que en los quesos congelados, mostrando que aumentaron los cambios en la red proteica en estos últimos.

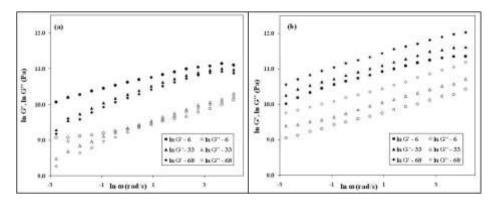


Figura 5:Ln (G', G'') en función del ln □□para los quesos refrigerados (a) y congelados (b) a los 6, 33 y 68 días de maduración.

En la **Figura 6** se muestran los valores de tan □ en función de la frecuencia (en escala log-log) de los quesos refrigerados y congelados a 6, 33 y 68 días de maduración. Tan □ es un parámetro que se utiliza para comparar la cantidad de energía perdida durante un ciclo de prueba y la cantidad de energía almacenada durante ese tiempo (Ferry 1980). Cuando tan □<1, las propiedades elásticas son predominantes. En nuestro trabajo, este parámetro aumentó durante el tiempo de maduración con valores entre 0,31 y 0,51 para los quesos congelados y de 0,26 a 0,52 para los quesos refrigerados, confirmando las propiedades elásticas de las muestras en todo el rango de frecuencias estudiado.

Se ha observado que con el aumento del tiempo de maduración, el comportamiento elástico es menos dependiente de la frecuencia, tanto para los quesos refrigerados como para los congelados.

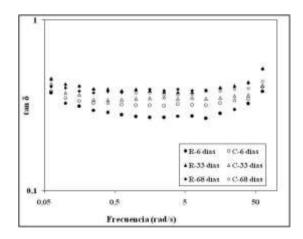


Figura 6:Tan □ en función de la frecuencia (en escala log-log) para los quesos refrigerados (R) y congelados (C) a los 6, 33 y 68 días de maduración.

Parámetros reológicos

La **Tabla 2** muestra los valores de los parámetros reológicos obtenidos con las ecuaciones de la Ley de Potencia que se utilizaron para analizar la dependencia de G' y G" de los quesos refrigerados y congelados, con la frecuencia.

Tabla 2:Parámetros reológicos obtenidos con el modelo de la Ley de Potencia, para los quesos congelados y refrigerados durante todo el tiempo de maduración. ^b

Tiempo de Maduración (días)	Tratamiento	<i>a</i> (kPa.s)	х (-)	R ²	<i>b</i> (kPa.s)	y (-)	R²
6	Refrigerados	56,4 ± 13,1 ^{c,d}	0,157 ± 0,003 ^f	0,96	16,5 ± 3,5 ^k	0,155 ± 0,003 ⁿ	0,96
20		71,9 ± 19,4 ^d	0,263 ± 0,028 ^j	0,95	27,7 ± 7,4 ^k	0,257 ± 0,019 ^r	0,98
33		41,0 ± 8,8 ^c	0,240 ± 0,031 ^{h,i,j}	0,93	16,5 ± 3,5 ^k	0,247 ± 0,024 ^r	0,99
47		48,0 ±	0,255 ±	0,95	16,5 _. ±	0,269	0,99
68		37,9 ± 6,5°	0,251 ± 0,013 ^{i,j}	0,93	16,5 ± 3,5 k	0,271 ± 0,013 ^r	0,99
6	Congelados	62,4 ± 14,1 ^{c,d}	0,193 ± 0,013 ^{f,g}	0,97	16,5 ± 3,5 ^k	0,195 ± 0,011 ^p	1,00
20		61,4 ± 21,2 ^{c,d}	0,200 ± 0,013 ^{g,h}	0,97	16,5 ± 3,5 ^k	0,198 ± 0,056 ^p	0,99
33		63,3 ± 4,7 ^{c,d}	0,199 ± 0,020 ^{f,g,h,i}	0,98	16,5 ± 3,5 ^k	0,195 ± 0,017 ^p	0,99
47		57,2 ± 13,9 ^{c,d}	0,190 ± 0,010 ^{f,g}	0,97	16,5 ± 3,5 ^k	0,199 ±	1,00

					0,015 ^p	
68	109,8 ± 18,6 ^e	0,211 ± 0,009 ^{g,h,i}	0,99	16,5 ± 3,5 ^k	0,204 ± 0,007 ^p	1,00

^bValores medios y desviaciones estándares de dos réplicas.Las medias dentro de una misma columna con la misma letra no son significativamente diferentes (P < 0.05).

El coeficiente *a* fue mayor que el *b* para los quesos refrigerados y congelados, lo que indica que las propiedades elásticas fueron más sensibles que las viscosas, a los cambios de frecuencia. El coeficiente *a* fue afectado tanto por el proceso de congelación como por el tiempo de maduración, en tanto que el coeficiente *b* solo por el proceso de congelación.

Se observó un incremento significativo de los coeficientes a y b en los guesos congelados a los 68 días de maduración (109,8 y 42,7 kPa, respectivamente). Esto podría estar relacionado a la mayor pérdida de agua de estos quesos (49,96% de humedad a los 68 días) que actúa como plastificante entre las cadenas de proteínas, otorgando mayor fluidez a la red proteica. De acuerdo a Diefes et al. (1993), quienes estudiaron queso mozzarella descremado con bajo contenido de grasa, sometido a congelación, la deshidratación de las proteínas causa rupturas en la estructura proteica y produce pequeños glóbulos de grasa. Las proteínas se hacen más compactas o interactúan, formando puentes disulfuro alrededor de los nuevos glóbulos de grasa. Luego de descongelarlas, las proteínas son incapaces de enlazar completamente el agua nuevamente y esto produce una estructura más dura y más sólido-elástica del queso. Por otra parte, Bertola et al. (1996) reportaron que el diámetro de los cristales aumenta durante el proceso de congelación debido a la recristalización, haciendo más difícil la relocalización del agua en la interface lípido-caseína después de la descongelación,

disminuyendo su efecto lubricante y produciendo en el queso una estructura más dura. Este efecto parece ser aún mayor luego de un largo período congelado.

Los coeficientes x e y de los quesos refrigerados aumentaron significativamente entre los 6 y 20 días de maduración, y no cambiaron entre los 20 y 68 días. De acuerdo a Meza *et al.* (2011) estos resultados significan que los módulos elástico y viscoso son más sensibles a los cambios de frecuencia durante la primera etapa de maduración, mostrando menor grado de estructuración de la matriz del queso. Sin embargo, para los quesos congelados, ambos coeficientes se mantuvieron casi constantes durante todo el período de maduración estudiado. Esto podría estar relacionado al grado de estructuración de la matriz proteica que es mayor cuando menor es el contenido de agua.

CONCLUSIONES

Este trabajo ha permitido estudiar la influencia del tiempo de maduración y de un largo período de almacenamiento congelado sobre las características texturales de queso Port Salut light con el agregado de concentrado de proteína de leche (MPC).

El alto contenido de NT y de NS_{pH4,6} y la baja humedad de los quesos congelados afectaron la textura, no solamente provocando mayor IM, sino también sobre su comportamiento reológico. En la región viscoelástica lineal, G' y G'' aumentaron con el tiempo de maduración, debido a que la capacidad de retención de la estructura se vio reducida; una tendencia muy diferente a la observada en los quesos refrigerados, cuyos valores disminuyeron.

El largo período de almacenamiento congelado (cinco meses) causó importantes cambios en el contenido de humedad, el IM y los parámetros reológicos, afectando significativamente las características texturales y el uso final típico de este tipo de queso.

Un simple análisis sensorial mostró un queso más duro aun a temperaturas mayores a la ambiente, que afectó su capacidad de fusión. El concentrado de proteínas de leche no redujo el efecto del largo período de almacenamiento congelado sobre la matriz del queso.

REFERENCIAS

Ak MM, Gunasekaran S. 1996. Dynamic rheological properties of Mozzarella cheeseduring refrigerated storage. Journal of Food Science, 61(3):566-76.

AOAC. 1990. Moisture in cheese. AOAC Official method 977.11. Official methods of analysis: Food composition; additives; natural contaminants (Vol II). Association of Official Analytical Chemists Inc, USA.

IDF. 1969. Determination of the fat content of cheese and of processed cheese products. Standard 5A. Brusels, Belgium: International Dairy Federation.

Bertola NC, Bevilacqua AE, Zaritzky NE. 1991. Changes in rheological and viscoelastic properties and protein breakdown during the ripening of "Port Salut Argentino" cheese. International Journal of Food Science and Technology, 26:467-478.

Bertola NC, Califano AN, Bevilacqua AE, Zaritzky NE. 1996. Textural changes and proteolysis of low-moisture Mozzarella cheese frozen under various conditions. Lebensm-Wiss Technology, 29:470-474.

Diefes HA, Rizvi SH, Bartsch JA. 1993. Rheological behavior of frozen and thawed low-moisture part-skim Mozzarella cheese. Journal of Food Science, 58:764-769.

Fennema O. 1972. Freezing of cheese—pros and cons. Western Milk Ice Cream News. 20 October. Greenbrae, Calif.: Leete. *Citadoen Diefes et al. 1993, Graiver et al. 2004.*

Fennema O, Powrie M. 1973 Low-Temperature preservation of foods and living matter. Chapter 5. Marcel Dekker, Inc. New York.

Ferry JD. 1980. Viscoelastic properties of polymers. New York: John Wiley and Sons Inc. p. 33-35.

Graiver NG, Zaritzky NE, Califano AN. 2004. Viscoelastic behavior of refrigerated and frozen low-moisture Mozzarella cheese. Journal of Food Science, 9:123-128.

Karami M, Ehsani MR, Mousavi SM, Rezaei K, Safari M. 2009. Changes in rheological properties of Iranian UF-Feta cheese during ripening. Food Chemistry, 112:539-544.

Kuchroo CN, Fox PF. 1982. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft, 37:331-335.

Lucey JA, Johnson ME, Horne DS. 2003. Invited review: perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. Journal Dairy Science, 86:2725-2743. *Citado en Meza et al. 2011.*

Lück H. 1977. Preservation of cheese and perishable products by freezing. South Africa Journal Dairy and Technology, 9:127-132. *Citado en Verdini et al.2002, Verdini et al. 2005, Meza et al. 2011.* Meza BE, Verdini RA, Rubiolo AC. 2010. Viscoelastic behavior during the ripening of a commercial low-fat soft cheese. Dairy Science Technology, 90:589-599.

Meza BE, Verdini RA, Rubiolo AC. 2011. Effect of freezing on the viscoelastic behavior during the ripening of a commercial low-fat soft cheese. International Dairy Journal, 21:346-351.

Rao MA. 1999. Rheology of fluids and semisolid foods. Principles and applications. Gaithersburg, Aspen. p. 443.

Steffe JF. 1992. Rheological methods in food process engineering. Miami FL, USA. Freeman Press.

Subramanian R, Gunasekaran S. 1997a. Small amplitude oscillatory shear studies on Mozzarella cheese. Part I. Region of linear viscoelasticity. Journal of Texture Studies, 28:633-42.

Subramanian R, Gunasekaran S. 1997b. Small amplitude oscillatory shear studieson Mozzarella cheese. Part II. Relaxation spectrum. Journal of Texture Studies, 28:643-56.

Tunick MH. 2000. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. Journal Dairy Science, 1892-1898. *Citado en Karami et al. 2009.*

Ustunol Z, Kawachi K, Steffe J. 1995. Rheological properties of Cheddar cheeseas influenced by fat reduction and ripening time. Journal Food Science, 60:1208-1210.

Verdini RA, Rubiolo AC. 2002. Texture changes during the ripening of Port Salut Argentino cheese in 2 sampling zones. Journal Food Science, 67(5):1808-1813.

Verdini RA, Zorrilla SE, Rubiolo AC. 2002. Free amino acid profiles during ripening of Port Salut Argentino cheese after frozen storage. Journal Food Science, 67(9):3264-3270.

Verdini RA, Zorrilla SE, Rubiolo AC. 2005. Effects of the freezing process on proteolysis during the ripening of Port Salut Argentino cheeses. International Dairy Journal, 15:363-370.

Agradecimientos

Los autores agradecen a SanCor Cooperativas Unidas Limitada por el suministro de los quesos. Este trabajo fue realizado con el apoyo económico de la Universidad Nacional del Litoral (Santa Fe, Argentina), el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET – Argentina) y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT – Argentina). Los autores agradecen a Daniel De Piante Vicin por su asistencia técnica en los análisis fisicoquímicos y reológicos.

<u>DESARROLLO DE FILMS BIODEGRADABLES DE</u> <u>PLA-PHB PLASTIFICADO PARA SU APLICACIÓN EN</u> ENVASADO DE ALIMENTOS

Arrieta MP^{1,2}, López J¹, Vico JP², Aleu G², Sequeira G², Rosmini M², Zogbi AP²

1: Instituto de Tecnología de Materiales- Universidad Politécnica de Valencia, Alcoy, España.

2: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina. marina.arrieta@gmail.com

Resumen: La mayoría de alimentos se comercialicen en envases plásticos provenientes de fuentes petroquímicas y generan una importante cantidad de residuos de difícil eliminación. Es por ello que surge la necesidad de desarrollar nuevos plásticos más sostenibles.

El poli(ácido láctico) (PLA) y poli(hidroxibutirato) (PHB) son plásticos provenientes de fuentes renovables y con características biodegradables. Para facilitar el procesado de estos materiales y para brindar flexibilidad al material final, estos biopolímeros deben ser plastificados. El citrato de acetil tri-nbutilo (ATBC) resulta altamente recomendado para plastificar tanto al PLA como al PHB y no representa un problema de inocuidad alimentaria para los consumidores. En el presente trabajo se prepararon mezclas de PLA-PHB en proporción 75:25 y se plastificaron con un 15 % en peso de ATBC (PLA-PHB-ATBC). Las mezclas se prepararon por mezclado en fundido y se procesaron en films para su aplicación en envasado alimentario. La microestructura de los materiales se observó mediante

microscopía óptica y microscopía electrónica. Las propiedades mecánicas de las formulaciones obtenidas fueron evaluadas mediante ensayos de dureza y tracción. La estabilidad térmica de los materiales se estudió mediante la temperatura de reblandecimiento Vicat.

Palabras clave: Envases Biodegradables, PLA, PHB, Plastificantes.

Abstract: Most foods are commercialized in plastic containers based on petrochemical sources and generate a big amount of plastic.wastes which are difficult to dispose. That is why there is a need to develop new and more sustainable plastics.

Poly (lactic acid) (PLA) and poly(hydroxybutyrate) (PHB) are plastics from renewable resources and with biodegradable characteristics. To facilitate the processing conditions of these materials and to provide flexibility to the final material, these biopolymers are plasticized. Acetyl tri-n-butyl citrate (ATBC) is highly recommended as plasticizer for both, PLA and PHB, and it not represent a food safety concern for consumers. In this paper PLA-PHB blends were prepared in 75:25 proportions and were plasticized with 15 wt% of ATBC (PLA-PHB-ATBC). The blends were prepared by melt mixing and processed into films for their application in food packaging. The microstructure of the obtained materials was observed by optical microscopy and scanning electron microscopy. The mechanical properties of the obtained formulations were evaluated by tensile tests and hardness. The thermal stability of the materials was studied by measuring the Vicat softening temperature.

Keywords: Biodegradable Food Packaging, PLA, PHB, Plasticizer.

INTRODUCCIÓN

El estilo de vida actual hace que la gran mayoría de alimentos que consumimos se comercialicen envasados en envases plásticos ya sea a modo de contenedores, films o bolsas. Generalmente los plásticos utilizados en el sector del envasado alimentario son provenientes del petróleo que es un recurso natural no renovable que un día se agotará (Koller et al. 2010). Por otra parte, el elevado consumo de este tipo de envases alimentarios plásticos genera una importante cantidad de residuos de ésta naturaleza. Los residuos plásticos representan un problema a nivel mundial cada vez mayor debido a que generan un impacto negativo en el medio ambiente por su acumulación y contaminación. Si bien los materiales plásticos pueden ser revalorizados a través del reciclado de los mismos, siendo el reciclado de plásticos ampliamente extendido en numerosas aplicaciones industriales, los plásticos provenientes de envases alimentarios presentan algunas limitaciones para ser reciclados por razones técnicas y financieras, como por ejemplo necesidad de lavado previo reciclado. Esto hace que los residuos plásticos que no se reciclan ni se incineran, para su recuperación energética, se acumulen cada año en vertederos (Averous 2004), representando un importante problema medioambiental. Es por ello, que surge la necesidad de desarrollar nuevos plásticos más sostenibles. De esta manera, resulta ampliamente aceptado que el uso de materiales plásticos de larga duración para aplicaciones de corta duración, como es el caso de los envases alimentarios, no es del todo adecuada (Averous 2004) y es por ello que los materiales plásticos de origen renovable y con características biodegradables han cobrado especial interés en la industria del envasado alimentario debido a que representan una alternativa prometedora para remplazar a los polímeros convencionales derivados del petróleo comúnmente utilizados en este sector (Arrieta et al. 2012).

El mercado de los plásticos biobasados y biodegradables termoplásticos se ha desarrollado ampliamente en la actualidad. Por lo tanto, existen muchos materiales termoplásticos biodegradables que ofrecen una gran versatilidad en cuanto a propiedades mecánicas, térmicas, etc. Además estos materiales se procesan utilizando la misma maquinaria que se utiliza para procesar los plásticos convencionales derivados del petróleo, incluyendo la inyección por moldeo, extrusión, moldeo por soplado y termoconformado (Drumright et al. 2000).

El poli(ácido láctico) (PLA) se ha posicionado en el mercado como el polímero biobasado y biodegradable más competente que se utiliza en la actualidad en muchas aplicaciones industriales destinadas al contacto con alimentos como cubiertos, platos, tazas, tapas, pajitas de bebidas, bolsas, films (Conn 1995, Arrieta et al. 2014), botellas, contenedores de helado, envases de vegetales y frutas fresca (Auras et al. 2004). Esto es debido a que el PLA presenta a una serie de propiedades ventajosas para su aplicación en este sector, como son: su características de material seguro en aplicaciones para el contacto con alimentos, clasificado como GRAS (Generally Recognized As Safe) por la FDA (Food and Drug Administration) (FDA, 2005), su elevada transparencia (Arrieta et al. 2013), fácil procesamiento, costo competitivo (Jamshidian et al. 2010) y amigable con el medio ambiente debido a su naturaleza renovable y biodegradable (Fortunati et al. 2012). Sin embargo, el PLA presenta bajas propiedades de barrera al oxígeno y a la humedad (Martino et al. 2009), las cuales deben ser mejoradas para su aplicación en envase alimentario donde éste debe

proteger al alimento del medio exterior. Para mejorar las propiedades de barrera del PLA se lo puede mezclar con otro polímero más cristalino ya que este procedimiento permite conseguir un abanico de propiedades del material final muy amplio, mediante un método que es versátil a nivel industrial y económico. Las mezclas de PLA con otros polímeros de origen renovable y biodegradables han cobrado interés en aplicaciones de envases alimentarios. En este sentido, las mezclas de PLA-PHB han cobrado especial interés en los últimos años para el desarrollo de films biobasados y biodegrables para el envasado de alimentos (Abdelwahab et al. 2012, Arrieta et al. 2014). Se ha observado que la adición de un 25% en peso de poli(hidroxibutirato) (PHB) incrementa la cristalinidad del PLA v por consiguiente disminuve la permeabilidad al oxígeno y la humectabilidad de la superficie del material de PLA (Arrieta et al. 2014).

Para el desarrollo de films, los cuales son ampliamente utilizados en la industria alimentaria, se requiere que el material sea flexible y las mezclas de PLA-PHB presentan elevada rigidez. Para aumentar la flexibilidad de las mezclas de PLA-PHB se puede añadir plastificantes. Se debe tener en cuenta que la selección de los plastificantes está limitada tanto por los requisitos de buena miscibilidad con ambas matrices poliméricas y a su vez el plastificante no debe representar un riego de toxicidad para el consumidor. En trabajos anteriores, se ha observado que la adición de D-limoneno a mezclas de PLA-PHB mejoró la interacción entre ambos polímeros, incrementando la ductilidad del material final debido a un efecto de plastificación. Sin embargo, dicho componente, disminuyó la estabilidad térmica del material (Arrieta et al. 2014). Se ha sugerido que los esteres de citrato, como el citrato de acetil tri-n-butilo (ATBC) es un buen candidato para la plastificación de polímeros destinados al envasado de productos alimenticios debido a que se encuentra aprobado para el contacto con los alimentos (Corgneau et al. 2011). Los esteres de citrato al descomponerse se transforma en ácido cítrico y etanol, lo cuales pueden asimilarse fácilmente por el organismo. Así mismo, el ATBC ha demostrado ser un plastificante eficiente para el PLA (Coltelli et al. 2008, Lemmouchi et al. 2009) y el PHB (Erceq et al. 2005).

En el presente trabajo se prepararon films para su aplicación en envasado de alimentos sostenibles, ya que los materiales utilizados son provenientes de recursos renovables y presentan características biodegradables. Para ello se prepararon mezclas de PLA-PHB en proporción 75:25 y se plastificaron con un 15 % en peso de ATBC (PLA-PHB-ATBC). Las mezclas de los materiales se prepararon por mezclado en fundido a 170°C y posteriormente dichas mezclas se procesaron en films por moldeo por compresión. Asimismo, se prepararon films de PLA plastificados con ATBC (PLA-ATBC), así como también un film de PLA puro y la mezcla de PLA-PHB para comparación. Posteriormente se realizó una caracterización estructural, mecánica y térmica.

MATERIALES Y MÉTODOS Polímeros y plastificantes

La granza de PLA (PLA 2003D, Mn = 98000 g/mol, 4 wt% Disomero) fue suministrada por NatureWorks (Estados Unidos), la granza de PHB (PHI, Mv = 96000 g/mol) fue suministrada por NaturePlast (Francia) y el plastificante ATBC (Mw = 402 g/mol, 98% de pureza) fue suministrado por Sigma Aldrich (España).

Preparación de las muestras de films

Con la finalidad de evitar la presencia de humedad las granzas de PLA fueron previamente secados durante toda la noche a 80°C antes de ser procesados. Las granzas de PHB y el plastificante ATBC fueron secado durante 4 horas a 60°C. Las mezclas de los materiales se realizaron a 170°C a una velocidad de rotación constante de 50 rpm durante 4 min en una mezcladora Haake PolyLab QC (Thermo Fischer Scientific Inc.). Los polímeros se mezclaron durante 3 min y una vez que alcanzaron el estado fundido se adicionó el plastificante ATBC. Las mezclas obtenidas fueron procesadas en films por moldeo por compresión en una prensa de platos calientes (Mini C 3850, Caver, Inc. USA) a 170 °C y aplicando un ciclo de presión de (5 min sin aplicar presión, seguido de 1 min a 2 MPa, 1min a 3,5 MPa y finalmente mantenido 5 min a 3,5 MPa).

Caracterización de los films Caracterización microestructural

El estudio de la morfología microestructural de las formulaciones obtenidas se realizó por micorscopía óptica y electrónica.

Para observar la superficie de las muestras se utilizó un microscopio óptico LV-100 Nikon Eclipse equipado con una cámara Nikon. Las micrografías ópticas se obtuvieron a magnificaciones de 20 x.

Tanto la superficie de las muestras como la superficie de fractura se observaron con un microscopio electrónico de barrido Phenom (FEI Company) utilizando una aceleración electrónica de 10kV. Las micrografías SEM se obtuvieron a magnificaciones de 1000 x. Las muestras fueron previamente metalizadas con una

fina capa de oro para hacerlas conductoras mediante un metalizador EMITECH SC7620 (EMITECH).

Caracterización mecánica

La determinación de durezas de las mezclas obtenidas se llevó a cabo según la norma UNE-EN ISO 2039-2:2000, utilizando la escala Shore A. Las probetas para este ensayo se prepararon a partir de las mezclas obtenidas con una compresora (Buehler, Simplimet 1000) equipada con un molde de 35 mm de diámetro y un espesor de 8 mm. Para obtener una medida estable y fiable se esperó 10 segundos para tomar el valor de dureza Shore A, utilizando un durómetro Baxlo (Baxlo, Instrumentos de medida y precisión, S.L.). Se realizaron 10 medidas de cada muestra y se reportó el valor medio.

El ensayo de tracción se realizó de acuerdo con la norma ASTM D882-91-01 (ASTM, 2001), utilizando una máquina de ensayos universales Single Column System Instron Instrument Modelo 3344 (Fareham Hants, UK) equipada con una célula de carga de 5 kN. Las probetas (10 mm x 100 mm x 0.3 mm) se colocaron a una distancia entre mordazas de 50 mm, sometidas a una velocidad de elongación de 25 mm/ min.

Temperatura de reblandecimiento Vicat (VST)

La temperatura de reblandecimiento Vicat (VST) se realizó de acuerdo a la norma UNE-EN ISO 306. La temperatura a la cual el penetrador alcanza 1 mm de penetración de la superficie de la probeta con respecto a su posición inicial (valor VST) se determinó utilizado una estación Vicat/HDT modelo Deflex 687-A2 (Metrotec, S.A) equipado con un baño de aceite (DOW Corning 200 Fluid 100 CS). El ensayo se realizó con una carga de

50 N y una velocidad de calentamiento del fluido de 50 °C/h. Se determinaron dos valores por cada muestra

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Figura 1** se puede ver el aspecto visual de los films obtenidos (Figura 1 a-d) en las que se puede observar que la presencia del plastificante ATBC no afecta considerablemente el aspecto del PLA, mientras que la presencia de PHB le da una tonalidad ámbar al PLA. Las micrografías ópticas (Figura 1.e -Figura 1.h) y SEM (Figura 1.i - Figura 1.l) de las superficies de las muestras muestran una superficie homogénea, donde no se observa separación de fases ni formación de aglomerados, lo que indica una buena miscibilidad entre las matrices poliméricas de PLA y PHB en la muestra de PLA-PHB (Figura 1.g y Figura 1.k) así como también una correcta incorporación del plastificante a la matriz polimérica de PLA en la muestra de PLA-ATBC (Figura 1.f y Figura 1.j) y en la mezcla de PLA-PHB en la muestra PLA-PHB-ATBC (Figura 1.h y Figura 1.l). Al estudiar la fractura de las muestras mediante su observación por microscopía electrónica (Figura 1.m y Figura 1.p) se puede ver claramente que las muestras plastificadas, PLA-ATBC (Figura **1.n**) y PLA-PHB-ATBC (**Figura 1.p**) presentan mayor ductilidad, evidenciada por una fractura plástica. Por su parte la muestra de PLA puro (Figura 1.m) y PLA-PHB (Figura 1.o) presentan una fractura mucho más rígida.

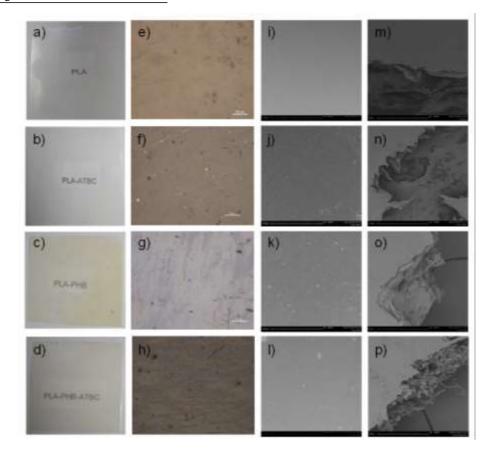


Figura 1. Muestras de PLA (a, e, i y m), PLA-ATBC (b, f, j y n), PLA-PHB (c, g, k y o) y PLA-PHB-ATBC (d, h, l y p). Aspecto visual de los films obtenidos (a-d) y sus correspondientes micrografías ópticas de superficie (e-h), micrografías electrónicas de superficie (i-l) y micrografías electrónicas de la superficie de fractura (m-p).

Los resultados obtenidos de la medida de dureza (Figura 2.a) de los materiales revelaron que el PLA puro es el material que presenta mayor dureza, la cual disminuye ligeramente en la mezcla de PLA-PHB. El efecto de la adición de plastificante muestra que la presencia de ATBC produce una disminución significativa de la dureza Shore A del PLA y PLA-PHB, debido a que el efecto de plastificación que produce el ATBC en la matriz polimérica de PLA y en la mezcla de PLA-PHB facilita el movimiento relativo entre las cadenas poliméricas resultando en un material menos rígido que facilita la penetración del identador del durómetro Shore en el material. Estos resultados se confirman con los resultados obtenidos del módulo de tracción (Figura 2.b) y de resistencia mecánica (Figura **2.c)**, donde se observa que la presencia del plastificante disminuye ambos parámetros. Sin embargo, al observar la influencia de la adición de PHB al PLA se observa que aumenta tanto el modulo elástico (Figura 2.b) como la resistencia del material (Figura 2.c), lo que indica que la presencia de PHB meiora resistencia mecánica del material. comportamiento puede ser debido a la habilidad del PHB de cristalizar como pequeñas esferulitas en la matriz del PLA que pueden actuar como componentes de refuerzo del PLA (Arrieta et al. 2014).

Los valores de porcentaje de alargamiento a la rotura obtenidos a partir del ensayo de tracción (**Figura 2.d**) presentaron la misma tendencia que el ensayo de dureza Shore A (**Figura 2.a**). De esta manera, los materiales sin plastificar revelaron valores muy bajos de elongación a la rotura, un 1,5 % para el film de

PLA puro y un 2 % para el film de PLA-PHB (**Figura 2.d**). La adición de ATBC generó materiales mucho más extensibles alcanzando valores de 240 % en el caso de PLA-ATBC y valores de 180 % en el caso de PLA-PHB-ATBC. Esto se debe a que la plastificación producida por el ATBC facilita el movimiento relativo de las cadenas de los polímeros y, por lo tanto, favorece el alargamiento del material sometido al esfuerzo de tracción. Este resultado destaca la importancia de la adición del plastificante ATBC tanto al PLA como a las mezclas de PLA-PHB para su aplicación en films destinados al envasado alimentario, donde se requiere un material más dúctil y extensible.

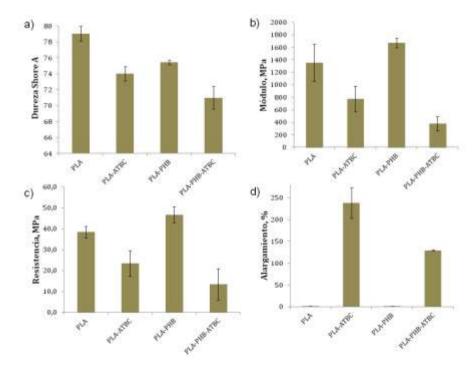


Figura 2. Resultados de las propiedades mecánicas de las muestras de PLA, PLA-ATBC, PLA-PHB y PLA-PHB-ATBC. a) Dureza Shore A (n=10), b) Módulo elástico (n=5), c) Resistencia a la tracción (n=5) y d) porcentaje de alargamiento a la rotura (n=5)

°C, obteniéndose un buen balance de propiedades para el sistema ternario de PLA-PHB-ATBC el cual reveló un valor de VST 10°C superior que la muestra de PLA-ATBC.

La estabilidad térmica de los materiales se estudio mediante la determinación de la temperatura de reblandecimiento Vicat (VST). En la **Tabla 1** se reportan los valores de VST obtenidos para las muestras de PLA, PLA-PHB y las muestras plastificadas (PLA-ATBC y PLA-PHB-ATBC).

Tabla 1. Resultados obtenidos de la temperatura de reblandecimiento Vicat (VST) para PLA, PLA-PHB y los sistemas plastificados (n = 2).

Films	VST (°C)			
ensayados				
PLA	$56,7 \pm 0,1$			
PLA-ATBC	$42,9 \pm 0,1$			
PLA-PHB	$75,2 \pm 0,8$			
PLA-PHB-ATBC	52,5 ± 0,1			

Los resultados obtenidos al realizar el ensayo Vicat muestran que la adición del plastificante provoca una disminución de la temperatura de reblandecimiento Vicat (VST) del PLA, alrededor de 9°C, en buen acuerdo con las propiedades mecánicas obtenidas en estos materiales como se comentó en la sección anterior. Por su parte, la adición de PHB provoca un incremento de la estabilidad térmica del material en aproximadamente 18

CONCLUSIONES

Se han desarrollado materiales biobasados y biodegradables para su aplicación como films para el envasado de alimentos. Para ello se prepararon mezclas de PLA y PHB en proporción 75:25 y posteriormente se plastificaron con ATBC. Se seleccionó este plastificante porque se encuentra autorizado para el contacto con alimentos. Se obtuvieron films con elevada transparencia en todos los casos. Sin embargo la adición de PHB genera una tonalidad ámbar en el material final. La microestructura de los materiales se observó tanto por microscopía óptica como por microscopía electrónica. Se observó una buena compatibilidad entre los dos polímeros, PLA y PHB, y el plastificante ATBC, ya que el estudio por microscopía óptica y electrónica reveló materiales homogéneos y sin separación de fases. La observación de la superficie de fractura por microscopía electrónica demostró el efecto plastificante de ATB en la matriz polimérica tanto de PLa como en la mezcla de PLA-PHB. La adición del PHB permitió reforzar las propiedades mecánicas del PLA obteniéndose materiales con mayor resistencia mecánica. De manera similar la adición del PHB produjo una mayor resistencia térmica del material final. Por su parte la adición del ATBC favoreció la interacción entre los dos polímeros y su efecto plastificante produjo materiales más dúctiles y extensibles, lo cual es necesario para el desarrollo de films. Se puede concluir que las mezclas de PLA-PHB plastificadas con ATBC representan una alternativa prometedora para reemplazar los plásticos tradicionalmente utilizados en el sector del envase alimentario, ya que presentan un equilibrio de propiedades compatibles para el requerimiento final ofreciendo la ventaja de provenir de fuentes renovables y de ser materiales biodegradables.

BIBLIOGRAFÍA

Abdelwahab MA, Flynn A, Chiou BS, Imam S, Orts W, Chiellini E. 2012. Thermal, mechanical and morphological characterization of plasticized PLA–PHB blends. Polymer Degradation and Stability, 97 (9): 1822–1828.

Arrieta MP, Parres F, López J, Ferrándiz S, Navarro R. 2012. Pyrolysis of bioplastic wastes: Obtained products of poly(lactic acid) PLA. DYNA, 135 (3): 1511-1519.

Arrieta MP, López J, Hernández A, Rayón E.

Arrieta MP, López J, Ferrándiz S, Peltzer M. 2013. Cahracterization of PLA-Limonene blends for food packaging applications. Polymer Testing, 32(4): 760-768.

ASTM. 2001. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, standards designation: D882-01. Philadelphia, USA.

Auras R, Harte B, Selke S. 2004. An Overview of Polylactides as Packaging Materials. Macromolecular Bioscience, 4(9): 835-864. Averous L. 2004. Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: A review. Journal of Macromolecular Science-Polymer Reviews, C44 (3): 231-274.

Coltelli M-B, Della Maggiore I, Bertold M, Signori F, Bronco S, Ciardelli F. Poly(lactic acid) properties as a consequence of poly(butylene adipate-co-terephthalate) blending and acetyl tributyl citrate plasticization. 2008. Journal of Applied Polymer Science, 110(2): 1250-1262.

Conn RE. 1995. Safety assessment of polylactide (PLA) for use as a food-contact polymer. Food and Chemical Toxicology, 33(4): 273-283.

Courgneau C, Domenek S, Guinault A, Averous L, Ducruet V. 2011. Analysis of the Structure-Properties Relationships of

Different Multiphase Systems Based on Plasticized Poly(Lactic Acid). Journal of Polymers and the Environment, 19 (2): 362-371. Drumright RE, Gruber PR, Henton DE. 2000. Polylactic acid technology. Advanced Materials, 12(23):1841-1846.

Erceg M, Kovacic T, Klaric I. Thermal degradation of poly(3-hydroxybutyrate) plasticized with acetyl tributyl citrate. 2005. Polymer Degradation and Stability, 90(2): 313-318.

FDA, A.U. Inventory of Effective Food Contact Substance (FCS) 2005; Available from: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnDetailNavigation.cf m?rpt=fcsListing&id=475

Fortunatia E, Armentanoa I, Zhou Q, Iannonia A, Saino E, Visai L, Berglundd LA, Kenny. 2012. Multifunctional bionanocomposite films of poly(lactic acid), cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. Carbohydrate Polymers, 87: 1596-1605.

Koller M, Salerno A, Dias M, Reiterer A, Braunegg G. 2010. Modern Biotechnological Polymer Synthesis: A Review. Food Technology and Biotechnology: 48(3):255-69.

Jamshidian M, Tehrany EA, Imran M, Jacquot M, Desobry S. 2010. Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9: 552-571.

Lemmouchi Y, Murariu M, Dos Santos AM, Amass AJ, Schacht E, Dubois P. 2009. Plasticization of poly(lactide) with blends of tributyl citrate and low molecular weight poly(D,L-lactide)-b-poly(ethylene glycol) copolymers. European Polymer Journal, 45(10): 2839-2848.

Martino VP, Ruseckaite RA, Jiménez A. 2009. Processing and characterization of poly(lactic acid) films plasticized with commercial adipates. Journal of Applied Polymer Science, 112: 2010-2018.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia de España a través del proyecto MAT2011-28468-C02-02. Dr. MP Arrieta agradece a la Generalitat Valenciana por la beca otorgada para la formación del personal investigador en centros de investigación de la Comunitat Valenciana a través del programa Santiago Grisolía (GRISOLIA/2011/007).

ANTIOXIDANTES NATURALES: EFECTO SOBRE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE CHÍA

Bodoira R.M.⁽¹⁾, Usseglio V.⁽²⁾, Ribotta P.D.*^(2,3) Penci M.C.^(2,3), Martínez M.L.*^(1,2)

⁽¹⁾IMBIV - CONICET - UNC y FCEFyN - ICTA - UNC. Av. Vélez Sársfield 1611.

Resumen

El aceite de chía (Salvia hispanica L.) posee excelentes propiedades nutricionales pero debido al elevado nivel de insaturación (>80 %) es altamente susceptible al deterioro oxidativo. La adición de antioxidantes, mejora la estabilidad de los lípidos y prolonga la vida útil de los alimentos que los contienen. El objetivo de este trabajo fue analizar la eficacia de antioxidantes naturales tocoferoles (TOC), palmitato de ascorbilo (PA) v extracto de romero (ER) sobre la estabilidad oxidativa del aceite de chía obtenido por prensado en frío bajo condiciones de almacenamiento prolongado. Se utilizó un aceite de chía obtenido por prensado sobre el que se evaluó la capacidad antioxidante de: (tocoferoles (TOC) al 70%; Palmitato de Ascorbilo (PA) al 10 %; una mezcla PA+TOC (50:50) y Extracto de Romero al 1% (ER). Con una periodicidad guincenal se determinó el índice de peróxido (IP); acidez y coeficientes de extinción específica (k_{232} y k_{270}), lo que permitió determinar que: 1) el aceite de chía es susceptible al deterioro foto oxidativo; 2) existe un sinergismo entre PA y TOC 3); la combinación PA y TOC resultó más efectiva que el TBHQ y 4) ER y TOC no tuvieron propiedades antioxidantes en la presente matriz lipídica.

Palabras clave: chía, aceite, estabilidad oxidativa, antioxidantes naturales, almacenamiento prolongado.

Abstract

The chia seed (Salvia hispanica L.) is globally popular and valued for its nutritional and health attributes. Chia oil is composed mainly of triglycerides, in which polyunsaturated fatty acids (PUFAs, linoleic and a-linolenic acids) are present in high amounts. Although it seems clear that such fatty acid composition is favorable from a nutritional point of view, higher contents of linoleic and linolenic acids result in poorer oxidative stability and shorter shelf life of the oil. Antioxidants can increase shelf life of food products by retarding lipid oxidation. The aim of this study was to evaluate the combined effects of the storage condition (300 days under fluorescent light - 800 Lux - or darkness condition, both at room temperature) with the addition of natural antioxidants (rosemary extract RE;tocopherol, TOC; ascorbyl palmitate, AP) on quality indices related to chia oil oxidative stability. The results showed that chia oil is susceptible to undergo a photo-oxidative degradation, resulting in significantly increased amounts of primary oxidation products. Under darkness-storage condition, the addition of AP and TOC together significantly reduced lipid oxidation and improved oil shelf life. Moreover, this combination maintain an acceptable quality at least up to 300 days of storage. Results from this work stressed the influence of the illumination condition on chia oil oxidative stability, suggesting that this oil should be stored in containers with light-barrier properties, and may be added with the antioxidants examined in the current study.

⁽²⁾ FCEFyN – UNC. Av. Vélez Sársfield 1611.

⁽³⁾ ICYTAC - CONICET - UNC. Ciudad Universitaria 501.

^{*}marcelamartinez78@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La Salvia hispanica L., chía, hierba anual de verano que pertenece a la familia Labiaceae nativa de México y Guatemala, su semilla posee aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales (Ixtaina *et al.,* 2008, 2011; Ayerza y Coates 2004, 2011), se destaca por ser su aceite la mayor fuente vegetal de ácidos grasos de la serie ω -3 conocida hasta el momento, con más de un 60% de ácido linolénico (LNA), un ácido graso poliinsaturado (AGPI), que junto con la serie ω -6 son considerados esenciales. Se reconocen muchos beneficios aportados por estos, en cuanto a la salud coronaria, nerviosa, visual, inmunológica y embriológica (Bowen y Clandini 2005; Peet y Stokes 2005; Galli y Marangoni 2006; Mazza *et al.,* 2007; Fereidoon 2009).

Las reacciones de oxidación de los lípidos conocidas como rancidez oxidativa se caracterizan por la acumulación de hidroperóxidos potencialmente tóxicos (Colles *et al.,* 2001; Dobarganes y Márquez-Ruiz 2003) y por ser autopropagadas, siendo el grado de insaturación el factor que mayormente influye en la velocidad de las mismas. Motivan una disminución de la calidad nutricional y sensorial debido a pérdidas de ácidos grasos esenciales, actividad vitamínica y color. Los antioxidantes son moléculas con variados mecanismos de acción (donores de hidrógeno, agentes quelantes principalmente) o procesos de protección física capaces de retardar o prevenir el deterioro asociado a dichas reacciones. La eficacia depende de sus características químicas, su concentración, si se encuentran solos o combinados con otros, del tipo de sustrato y sus antioxidantes.

Si bien la mayor parte de los antioxidantes de grado alimentario son sustancias fenólicas sintéticas, están siendo cuestionados respecto a su seguridad y reevaluados en cuanto a sus rutas metabólicas (Shahidi y Zhong 2005; Igbal y Bhanger 2007) de hecho, compuestos muy utilizados en la industria aceitera como Terbutilhidroxianisol (BHA), Diterbutilmetilfenol (BHT) y Diterbutilhidroquinona (TBHQ) han sido prohibidos en países de la Comunidad Europea. En consecuencia existe un gran interés por obtener y utilizar antioxidantes provenientes de fuentes naturales, entre los que se encuentran fenoles simples, ácidos fenólicos, carotenoides, antocianinas y flavonoides extraídos de hierbas y especias (Irwandi et al., 2000; Yanishlieva y Marinova 2001; Frankel 2005; Maestri et al., 2006). Entre estos, el extracto de romero (Rosmarinus officinalis L) (ER), se encuentra reconocido como un aditivo GRAS, siendo el ácido carnósico el componente activo mayoritario que actúa como antioxidante (Terpinc et al., 2009; Visentin et al., 2011), fue adicionado sólo y combinado en estudios previos (Erkan et al., 2008; Zhang et al., 2010; Chen et al., 2014). Otro ejemplo es el ácido ascórbico (Vitamina C), posee propiedades fuertemente reductoras debido al grupo enodiol, su versión liposoluble, palmitato de ascorbilo demostró potencialidad en varios aceites vegetales (Marinova y Yanishlieva 1990; Hras et al., 2000; Hawrysh et al., 2006; Martinez *et al.*, 2013^a; Martinez *et al.*, 2013^b). Los tocoferoles abundan de forma natural en las grasas vegetales sin refinar, en conjunto con los tocotrienoles se los conoce como vitamina E y se distinguen los isómeros α , β , γ y α (Wagner y Elmadfa 2000).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar la eficacia de antioxidantes naturales tocoferoles (TOC), palmitato de ascorbilo (PA) y extracto de romero (ER) sobre la estabilidad

oxidativa del aceite de chía obtenido por prensado en frío bajo condiciones de almacenamiento prolongado.

Materiales y Métodos

Obtención del aceite de chía

Las semillas de chía fueron prensadas en una prensa de tornillo helicoidal escala piloto (Komet Modelo CA 59 G) con las siguientes condiciones: 10 % b.h. (0,111 b.s.), temperatura de extracción 30°C, reducción de la prensa 6 mm y velocidad 20 rpm (Martínez *et al.,* 2012). El extracto (aceite + sólidos) obtenido fue filtrado utilizando un filtro prensa.

Análisis Químicos

Grado de acidez (GA), índice de peróxidos (IP), dienos (k232) y trienos (k270) conjugados (AOCS 2009).

Composición acídica, índice de yodo y AGMI/AGPI: esterificación seguida de cromatografía gaseosa (Clarus 500, Perkin Elmer) con detector de ionización de llama (FID), columna capilar (Supelcowax-10), nitrógeno como gas portador (1 mL/min) y utilizando un programa de temperatura (Maestri et al., 1998). Contenido de pigmentos: (Papaseit 1986).

Estabilidad Oxidativa: mediante el método de oxidación acelerada por Rancimat a 100 °C con flujo de aire 20 mL/min y 3 g de aceite.

Actividad antioxidante (radical DPPH) (Brad-Williams et al., 1995).

Contenido de tocoferoles: por cromatografía líquida de alta presión (Pocklington y Dieffenbacher 1988), con columna de sílica de fase normal (Lichrosorb Si 60), fase móvilm

n-hexano:acetato de etilo (70:30 v/v) a un flujo de 1 mL/min y detector UV (295 nm).

Fenoles totales y σ -difenoles: Previa extracción con metanol se realizó la cuantificación del contenido de fenoles totales mediante la reacción con el reactivo de Folin-Ciocalteau y posterior lectura espectrofotométrica a 725 nm (Vázquez-Roncero et al., 1973) y con Na2MoO4.2H2O y lectura a 350 nm en el caso de los σ -difenoles (Gutfinger 1981).

Determinación del factor de protección de antioxidantes naturales mediante Rancimat

Se evaluaron en Rancimat a 100°C distintas concentraciones de los siguientes antioxidantes para seleccionar cuales y en qué concentración serán utilizados en el ensayo de almacenamiento prolongado, se utilizaron concentraciones, en algunos casos, muy superiores a lo que permite el CAA con el objetivo de analizar si existe un efecto prooxidante por aumento de la concentración (Hras et al 2000):

Mezcla de Tocoferoles al 70 % (Danisco) (TOC): Composición: α = 8,8%, β = 1,55%, γ = 61,82% y d= 27,82%. Sólo: a concentraciones entre 50-800 ppm, y combinado con PA en una proporción 50:50 para probar la posible existencia de sinergismo encontrada en otras matrices (Marinova y Yanishlieva 1990).

Palmitato de Ascorbilo (PA): sólo (50-800 ppm) y en combinación con TOC.

Extracto de Romero (ER): el utilizado fue al 1% (Danisco) de compuestos triterpénicos y fue evaluado sólo (1000-16000 ppm) y en combinación con 200 ppm de PA y 200 ppm de TOC sólo a una concentración (8000 ppm).

El tiempo de inducción (TI) es un valor en horas que el equipo Rancimat obtiene cuando el incremento en la conductividad de la solución de medición (agua miliQ) se hace constante. El factor de protección (FP) de un antioxidante es el cociente entre el TI del aceite aditivado y sin aditivar (TIcontrol), cuanto más alejado de 1 esté el FP, mejor será dicho antioxidante. En el caso de las combinaciones de dos antioxidantes, los TI resultantes se utilizaron para calcular el sinergismo mediante la ecuación de Bishov et al., 1977 :

(1) %Syn:
$$\frac{(TI_{mezcla}-TI_{control}) - [(TI_1 - TI_{control}) + (TI_2 - TI_{control})]}{100} x$$

$$\frac{(TI_1 - TI_{control}) + (TI_2 - TI_{control})]}{(TI_1 - TI_{control})} x$$

Ensayo de almacenamiento prolongado

Con el propósito de evaluar la estabilidad oxidativa del aceite de chía se llevó a cabo un ensayo de almacenamiento prolongado de tipo dinámico durante 300 días en una cámara con iluminación permanente (luz fluorescente, intensidad 800 Lux) y temperatura controlada (25°C). En este tipo de ensayos a diferencia de los estáticos (Ixtaina *et al.,* 2012) a medida que se van tomando muestras el espacio de cabeza, que contiene oxígeno, aumenta. Esta situación coincide con lo que sucede con el aceite almacenado por el consumidor.

Los tratamientos (tabla 1) se almacenaron en oscuridad, lo que se logró recubriendo los envases (250 mL) con una lámina de aluminio, el TBHQ se seleccionó como un control positivo, debido a su conocida capacidad en la estabilización de aceites comerciales, también un control sin aditivar (CO) y uno sin aditivar y sin recubrir con aluminio (CL) para analizar los efectos producidos por la luz (fotooxidación). Con una periodicidad

quincenal se extrajeron muestras (10 g) de cada uno de los tratamientos y se analizó: GA, IP, k_{232} y k_{270} .

Código	Antioxidante/s	Concentración	Condición
CL		Control	Luz
СО		Control	Oscuridad
PA	Palmitato de	200 ppm	Oscuridad
	Ascorbilo		
ER	Extracto de Romero	8000 ppm	Oscuridad
TBHQ	Terbutilhidroquinona	200 ppm	Oscuridad
TOC	Tocoferoles al 70%	200 ppm	Oscuridad
PA +		200 ppm de	Oscuridad
TOC		c/u	

Tabla 1: Tratamientos utilizados para evaluar la estabilidad del aceite de chía en un ensayo de almacenamiento prolongado (luz fluorescente, intensidad 800 Lux, 25°C) seleccionados según los resultados obtenidos en Rancimat mediante la oxidación acelerada del aceite de chía.

Análisis estadísticos

La base informática utilizada fue el programa INFOSTAT versión 2011. Los tratamientos fueron realizados por triplicado y las diferencias entre ellos se estimaron mediante análisis de la varianza (ANAVA) y, cuando fuera necesario, un test a posteriori de comparaciones múltiples (Fisher LSD: $p \le 0,05$).

Resultados y Discusión

En la tabla 2 se presentan los resultados de la caracterización química del aceite de chía obtenido por prensado en frio.

Parámetro	Media ± DE
GA (% Oleico)	0,13 ± 0,003
IP (meq O ₂ /Kg aceite)	ND
Acidos Grasos (%)	
Palmítico	7,46 ± 0,15
Palmitoleico	Tr
Esteárico	2,98 ± 0,09
Oleico	7,18 ± 0,15
Linoleico	20,1 ± 0,16
Linolénico	61,8 ± 0,46
Araquídico	Tr
IY	212 ± 1,7
AGMI/AGPI	0.09 ± 0.002
Carotenos (mg/Kg)	5,41 ± 0,09
Clorofilas (mg/Kg)	4,66 ± 0,06
K ₂₃₂	1,35 ± 0,07
K ₂₇₀	0,15 ± 0,02
EO (horas)	3,04 ± 0,25
DPPH	40,3 ± 0,29
Tocoferoles (mg/Kg)	
α	Tr
β	ND

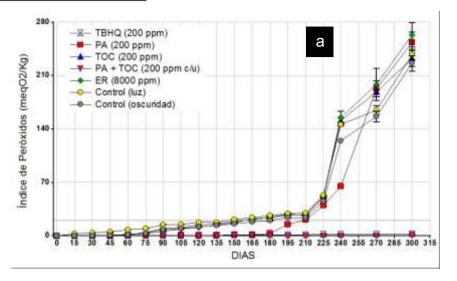
γ			652 ± 41,9
ď			64,8 ± 2,68
Fenoles	Totales	en	
aceite(mg/	Kg)		42,1 ± 3,96
σ -difenoles	en aceite(mg/k	(g)	3,99 ± 0,85

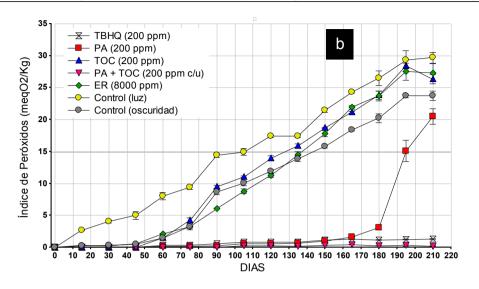
Tabla 2: Parámetros químicos del aceite de chía obtenido por prensado en frio. Abreviaturas: GA, grado de acidez; IP, índice de peróxidos; IY, índice de yodo; AGMI/AGPI: relación ácidos grasos monoinsaturados y polinsaturados, EO: Estabilidad oxidativa y DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil. Valores medios (n=3) ± desvío estándar. Tr: valores trazas. ND (No Detectado).

Los trabajos de almacenamiento prologando bajo condiciones reales de anaquel son escasos (Okogeri y Tasioula-Margari 2002; Sinesio $et\ al.$, 2005; Gambacorta $et\ al.$, 2006; Gómez Alonso $et\ al.$, 2007; Let $et\ al.$, 2007; Olmedo $et\ al.$, 2008; Arcoleo $et\ al.$, 2009; Horn $et\ al.$, 2009; Ixtaina $et\ al.$, 2012; Martinez $et\ al.$, 2013^a). En este trabajo, en cuanto a la evolución del GA (datos no mostrados) no se observaron diferencias estadísticamente significativas (p \leq 0,05) en ninguno de los tratamientos entre el tiempo cero y a los 300 días de almacenamiento. Evidenciando que el aceite de chía es estable frente a la degradación hidrolítica de los glicéridos, aún en condiciones de exposición a la luz.

En cuanto al IP (Figura 1a ,b y c), a partir de los 60 días, los tratamientos: PA, PA + TOC y TBHQ demostraron mayor efectividad en la protección del aceite, no mostrando diferencias

significativas entre ellos hasta los 135 días, momento a partir del cual la combinación PA + TOC, se diferenció significativamente de los otros dos y mostró los valores más bajos de IP hasta el final de ensavo (Figura 1c)., mientras que el tratamiento PA a los 185 días mostró un incremento acelerado llegando a 15 megO₂/Kg de aceite (límite máximo establecido por el CAA para aceites comestibles) a los 195 días. La combinación de PA y TOC fue más eficaz que el TBHQ (control positivo) para prolongar el periodo de inducción del aceite de chía (0,66 y 2,35 meg O₂/kg a los 300 días de almacenamiento, respectivamente). Por su parte los tratamientos CO, ER y TOC no demostraron buena capacidad antioxidante superando dicho límite a partir aproximadamente los 135-150 días de almacenamiento. Resultados similares con ER y TOC fueron obtenidos por Ixtaina et. al (2012), pero en un ensayo estático. Del análisis conjunto de los parámetros evaluados surge que la condición lumínica (CL) ejerce un efecto significativo sobre la generación de productos de oxidación primaria (Figura 1b), demostrando que la fotoxidación acelera el proceso, debido posiblemente también a la presencia de un fotosensibilizador como las clorofilas (Wong 1995; Frankel 2005) en cantidad suficiente para que actúe mediante la producción fotoguímica de oxígeno singulete (Suzuki et al., 1984).





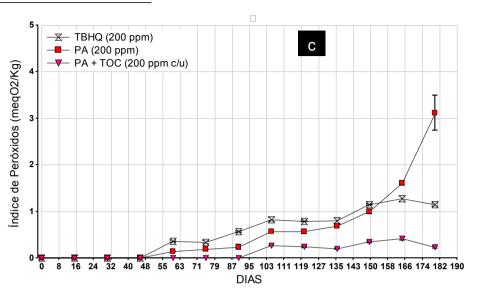
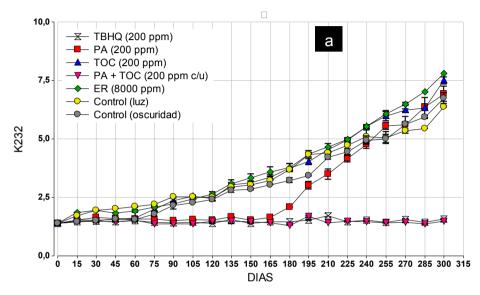


Figura 1: Evolución del índice de peróxidos (meq O_2 /kg aceite) durante el almacenamiento del aceite de chía en condiciones de iluminación (800 Lux) — oscuridad y temperatura (25 ° C) controladas. **(a)** hasta los 300 días **(b)** detalle hasta los 210 días **(c)** detalle hasta los 180 días de los tratamientos PA, PA+TOC y TBHQ.

Respecto a la dinámica de los parámetros oxidativos k232 (Figura 2a) y k270 (Figura 2b), evidencian la misma tendencia que IP.



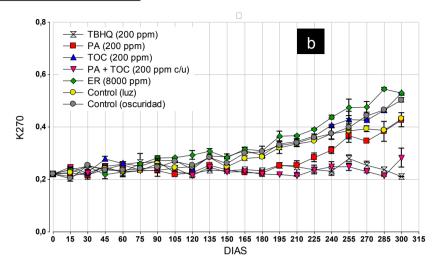


Figura 2: Evolución de los coeficientes de extinción específica de los distintos tratamientos durante el almacenamiento del aceite de chía (300 días) en condiciones de iluminación (800 Lux) – oscuridad y temperatura (25 ° C) controladas. **(a)** dienos conjugados y **(b)** trienos conjugados.

Los pigmentos (tabla 3) disminuyen significativamente a los 165 días de almacenamiento, no existiendo diferencias estadísticamente significativas para los carotenos entre las condiciones de luz y oscuridad, pero sí para las clorofilas que se reducen un 80% en luz y un 63% en oscuridad. Se observó un incremento significativo en el DDPH remanente a los 300 días de almacenamiento en ambas condiciones lumínicas.

		Control Luz		Control C	Oscuridad
Parámetro	Día 0	Día 165	Día 300	Día 165	Día 300
% Ácidos Grasos					
Palmítico	$7,46^a \pm 0,15$	6,54 ^a ± 0,39	6,8° ± 0,68	6,88° ± 0,34	6,64 ± 0,38
Palmitoleico	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
Esteárico	2,98° ± 0,09	2,46° ± 0,2	$3.3^{a} \pm 0.74$	2,62° ± 0,21	$3,63^a \pm 0,76$
Oleico	7,18° ± 0,15	6,54° ± 1,28	5,15° ± 1,2	6,29 ^a ± 0,49	5,46° ± 0,78
Linoleico	20,1 ^a ± 0,16	19,1° ± 0,96	19,74° ± 0,24	19,9 ^a ± 0,39	19,5° ± 0,74
Linolénico	61,8° ± 0,46	66,4° ± 2,91	64,83° ± 2,33	64,3 ^a ± 1,36	64,6° ± 1,75
IY	212 ^a ± 0,94	222 ^a ± 6,49	218 ^a ± 5,24	217 ^a ± 2,6	217 ^a ± 3,48
Carotenos (mg/Kg)	5,41 ^a ± 0,09	3,22 ^b ± 0,35	2,43° ± 0,18	3,44 ^b ± 0,09	2,84° ± 0,41
Clorofilas (mg/Kg)	4,66° ± 0,06	0,9° ± 0,09	1,14° ± 0,49	1,69 ^b ± 0,08	2,23 ^b ± 0,97
DPPH	35,6° ± 0,51	36,2° ± 0,41	48,9 ^b ± 1,50	40,5° ± 1,39	51,6 ^b ± 2,53
Tocoferoles (mg/Kg)					
α	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
β	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
γ	651 ^b ± 41,9	598 ^b ± 8,38	405° ± 23,58	600 ^b ± 13,2	414 ^a ± 52,5
ď	$64.8^{a} \pm 2.68$	68,4° ± 1,39	65,9° ± 0,81	67,7 ^a ± 1,76	67,0° ±1,66

Tabla 3: Parámetros químicos medidos a: 0 , 165 y 300 días de almacenamiento en los aceites control (luz y oscuridad). Valores medios (n=3) \pm DE. Tr. valores trazas. Valores medios seguidos por letras diferentes difieren significativamente (p \leq 0.05).

Este hecho pudo deberse a que el contenido de tocoferoles (antioxidantes propios del aceite) disminuyó un 30 % aproximadamente. El porcentaje relativo de los distintos ácidos grasos no presentó diferencias significativas entre 0, 165 y 300 días de almacenamiento.

Por su parte, en el ensayo estático, los tratamientos CL y CO, presentaron luego de 300 días de almacenamiento un índice de peróxidos de 6,70 y 3,03 meq O₂/kg aceite, respectivamente; este resultado podría deberse, en ambos casos, a la baja disponibilidad de oxígeno en el interior del envase y en CO a un efecto protector adicional debido a la ausencia de luz. El resto de los tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas en IP entre el día cero y 300. Respecto al índice de acidez y perfil de ácidos grasos, cómo era de esperar, los tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo cero y final del ensayo estático. Si bien, el contenido de tocoferoles se mantuvo constante hasta el final del ensayo; el contenido de pigmentos, carotenoides y clorofilas, presentó una disminución promedio del 35 y 70 %, respectivamente (tabla 4).

	Control Luz		Control	Oscuridad
Parámetro	Día 0	Día 300 (est)	Día 0	Día 300 (est)
% Acidos Grasos				
Palmítico	$7,46^{a} \pm 0,15$	$6,01^a \pm 0,37$	$7,46^{a} \pm 0,15$	$6,03^{a} \pm 0,14$
Palmitoleico	Tr	Tr	Tr	Tr
Esteárico	$2,98^{a} \pm 0,09$	2,65° ± 0,05	$2,98^a \pm 0,09$	$2,77^{a} \pm 0,03$
Oleico	$7,18^{a} \pm 0,15$	5,91° ± 0,35	$7,18^a \pm 0,15$	$5,73^{a} \pm 0,08$
Linoleico	20,1° ± 0,16	19,8° ± 0,18	20,1° ± 0,16	19,8° ± 0,06
Linolénico	$61.8^{a} \pm 0.46$	$65,4^{a} \pm 0,63$	$61.8^{a} \pm 0.46$	$65,4^{a} \pm 0,22$
IY	$212^{a} \pm 0.94$	220° ± 1,48	$212^{a} \pm 0,94$	220° ± 0,51
Carotenos (mg/Kg)	5,41° ± 0,09	3,32 ^b ± 0,16	5,41° ± 0,09	$3,69^{b} \pm 0,06$
Clorofilas (mg/Kg)	$4,66^{a} \pm 0,06$	1,38° ± 0,13	$4,66^{a} \pm 0,06$	1,61 ^b ± 0,03
DPPH	35,6° ± 0,51	$37,4^a \pm 0,56$	35,6° ± 0,51	38,7° ± 1,85
Tocoferoles (mg/Kg)				
α	Tr	Tr	Tr	Tr
β	Tr	Tr	Tr	Tr
γ	652 ^b ± 41,9	659 ^b ± 3,51	652 ^b ± 41,9	666 ^b ± 11,3
ď	$64.8^{a} \pm 2.68$	66,6° ± 2,82	$64.8^{a} \pm 2.68$	68,2°± 1,88

Tabla 4: Parámetros químicos del ensayo estático medidos a: 0 y 300 días de almacenamiento en los aceites control (luz y oscuridad). Valores medios (n=3) \pm DE. Tr: valores trazas. Valores medios seguidos por letras diferentes difieren significativamente (p \leq 0.05).

CONCLUSIONES

Los beneficios nutricionales que sin duda aportaría el consumo de aceite de chía se deben, principalmente, al elevado contenido de ácidos grasos ω3 y ω6, sin embargo también conlleva una desventaja tecnológica en cuanto a la estabilidad del producto. A pesar de que posee naturalmente sustancias antioxidantes, cuando se encuentra expuesto a factores medioambientales como la luz y la presencia de oxígeno, se oxida alterando su calidad química. En respuesta a esta realidad, se comprobó que, el efecto protector de la combinación de los antioxidantes naturales PA y TOC (50:50), fue superior al alcanzado con TBHQ, unos de los antioxidantes sintéticos más utilizados. Constituyendo una alternativa novedosa para la industria aceitera actualmente interesada en estos aceites no convencionales provenientes de cultivos que están siendo revalorizados en el país y el continente.

BIBLIOGRAFÍA

AOCS (2009). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. Ed. AOCS Press, Champaign, USA.

Arcoleo G., Indovina M.C., Varvaro G., Lanza C.M., Mazzaglia A. 2009. Improving olive oil shelf life with lemon essecial oil. Chemical Engineering Transactions, 17: 849-854.

Ayerza R., Coates W. 2004. Composition of chia (Salvia hispanica L.), grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. Tropical Science, 44 (3): 131-135.

Ayerza R., Coates W. 2011. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin commercially grown chia (Salvia hispanica L.). Industrial Crops and Products, 34: 1366-1371.

Bishov S. J., Masuoka Y., Kapsalis J. G. 1977. Antioxidant effect of spices, herbs and protein hydrolyzates in freeze-dried model systems: synergistic action with synthetic phenolic antioxidants. Journal of Food Processing and Preservation, 1: 153-166.

Bowen R.A.R., Clandini M.T. 2005. Maternal dietary 22:6 omega 3 is more effective than 18:3 omega 3 in increasing content in phospholipids of cells from neonatal rat brain. British Journal of Nutrition, 93: 601-611.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 28: 25-30.

Chen X., Zhang Y., Zu Y., Yang L., Lu Q., Wang W. 2014. Antioxidant effects of rosemary extracts on sunflower oil compared with synthetic antioxidants. International Journal of Food Science and Technology, 49: 385-391. Código Alimentario Argentino. Capítulo VII: Alimentos grasos y aceites comestibles. Artículo 523bis - (Res 2012, 19.10.84).

Colles S.M., Maxson J.M., Carlson S.G., Chisolm G.M. 2001. Oxidized LDL-induced injury and apoptosis in atherosclerosis. Potential roles of oxysterols. Trends in Cardiovascular Medicine, 11: 131-138.

Dorbarganes C., Máquez-Ruiz G. 2003. Oxidized fats in foods. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 6: 157-163.

Erkan N., Ayranci G., Ayranci E. 2008. Antioxidant activities of Rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essencial oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry, 110: 76-82.

Ferereidoon S. 2009. Omega-3 en alimentos. Un análisis sobre la incorporación de ácidos grasos Omega-3 en los alimentos y su significado para la salud. Aceites & Grasas, 76: 476-479.

Frankel E.N. 2005. Lipid oxidation. Ed. Barnes & Associates, Bridgwater, England.

Galli C., Marangoni F. 2006. N-3 fatty acids in the Mediterranean diet. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 75: 129-133.

Gambacorta G., Faccia M., Pati S., Lamacchia C., Baiano A., La Notte E. 2006. Changes in the chemical and sensorial profile of extra virgin olive oils flavored with herbs and spices during storage. Journal of Food Lipids, 14: 202-215.

Gómez-Alonso S., Mancebo-Campos V., Salvador M.D., Fregapane G. 2007. Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 month storage at room temperature. Food Chemistry, 100: 36-42.

Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. Journal of the American Oil Chemists' Society, 58: 966-968.

Hawrysh Z.J., Erin M.K., Lin Y.C., Hardin, R.T. 2006. Propyl gallate and Ascorbyl Palmitate affect stability of canola oil in accelerated storage. Journal of Food Science, 57: 1234-1238.

Horn A.F. Nielsen N.S., Jacobsen Ch. 2009. Additions of caffeic acid, ascorbyl palmitate or γ -tocopherol to fish oil-enriched energy bars affect lipid oxidation differently. Food Chemistry, 112: 412-420.

Hras A.R., Hadolin M., Knez Z., Bauman, D. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. Food Chemistry, 71: 229-233.

Iqbal, S., Bhanger, M.I. 2007. Stabilization of sunflower oil by galic extract during accelerated storage. Food Chemistry, 100: 246-254.

Irwandi J., Che Man Y.B., Kitts D.D., Bakar J., Jinap, S. 2000. Synergies between plant antioxidant blends in preventing peroxidation reactions in model and food oil systems. Journal of the American Oil Chemists' Society, 77: 945-950.

Ixtaina V.Y., Nolasco S.M., Tomás M.C. 2008. Physical properties on chia (Salvia hispánica L.) seeds. Industrial Crops and Products, 28(3): 286-293.

Ixtaina V.Y., Martinez M., Spotorno V., Mateo C.M., Maestri D.M., Diehl B.W.K., Nolasco S.M., Tomás, M.C. 2011. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. Journal of Food Composition and Analysis, 24: 166-174.

Ixtaina V.Y., Nolasco S.M., Tomás S.M. 2012. Oxidative Stability of Chia (Salvia hispanica L.) Seed Oil: Effect of Antioxidants and Storage conditions. Journal of the American Oil Chemists' Society, 89: 1077-1090.

Lee M.B., Jacobsen C., Meyer A.S. 2007. Ascorbyl palmitate, γ -Tocopherol and EDTA affect lipid oxidation in fish oil enriched

salad dressing differently. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 2369-2375.

Maestri D.M., Labuckas D.O., Meriles J.M., Lamarque A.L., Zygadlo J.A., Guzman C.A. 1998. Seed composition of soybean cultivars evaluated in different environmental regions. Journal of the Science of Food and Agriculture, 77: 494-498.

Maestri D.M., Nepote V., Lamarque A.L., Zygadlo J.A. 2006. Natural products as antioxidants. En: Phytochemistry: Advances in research (Imperato, F., Ed.), Research Signpost, Trivandrum, Kerala, India. pp: 105-135.

Marinova E.M., Yanishlieva N.V. 1990. Inhibited oxidation of lipids III: On the activity of Ascorbyl Palmitate during the autoxidation of two types of lipid systems in the presence of α -Tocopherol. European Journal of Lipid Science and Technolog, 94: 448-452.

Martínez M.L., Marín M.A., Salgado Faller C.M., Revol J., Penci M.C., Ribotta P.D. 2012. Chia (Salvia hispanica L.) oil extraction: Study of processing parameters. Food Science and Technology, 47: 78-82.

Martínez M. L., Penci M.C., Ixtaina V., Ribotta P.D., Maestri, D. 2013^a. Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of walnut oil under different storage conditions. Food Science and Technology, 51: 44-50.

Martínez M. L., Penci M.C., Marin M.A., Ribotta P.D., Maestri, D. 2013^b. Screw press extraction of almond (Prunus dulcis (miller) D.A. Webb): Oil recovery and oxidative stability. Journal of Food Engineering, 119:40-45.

MazzaM ., Pomponi M., Janiri L., Bria P., Mazza S. 2007. Omega-3 fatty acids and antioxidants in neurological and psychiatric diseases: An overview. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 31: 12–26.

Okogeri O., Tasioula-Margari M. 2002. Changes occurring in phenolic compounds and α -tocopherol of virgin olive oil during storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 1077-1080.

Olmedo R., Nepote V., Mestrallet M.G., Grosso N.R. 2008. Effect of the essencial oil addition on the oxidative stability of friend-salted peanuts. International Journal of Food Science and Technology, 43: 1935-1944.

Papaseit T.J. 1986. The color of extra virgin olive oil. A characteristic of quality. Grasas y Aceites, 37: 204-206.

Peet M., Stokes C. 2005. Omega-3 Fatty Acids in the Treatment of Psychiatric Disorders. Drugs, 65: 1051-1059.

Pocklington W.D., Dieffenbacher A. 1988. Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by high performance liquid chromatography: results of a collaborative study and the standardised method. Pure and Applied Chemistry, 6: 877-892.

Shahidi F., Zhong Y. 2005. Antioxidants: regulatory status. En: Bailey's industrial oil and fat product (Shahidi, F.). New York: John Wiley & Sons, Inc. pp: 491-512.

Sinesio F., Moneta E., Esti M. 2005. The dynamic sensory evaluation of bitterness and pungency in virgin olive oil. Food Quality and Preference, 16: 557-564.

Suzuki T., Suzuki Y., Endo Y., Kaneda T. 1984. Residual amounts of chlorophylls and pheophytins in refined edible oils. Journal of the American Oil Chemists' Society, 61: 785-788.

Terpinc P., Bezjak M., Abramovi H. 2009. A kinetic model for evaluation of the antioxidant activity of several rosemary extracts. Food Chemistry ,115: 740-744.

Vázquez-Roncero A., Janer Del Valle C., Janer Del Valle M.L. 1973. Determinación de los polifenoles totales del aceite de oliva. Grasas y Aceites, 24: 350-357.

Visentin A., Cismondi M., Maestri D. 2011. Supercritical CO₂ fractionation of rosemary ethanolic oleoresins as a method to improve carnosic acid recovery. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 12: 142-145.

Wagner K.H., Elmadfa L. 2000. Effect of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. European Journal of Lipid Science and Technology, 102: 624-629.

Wong D.W.S. 1995. Lípidos. En: Química de los alimentos: Mecanismos y teoría. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 1-52.

Yanishlieva N.V., Marinova E.M. 2001. Stabilization of edible oils with natural antioxidants. European Journal of Lipid Science and Technology, 103: 752-767.

Zhang Y., Yang L., Zu Y., Chen X., Wu T., Wang F. 2010. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. Food Chemistry, 118: 656-662.

Agradecimientos

Este desarrollo pudo llevarse a cabo gracias a los subsidios otorgados por SECyT-UNC y CONICET.

ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS FORMULADAS CON SUBPRODUCTOS DE CHÍA (SALVIA HISPANICAL.) Y ACEITE ESENCIAL DE CLAVO (SYZYGIUM AROMATICUM)

Capitani M.I.^{1,2}, Matus A.³, Ruiz-Ruiz J.C.⁴, Nolasco S.M.¹, Tomás M.C.², Segura-Campos M.R.³

Resumen

Se elaboraron y caracterizaron películas biodegradables con subproductos de chía (mucílago y fracción proteica -FP-) y aceite esencial de clavo (AEC). Se evaluó el efecto de la concentración de polímero (CP) (1,0-3,0%) y de AEC (0,1-1,0%), así como del pH (7-10), mediante un diseño factorial 2³ con cuatro puntos centrales. Las películas exhibieron valores de humedad entre 11,6 y 52,1% (b.s.), disminuyendo significativamente (p<0,05) al incrementar la CP y el AEC. El espesor de las películas aumentó significativamente (p<0,05) al incrementar CP. La CP y el pH afectaron significativamente (p<0,05) la luminosidad (L) y la variación de color entre rojizo y verdoso (a), siendo estos parámetros, menor y mayor al

aumentar dichas variables, respectivamente. La orientación del color hacia las tonalidades amarillo-azulado (*b*) disminuyó significativamente (p<0,05) al incrementar la CP. La transparencia fue significativamente menor y mayor (p<0,05) a mayor CP yde AEC, respectivamente. El desplazamiento y la resistencia a la tracción fueron significativamente menor (p<0,05) a mayor concentración de AEC, siendo esta variable la única con efecto significativo. La proporción de AEC adicionada a las películas tuvo una influencia significativa sobre la actividad antimicrobiana tanto para la inhibición del crecimiento de E. *coli* como de S. *aureus*.

Palabras clave: *Salvia hispanica* L, chía, mucílago, proteínas, películas.

Abstract

Biodegradable films of Chia by-products (mucilage and protein fraction -PF-) incorporated with clove oil (CO) were obtained and characterized. The effect of polymer concentration (PC) (1.0-3.0%) and CO (0.1-1.0%) was evaluated as well as the pH (7-10), using a factorial design 2³ with four central points. The films exhibited moisture values between 11.6 and 52.1% (d.b.), that decreased (p<0.05) with increasing of PC and CO. The thickness of the films increased (p<0.05) with increasing CP. PC and pH influenced (p<0.05) the lightness (L) and the variation of color between red and green (a). The orientation of color to yellowblue hues (b) decreased significantly (p<0.05) with increasing PC. Transparency was significantly lower and higher (p<0.05) than PC and CO, respectively. The displacement and tensile strength were significantly lower (p<0.05) at higher concentration of CO, this variable being the only one with significant effect. The proportion of CO added to films

¹TECSE, Dpto. Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería - UNCPBA, Olavarría, Argentina.

² CIDCA-CONICET, Fac. Cs Exactas - UNLP, La Plata, Argentina.

³ Facultad de Ingeniería Química - UADY, Mérida, Yucatán, México.

⁴ Departamento de Ingeniería Química-Bioquímica, Instituto Tecnológico de Mérida, Mérida, Yucatán, México. maira.segura@uady.mx; snolasco@fio.unicen.edu.ar

significant influence on antimicrobial activity, both for inhibiting the growth of *E. coli* and *S. aureus*.

Keywords: Salvia hispanica L., chia, mucilage, proteins, films.

INTRODUCCIÓN

La utilización de películas o recubrimientos a base de materiales biodegradables ha cobrado importancia en años recientes, debido a que ayudan a disminuir los problemas de contaminación generados por el uso de envases de polímeros sintéticos asociados ala conservación de alimentos, bebidas, medicamentos, entre otros. Así, actualmente los materiales más empleados para el desarrollo de películas están constituidos por diferentes biopolímeros tales como polisacáridos, proteínas y lípidoso una combinación de los mismos (Ahmadi et al. 2012, Seyedi et al. 2014). Una de las funciones más importantes de las películas comestibles es su habilidad para incorporar ingredientes activos ya que pueden servir como soporte de aditivos capaces de conservar y mejorar la calidad del producto. En este sentido, con su aplicación es posible extender la vida útil de los productos con la incorporación de agentes antimicrobianos, antioxidantes y/ó mejoradores de textura. Desde 1990 se ha experimentado con aceites esenciales como agentes antimicrobianos en alimentos (Burt 2004, Raybaudi-Massilia et al. 2006). Sin embargo, son escasas las investigaciones sobre el uso de estas sustancias como agentes antimicrobianos activos en los materiales de envasado y sus efectos en las propiedades de la película, como las propiedades mecánicas y las de barrera. Diversos estudios han determinado que los aceites procedentes de clavo, canela, mostaza, orégano, romero y tomillo son los que poseen una actividad antimicrobiana más acentuada, debido a que contienen un alto porcentaje de compuestos fenólicos tales como el carvacrol (componente mayoritario del orégano), el timol (procedente del

tomillo) o el eugenol (componente mayoritario del clavo) (Arora y Kaur 1999, Delaquis *et al.* 2002, Tepe *et al.* 2004). La acción de los aceites esenciales puede mejorarse mediante la selección de adecuadas condicionestales como el pH, la temperatura y bajosniveles de oxígeno(Romero-Bastida *et al.*2011).

Las propiedades de las películas tales como atributos funcionales, propiedades mecánicas, calidad óptica, función de barrera, resistencia al agua y atributos sensoriales, van a estar influenciadas por el tipo de material usado como matriz estructural, las condiciones de elaboración y el tipo y/o concentración de aditivos. Las películas comestibles a base de polisacáridos permiten la reducción del nivel de oxígeno y el aumento de dióxido de carbono, por lo quese han empleado para extender la vida útil de frutas, hortalizas, carnes y productos marinos (Vásconeza et al. 2009). Sin embargo, las películas de naturaleza hidrofílica, poseen propiedades limitadas de barrera al vapor de agua sin la adición de sustancias hidrofóbicas. En este sentido, la presencia de lípidos en las películas, les confiere la particularidad de ser buenas barreras frente a la humedad. Las películas elaboradas sólo a base de biopolímeros resultan ser la mayoría de las veces frágiles y difíciles de manipular mecánicamente. Por ello se hace necesario emplear en su formulación sustancias de bajo peso molecular que faciliten su interacción y disminuyan tales características, como los agentes plastificantes (Raybaudi-Massilia et al. 2008). Estas sustancias reducen las interacciones intra e intermoleculares de las cadenas o de los polímeros que constituyen las películas comestibles durante su formación ocasionando cambios en las propiedades físicas y mecánicas (Appendiniy Hotchkiss 2002).

Por otra parte, en los últimos años los consumidores seleccionan para su dieta alimentos que presenten componentes con efectos saludables. En este contexto se encuentra la chía y sus subproductos, tales como el aceite (fuente vegetal con el mayor tenor de ácido α-linolénico, ω-3, antioxidantes naturales, fitoesteroles), la harina residual (fuente de fibra dietética insoluble y proteínas) y el mucílago (fibra dietética soluble). La información existente en cuanto a las propiedades funcionales del mucílago indica que se trata de un polímero con acción espesante con una elevada viscosidad en agua yposibles efectos metabólicos benéficos (Lin et al. 1994, Marin Flores et al. 2008). Así, la ingesta de mucílago de chía sólo o en combinación con la semilla, ha demostrado tener influencia en el metabolismo de lípidos mediante la disminución de la absorción intestinal de ácidos grasos, colesterol y el arrastre de sales biliares, aumentando la pérdida de colesterol a través de las heces, además de inhibir la síntesis endógena de colesterol y la desaceleración de la digestión y la absorción de nutrientes (Hentry et al. 1990). No obstante, escasos estudios se han llevado a cabo referidos a las propiedades filmogénicas del mucílago de chía. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue elaborar y caracterizar películas biodegradables a base de subproductos de chía (mucílago v fracción proteica -FP-) con la incorporación de aceite esencial de clavo (AEC).

Materiales y Métodos 1. Muestras

1.1. Mucílago de chía

El mucílago se obtuvo siguiendo la técnica de Capitani *et al.* (2014) con algunas modificaciones: remojado de semillas de chía en agua (1:20 p/v, 30 min, 50°C), centrifugación (25000 rpm, 10 min), congelación y liofilización.

1.2. Fracción proteica de chía

La fracción proteica se obtuvo según la metodología propuesta por Capitani *et al.* (2013).

2. Obtención de las películas

Se utilizó un diseño factorial 2³ con cuatro puntos centrales donde las variables evaluadas fueron la concentración de mucílago y fracción proteica de *Salvia hispanica*L.en relación 1:1 (1 y 3%), el pH (7, 10) y la concentración de aceite esencial de clavo(*Syzygium aromaticum*)(0,1 y 1,0%) (**Tabla 1**). Se prepararon las suspensiones de mezclas de mucílago y concentrado proteico de *Salvia hispanica*L.(1:1) a las diferentes concentraciones (**Tabla 1**).

Tabla 1. Condiciones experimentales para la obtención de las películas.

Tratamiento	Concentración de polímeros		Concentración de	
	(%)	рН	Aceite esencial de clavo (%)	
T1	1	7	0.1	
T2	3	7	0.1	
T3	1	10	0.1	
T4	3	10	0.1	
T5	1	7	1.0	
T6	3	7	1.0	
T7	1	10	1.0	
Т8	3	10	1.0	
Т9	2	8.5	0.5	
T10	2	8.5	0.5	
T11	2	8.5	0.5	
T12	2	8.5	0.5	

Una vez pesados los sólidos, éstos se suspendieron en agua deionizada a temperatura ambiente y se homogenizaron en una placa de agitación magnética(30 min). El pH de las suspensiones se ajustó con una solución de NaOH y/o HCl 0,1 M. Concluida la agitación se agregó glicerol como agente plastificante en una proporción 2:1 (polímeros:glicerol), se agitó por 10 min más y seguidamente se sometió a calentamiento en un baño de agua (80°C, 30 min). Las suspensiones se dejaron enfriar hasta 40°C, se agregó inmediatamente la concentración adecuada de AEC y se sonicaron 15 min. Finalmente, se vertió el contenido en 2 cajas de Petri (9 x 1,5 cm) (60 g en cada una de las cajas). Las películas se secaron en una estufa de convección (50°C, 18 h). Concluido el secado, las películas se desprendieron de las cajas de Petri y se almacenaron en un desecador con solución saturada de carbonato de potasio (50% HR) hasta su posterior análisis.

3. Caracterización física de las películas

3.1. Contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó como la pérdida de peso de las películas al ser sometidas a una temperatura de 105°C, 24 h en una estufa de convección. El contenido de materia seca se calculó por diferencia entre el contenido de humedad y el peso inicial de la película.

3.2. Espesor y densidad de las películas

El espesor de las películas se determinó empleando un micrómetro (Mitutoyo, Japón), con una resolución de 0,001 mm. Las mediciones se realizaron en cinco puntos diferentes de dos películas de cada tratamiento (Pérez-Gago y Krochta 2001). La

densidad de las películas fue calculada a partir del peso y las dimensiones de las películas de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$d = \frac{m}{Axe}$$

donde m es el peso seco de la película (g), A el área de la película (cm²), e el espesor de la película (cm) y d es la densidad en base seca de la película (g/cm³).

3.3. Solubilidad de las películas

La solubilidad en agua se determinó siguiendo el método de Gontard *et al.*(1992). La prueba consiste en determinar el porcentaje en peso que pierde una película al estar inmersa en agua por 24 h a temperatura ambiente. Se tomaron secciones de las películas con un peso de 0,1 g, las cuales se sumergieron en 30 mL de agua destilada a temperatura ambiente por 24 h. Concluido el ensayo el volumen de agua se filtró a través de un papel filtro Whatman Nº1 previamente secado y pesado. El papel filtro conteniendo la porción insoluble de la película se secó en una estufa de convección (105°C, 24 h). El peso de la muestra el peso de la materia insoluble.

4. Caracterización óptica de las películas

4.1. Determinación de color

La determinación de color se realizó siguiendo la metodología descrita por Rhim *et al.*(1999). Para ello se utilizó un colorímetro con plato blanco de calibración. Se cortaron porciones de película de 3 cm de diámetro a las cuales se les tomaron lecturas de acuerdo a la escala Hunter (L* a* b*). En base a los datos

obtenidos de L* a* y b*, fueron calculados los siguientes parámetros:

Diferencia de color =
$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{0.5}$$

Índice de blancura = WI: 100 - $[(100 - L)^2 + a^2 + b^2]^{0.5}$

donde:

 $\Delta L = L$ estándar - L muestra, $\Delta a = a$ estándar - a muestra y $\Delta b = b$ estándar - b muestra

4.2. Determinación de la transparencia

La transparencia se determinó siguiendo la técnica de Shiku *et al.*(2003). Se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis (UV/Vis Spectrophotometer VE-5100UV) a 600 nm. La transparencia de las películas se calculó de acuerdo a la ecuación de Han y Floros (1997).

Transparencia = A_{600} / s

donde:

A = absorbancia de la película a una longitud de onda de 600 nm, s = espesor de la película

5. Caracterización mecánica de las películas

Se determinaron los parámetros mecánicos de esfuerzo máximo, porcentaje de elongación a la ruptura y modulo elástico de acuerdo a la norma ASTM D882 (ASTM, 2000; Carneiroda-da-Cunha *et al.*, 2009; Osés *et al.*, 2009) empleando una máquina universal de pruebas mecánicas INSTRON (modelo 4411, EE.UU),

con celda de carga de 500 kgf, una distancia entre mordazas de 50 mm y una velocidad de prueba de 5 mm/min. Para ello se cortaron porciones rectangulares de las películas de 1.5 x 6,5 cm, previamente acondicionadas a una humedad relativa del 50% y a una temperatura de 24°C durante 24 h.

6. Determinación de la actividad antibacteriana de las películas

Para evaluar la actividad antibacteriana de las películas, se empleó la técnica de difusión en agar basada en el método de Cutter (1999). Para ello se estandarizaron inóculos de *S. aureus* y E. coli a una concentración aproximada de 1 x 10⁸ UFC/mL. Se inocularon cajas de Petri con agar soja tripticaseína empleando un hisopo con las suspensiones bacterianas. Se cortaron secciones de 1 cm² de cada una de las películas y con una pinza se colocaron en el centro de la superficie del agar previamente inoculado. Cada película se presionó para asegurar un contacto pleno con dicha superficie y posteriormente las placas se incubaron a 37°C (24 h). La actividad se determinó midiendo el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento causada por la película. La actividad antibacteriana se evaluó considerando los siguientes parámetros: (1) zonas < 10,0 mm se considera como inactivo, (2) zonas entre 10,0 y 13,0 mm como parcialmente activo, (3) zonas entre 14,0 y 19,0 mm como activas y (4) zonas > 19,0 mm como muy activas (Valgas et al. 2007).

7. Análisis estadístico

Las determinaciones se realizaron por duplicado y los resultados fueron expresados como ($x \pm d$) donde x es el promedio y d, el desvío estándar.Para cada ensayo se realizó un ANOVA con un

nivel de confianza del 95%, mediante el uso del programa estadístico Statgraphics Plus versión 5.1 (2005).

Resultados y Discusión

En la **Tabla 2** se presentan las propiedades físicas de las películas para cada uno de los tratamientos realizados. Los valores de humedad de las películas estuvieron comprendidos entre 11,6 y 52,1% (b.s.) siendo dicho parámetro significativamente menor (p<0,05) al incrementar la concentración de polímero (CP) y la proporción de aceite esencial de clavo (AEC). El espesor de las películas correspondientes a los tratamientos 2, 4, 6 y 8 fue mayor que el espesor de las películas de los demás tratamientos. En la **Figura 1** se muestra el efecto de las variables y sus interacciones sobre el espesor de las películas. Puede observarse que el espesor fue afectado significativamente (p<0,05) por la concentración de polímero, siendo mayor al aumentar esta variable.

Tabla 2. Propiedades físicas de películas formuladas con mucílago y fracción proteica de chía (*Savia hispanica* L.) incorporadas con aceite esencial de clavo.

Tratamiento	Humedad	•	Solubilidad	_	
rratarriterite	(% b.s.)	(mm)	(%)	(g/cm³)	
T1	34,89 ±	0,06 ±	70,06 ±	2,78	
11	0,87	0,01	2,38	2,70	
T2	$30,42 \pm$	0,16 ±	$80,83 \pm$	3,72	
12	0,07	0,01	3,37	3,12	
T3	45,82 ±	$0.07 \pm$	$70,23 \pm$	2,32	
13	0,52	0,01	2,31	2,32	
T4	52,13 ±	$0,19 \pm$	73,66 ±	2,55	
14	3,94	0,05	0,72	2,33	
T5	45,86 ±	$0.06 \pm$	75,38 ±	3,55	
13	3,19	0,03	3,62	3,33	
Т6	$26,46 \pm$	$0.18 \pm$	72,59 ±	2 50	
10	0,60	0,02	0,62	3,58	
T7	$37,42 \pm$	$0.07 \pm$	67,21 ±	3,58	
17	2,42	0,03	2,82		
Т8	11,57 ±	$0.18 \pm$	65,07 ±	2 72	
10	0,69	0,03	4,60	3,72	
TC	34,86 ±	$0,12 \pm$	58,66 ±	3 04	
	2,33	0,03	2,86	3,04	

TC = tratamientos centrales

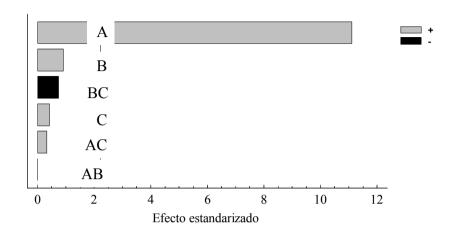


Figura 1. Diagrama de Pareto correspondiente al espesor de las películas. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo. Efectos cuadráticos no significativos.

Por otra parte, las películas exhibieron valores altos de solubilidad, variando en un rango entre 58,7 a 80,8% (**Tabla 2**). Dichos valores pueden atribuirse al efecto de la naturaleza hidrofílica característica de los hidrocoloides y del glicerol. Este parámetro es importante para la selección desus posibles aplicaciones (Arvanitoyannis *et al.*1998). Generalmente, cuando la solubilidad de una película es alta, su capacidad para proteger al alimento de la humedad ambiente y/o de la pérdida del agua propia se vería disminuida; sin embargo, sería una ventaja desde el punto de vista de su biodegradabilidad (Stuchell y Krichta 1994). Cabe destacar que las películas exhibieron valores mayores de solubilidad a los correspondientes a películas

formuladas con mucílago de semillas de *Psyllium basil* y *Lepidium perfoliatum* (Reza *et al.*2012, Khazaei *et al.*2014, Seyedi *et al.*2014).En la **Figura 2** se presentael efecto de las variables y sus interacciones sobre la solubilidad de las películas. Asimismo, puede observarse un efecto cuadrático confundido de las variables analizadas, siendo necesarios futuros estudios para evaluar los mismos.

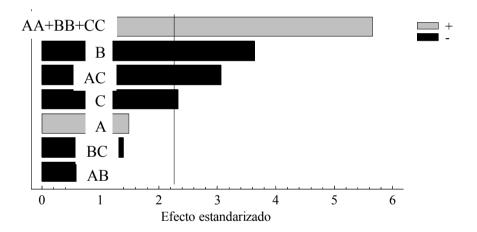


Figura 2. Diagrama de Pareto correspondiente a la solubilidad de las películas. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo

En la **Tabla 3** se presentan los parámetros de color (L, a, b, ΔE y IB) así como la transparencia de las películas formuladas en el presente trabajo. Cabe destacar que el color es un factor

importante en la caracterización de las películas debido a que determina la aceptación por parte del consumidor (Mali *et al.*2004).

Tabla 3. Parámetros de color incluyendo L, a, b, diferencia de color (Δ E), índice de blancura (WI) y transparencia (T) de las películas formulas con mucílago y fracción proteica de chía (*Salvia hispanica* L.) para cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	L	а	b	ΔΕ	WI	T
T1	66,55 ± 1,28	4,42 ± 0,31	•	43,58±1,99	52,33±1,98	8,39±0,16
T2	48,30 ± 1,15	13,94 ± 0,55		62,80±2,61	31,91±1,02	3,66±0,04
Т3	60,53 ± 1,30	7,81 ± 0,33		54,75±2,37	41,35±2,35	7,31±0,38
T4	, -	± 1,08	± 1,00	63,42±3,20	28,09±1,60	5,30±0,25
T5	-	0,02	± 0,18	46,41±0,35	49,57±0,36	8,59±0,44
Т6	-	± 0,09	± 1,58	60,70±0,45	34,28±0,39	4,97±0,24
Т7	•	± 0,02	± 0,41	59,91±0,37	35,97±0,37	9,45±0,48
Т8		± 0,89	± 1,60	65,91±3,29	35,81±1,80	5,78±0,23
TC	47,62 ± 0,00	14,44 ± 0,44		64,10±2,71	30,52±3,89	5,41±0,07

TC = tratamientos centrales

En la **Figura 3** puede observarse que la luminosidad (L) de las películas disminuyó significativamente (p<0,05) al incrementar la CP y el pH. La variación del color entre rojizo y verdoso (a) aumentó significativamente (p<0,05) con el incremento de las tres variables estudiadas, siendo la CP la que mayor efecto provocó (**Figuras 4**). En tanto la orientación del color hacia las tonalidades amarillo-azulado (b) disminuyó significativamente (p<0,05) al incrementar la concentración de polímero (**Figura 5**). Asimismo, tanto para a como para b el efecto cuadrático de las variables fue significativosiendo necesarios futuros estudios para evaluar los mismos.

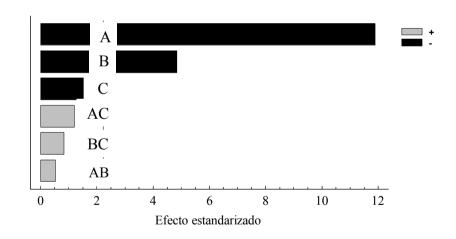


Figura 3. Diagrama de Pareto correspondiente a la luminosidad (L) de las películas. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo. Efectos cuadráticos no significativos.

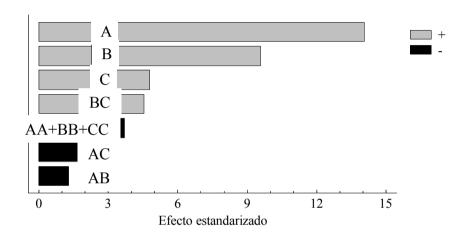


Figura 4. Diagrama de Pareto correspondiente a la variación de color entre rojizo y verdoso (a) de las películas. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo.

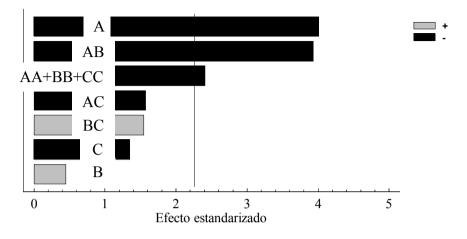


Figura 5. Diagrama de Pareto correspondiente a la orientación del color hacia las tonalidades amarillo-azulado (*b*) de las películas. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo.

Con respecto a la transparencia, ésta fue significativamente menor (p<0,05) a mayor concentración de polímero, mientras que aumentó significativamente a mayor concentración de aceite esencial de clavo (**Figura 6**).

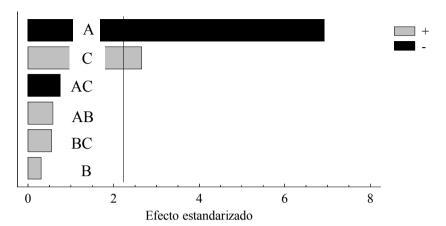


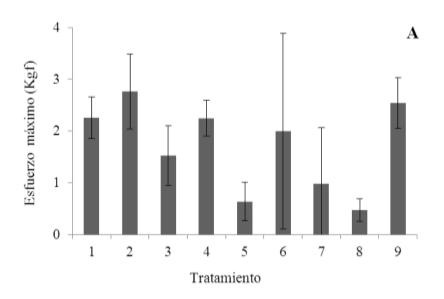
Figura 6. Diagrama de Pareto correspondiente a la transparencia de las películas. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo. Efectos cuadráticos no significativos.

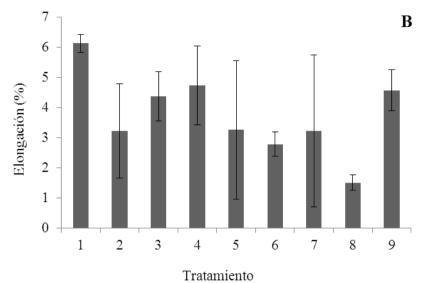
En cuanto a las propiedades mecánicas, en la **Figura 7** se muestra la respuesta de los distintos tratamientos frente al esfuerzo máximo, el % de elongación y el módulo elástico de las películas. El esfuerzo máximo de las películas así como su porcentaje de elongación fue afectado significativamente (p<0,05) por la concentración de AEC, siendo dichos parámetros menores al aumentar esta variable (**Figuras 8** y **9**). En cuanto al módulo elástico, fue afectado significativamente por la concentración de polímero, siendo mayor en función del incremento de dicha variable (**Figura 10**).

Con respecto a la actividad antibacteriana, las películas correspondientes a los tratamientos 5, 6, 7 y 8 (mayor % de AEC) fueron las únicas capaces de inhibir el crecimiento tanto de E. coli como de S. aureus (Figura 11). Cabe destacar que el porcentaje de inhibición del crecimiento de E. coli como de S. aureus, fue significativamente mayor (p<0,05) al incrementar la concentración de AEC (Figuras 12 y 13). Este comportamiento puede atribuirse a la presencia de eugenol, carvacrol, timol y compuestos fenólicoscon probada actividad antibacteriana, la cual es dependiente de la concentración (Nonsee et al. 2011). Para que una película presente actividad inhibitoria contra el crecimiento bacteriano es necesario que el agente antibacteriano se difunda hacia el agar. Las películas obtenidas con una baja concentración de AEC, no difundieron suficiente agente activo, por lo tanto no inhibieron el crecimiento de las bacterias. Cabe destacar que tanto capacidad de inhibición del crecimiento de E. coli como de S. aureus presentaron efecto cuadrático confundido de las variables analizadas, siendo necesarios futuros estudios para evaluar los mismos (Figuras 12 y **13**).

Considerando los parámetros propuestos por Valgas *et al.* (2007) la actividad antibacteriana de las películas obtenidas con el tratamiento 7 pueden considerarse como inactivas contra ambas bacterias. En el caso de los tratamientos 5 y 8 las películas fueron parcialmente activas contra ambas bacterias. La película del tratamiento 6 fue parcialmente activa contra *E. coli* y activa contra *S. aureus.* La aplicación directa de sustancias antibacterianas en alimentos puede tener efectos limitados, sobre todo si se aplican sobre la superficie del alimento (Quintavalla y Vicini 2002). Por elcontrario el uso de películas que contengan agentes antibacterianos es más eficiente por la lenta liberación de los agentes desde la película a la superficie

del producto, además de que el efecto se prolonga durante más tiempo.





TC

TC

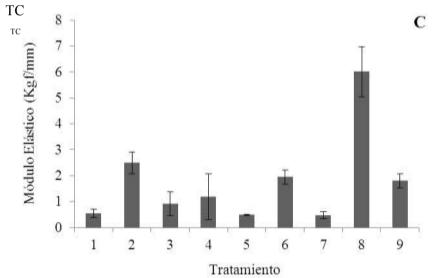


Figura 7. Propiedades mecánicas de las películas formuladas con mucílago y fracción proteica de chía (*Salvia hispanica* L.) incorporadas con aceite esencial de clavo.(**A**) esfuerzo máximo a la deformación, (**B**)porcentaje de elongación, (**C**) módulo elástico. TC: tratamiento central.

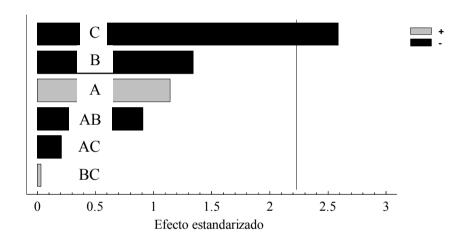


Figura 8. Diagrama de Pareto correspondiente al esfuerzo máximo de las películas. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo. Efectos cuadráticos no significativos.

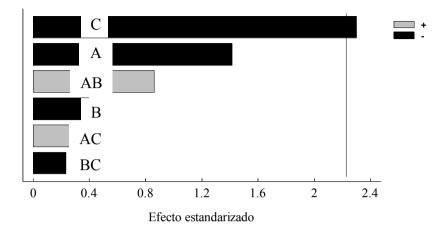


Figura 9. Diagrama de Pareto correspondiente al porcentaje de elongación de las películas. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo. Efectos cuadráticos no significativos.

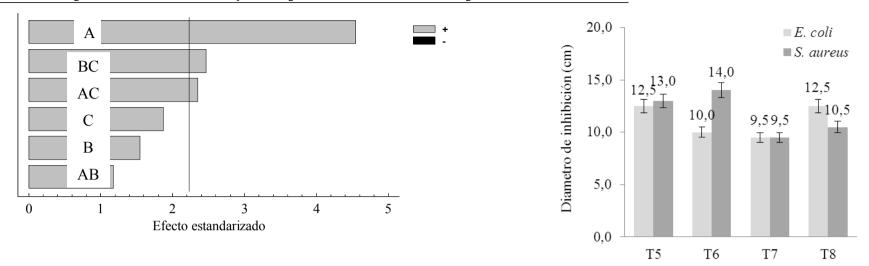


Figura 10. Diagrama de Pareto correspondiente al módulo elástico de las películas. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo. Efectos cuadráticos no significativos.

Figura 11. Diámetro de inhibición de las películas formuladas con mucílago y fracción proteica de chía (*Salvia hispanica* L.) correspondiente a los tratamientos con mayor concentración de aceite esencial de clavo.

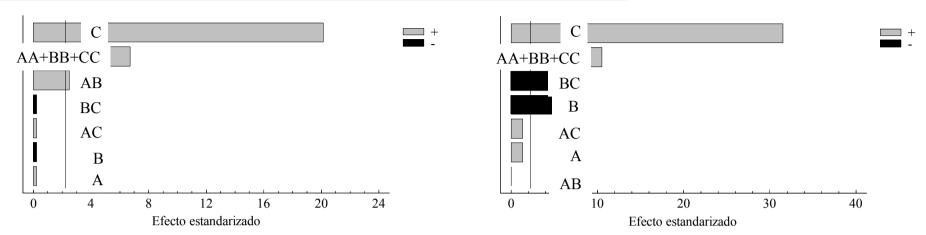


Figura 12. Diagrama de Pareto correspondiente a la capacidad de inhibición del crecimiento de *E. coli.* La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo.

Figura 13. Diagrama de Pareto correspondiente a la capacidad de inhibición del crecimiento de *S. aureus*. La línea azul indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo (p<0,05). A: concentración de polímero; B: pH; C: concentración de aceite esencial de clavo.

CONCLUSIONES

En este estudio preliminar se analizó la capacidad de subproductos de chía (mucílago y fracción proteica) para formar películas con la incorporación de aceite esencial de clavo de olor (agente antibacteriano), así como el efecto de diferentes variables sobre las características de las mismas. La concentración de polímero afectó significativamente al espesor, todas las propiedades ópticas (L, a, b y la transparencia) y al módulo elástico de las películas. El pH principalmente tuvo influencia significativa sobre algunas propiedades ópticas (L y a) y en cuanto a la incorporación de aceite esencial de clavo de olor, principalmente afectó la capacidad antibacteriana de las películas, siendo ésta significativamente mayor al incrementar la concentración de este aceite en la matriz de la película. Asimismo, la concentración de AEC tuvo influencia significativa sobre algunas propiedades mecánicas (esfuerzo máximo a la ruptura y porcentaje de elongación). Según los resultados obtenidos, es necesario continuar con esta investigación de manera de definir las condiciones óptimas para obtener películas con mejores propiedades físicas, ópticas, mecánicas, de barrera y antimicrobianas, a fin de ser aplicadas en el recubrimiento de diferentes alimentos (panes, frutas, verduras, carnes, quesos, entre otros).

BIBLIOGRAFÍA

Arora DS, Kaur J. 1999. Antimicrobial activity of spices. International Journal of Antimicrobial Agriculture, 12:257–62. Appendini P, Hotchkiss JH. 2002. Review of antimicrobial food

packaging. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 3(2): 113-126.

Arvanitoyannis IS, Nakayama A, Aiba S. 1998. Chitosan and gelatin based edible films: State diagrams, mechanical and permeation properties. Carbohydrate Polymers, 37: 371–382.

ASTM. 2000. D882-Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In Annual Book of ASTM Standard (pp. 160-168). Philadelphia.

Burt SA. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.

Capitani MI, Corzo-Rios LJ, Chel-Guerrero LA, Betancur-Ancona DA, Nolasco SM, Tomás MC. 2014 (en prensa). Rheological properties of aqueous dispersions of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage.Journal of Food Engineering.DOI:10.1016/j.jfoodeng.2014.09.043.

Capitani MI, Nolasco SM, Tomas MC. 2013. Characterization and functionality of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina.En "*Dietary fibre: sources, properties and their relationship to health*". Editorial NOVA SCIENCE PUBLISHERS, INC, USA. Capítulo 8: 141-158.

Carneiro-da-Cunha MG, Cerqueira MA, Souza BWS, Souza MP, Teixeira JA, Vicente AA. 2009. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. Journal of Food Engineering, 95 (3):379-385.

Cutter C. 1999. The effectiveness of triclosan incorporated plastic against bacteria on beef surfaces. Journal of Food Protection, 62: 474-479.

Delaquis PJ, Stanich K, Girard B, Mazza G. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology, 74: 101–9.

Gontard N, Guilbert S, Cuq JL. 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. Journal of Food Science, 58(1):206-211.

Han JH, Floros JD. 1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. Journal of Plastic Films and Sheeting, 13:287-298.

Khazaei N, Esmaiili M, Djomeh ZE, Ghasemlou M, Jouki M. 2014. Characterization of new biodegradable edible film made from basil seed (*Ocimum basilicum* L.) gum. Carbohydrate Polymers, 102: 199-206.

Mali S, Grossmann M E, Garcia MA, MartinoMM, Zaritzky NE. 2004. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. Carbohydrate Polymers, 56: 129–135.

Nonsee K, Supitchaya C, Thawien W. 2011. Antimicrobial activity and the properties of edible hydroxypropyl methylcellulose based films incorporated with encapsulated clove (*Eugenia caryophyllata*Thunb.) oil. International Food Research Journal, 18(4): 1531-1541.

Osés J, Fabregat-Vázquez M, Pedroza-Islas R, Tomás SA, Cruz-Orea A, Maté JI. 2009. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum. Journal of Food Engineering, 92(1):56-62.

Perez-Gago MB, Krochta JM. 2001. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen

permeability of whey protein edible films. Journal of Food Science, 66(5):705-709.

Quintavalla S, Vicini L. 2002. Antimicrobial food packing in meat industry. Meat Science, 62(3): 373-380.

<u>Raybaudi-Massilia</u> RM, <u>Mosqueda-Melgar</u> J, <u>Martín-Belloso</u>O. 2008. Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon. International Journal of Food Microbiology, 121(3): 313-327.

Raybaudi-Massilia RM, Mosqueda-Melgar J, Martin-Belloso O. 2006. Antibacterial activity of essential oils on Salmonella enteritis, Escherichia coli and *Listeria innocua* in fruit juices. Journal of Food Protection, 69: 1579-1586.

Reza A, Ahmad KA, Abdulrasoul O, Mohammad-Saeed Y, Forough J. 2012. Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovate* Forsk). Journal of Food Engineering, 109: 745-751.

Rhim JW, Wu Y, Weller CL, Schnepf, M. (1999). Physical characteristics of composite film of soy protein isolate and propylenglycol alginate. Journal of Food Science, 64(1):149-152. Romero-Bastida CA, Zamudio-Flores PB, Bello-Pérez LA. 2011. Antimicrobianos en películas de almidón oxidado de plátano: Efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructura, propiedades mecánicas y de barrera. Revista mexicana de Ingeniería Química, 10(3): 445-453.

Seyedi S, Koocheki A, Mohebbi M, Zahedi Y. 2014. *Lepidium perfoliatum* seed gum: A new source of carbohydrate to make a biodegradable film. Carbohydrate Polymers, 101: 349-358.

Statgraphics Plus Version 5.2. 2005. Statistical Graphic Corporation. Manugistics Inc., Rockville, US Shiku Y, Hamaguchi PY, Tanaka M. 2003. Effect of pH on the preparation of edible

films based on fish myofibrillar proteins. Fish Science, 69:1026-1032.

Stuchell Y, Krichta J. 1994. Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. Journal of Food Science, 59: 1332–1357.

Tepe B, Daferera D, Sokmen M, Polissiou M, Sokmen A. 2004. In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Thymus eigii* M. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 52:1132–7.

Valgas C, Machado de Souza S, Elza FA, Smânia EFA, Smânia AJ. 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. Brazilian Journal of Microbiology, 38: 369-380. VásconezaMB, Flores SK, Campos CA, Alvarado J, Gerschenson LN. 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. Food Research International 42(7): 762-769.

Agradecimientos

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas – CONICET

Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires y Universidad Nacional de La Plata

Universidad Autónoma de Yucatán – Facultad de Ingeniería Química

Instituto Tecnológico de Mérida - División de Estudios de Posgrado e Investigación.

<u>EFECTO DEL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN</u> OSMÓTICA EN LA CALIDAD DE CUBOS DE PAPA.

Ceroli P.1, Campañone L.2, Agnelli M.1

1: INTA, Balcarce, Argentina. 2: CIDCA) 47 y 116. (1900), La Plata, Argentina ceroli.paola@inta.gob.ar

Resumen: Se estudió el efecto de diferentes agentes deshidratantes durante la deshidratación osmótica (DO) sobre la calidad de cubos de papa. Cubos de papas, variedad Spunta fueron tratados a 40°C durante 2 horas en soluciones de jarabe de glucosa (JG) y sorbitol (SO) (40%), con agregado de cloruro de sodio (5 %) v agentes antioxidantes (ácido cítrico v ácido ascórbico, 0.5%). Los cubos DO fueron posteriormente envasados y almacenados a 4 °C durante 15 días. Se analizó la microestructura y la calidad de los productos obtenidos mediante ensayos de color y de perfil de textura (TPA) durante el almacenamiento. La deshidratación osmótica y el tiempo de almacenamiento en refrigeración produjeron cambios en el color y en la estructura de los cubos de papas. El JG condujo a productos con mayor cambio de color con respecto al fresco y provocó un daño mayor al tejido del vegetal, generando un producto más blando y cohesivo que el obtenido con SO. Esto último podría ser en respuesta al mayor tamaño molecular promedio que posee el JG.

Palabras clave: deshidratación osmótica, calidad, papas, almacenamiento.

Abstract: The effect of sorbitol (SO) and glucose syrup (JG) were evaluated during osmotic dehydration (DO) performed on potato cubes at 40°C during 2 h. The dehydrating solution contained SO or JG at 40 %, ClNa (5%), antioxidant agents (citric acid and ascorbic acid, 0,5 %). After DO, the samples were packed were packed in LDPE bags and stored for 14 days at 4 °C. The microstructure (ESEM) and quality of DO products (colour and texture profile analysis) were evaluated during storage. DO and storage provoke changes in potato cubes colour and structure. JG conducts to softer and cohesive products than SO. This could be related to the big average molecular weight of JG with respect to SO.

Keywords: Osmotic dehydration, quality, potato, storage.

INTRODUCCIÓN

El interés de los consumidores por adquirir alimentos frescos listos para usar, ha provocado un acelerado ritmo de crecimiento en la elaboración de productos vegetales mínimamente procesados. Estos productos se presentan al consumidor, pelados, desinfectados y cortados de acuerdo a los requerimientos, ahorrando tiempos en la preparación de las comidas. En el caso del mercado institucional de comidas, el alto costo de mano de obra y tiempos de operación para la adecuación de los vegetales que se utilizan en la preparación de sus menús, hace pensar que proporcionar un vegetal limpio, fresco y cortado de acuerdo a sus necesidades y listo para usar, ayudaría a disminuir los costos y tiempos que representan estas operaciones. Esta necesidad conlleva a desarrollar un proceso productivo que permita obtener un producto mínimamente procesado con una vida útil mayor a la del producto fresco pero sin modificar sus características sensoriales.

La papa, Solanum tuberosum L., constituye uno de los principales alimentos en la canasta familiar, siendo uno de los vegetales más frecuentes en la elaboración de las comidas diarias, razón por la cual presenta una demanda en aumento por parte de los gastronómicos, instituciones y cocinas domésticas. Entre los procesamientos no tradicionales de la papa se ha generalizado el procesado mínimo del tubérculo, basado en el pelado y cortado, como bastones, cubos, entre otros. Sin embargo, la mayor dificultad en la elaboración de papa mínimamente procesada consiste en su corta vida útil debido a las alteraciones microbiológicas y químicas. En el tejido fresco cortado se origina, en presencia de oxígeno, un pardeamiento enzimático motivado

por la descompartamentalización celular que ocurre durante el cortado y facilita el contacto de las enzimas polifenoloxidasas (PPO) con los sustratos fenólicos contenidos en las vacuolas celulares. La formación de los pigmentos oscuros durante el procesado y almacenamiento es un fenómeno muy común que no solo involucra el color y el aspecto de la papa, sino también su sabor y valor nutritivo. Además, las propiedades mecánicas de la papa trozada cambian ampliamente a causa de las alteraciones de sus componentes estructurales (Vidales et al. 1998; Alzamora et al. 2000).

En la tecnología de obstáculos, la reducción leve de la actividad de la actividad acuosa (aw) mediante la deshidratación osmótica puede ser uno de los factores de conservación a emplear, logrando obtener un producto de alta humedad o de humedad intermedia con una buena calidad organoléptica (Reppa et al. 1999, Tapia et al. 1996, Barat et al. 2001). Este proceso permite impregnar no sólo el soluto usado para controlar la aw sino también incorporar agentes antimicrobianos y antipardeamiento deseados o cualquier otro soluto para mejorar la calidad nutricional, funcional y sensorial. Como la deshidratación-impregnación con solutos involucra un proceso de transferencia de masa, la efectividad de la remoción de humedad y la incorporación de sólidos depende de aquellos factores que afecten la fuerza impulsora y la(s) resistencia(s) al transporte.

El tipo de agente de impregnación utilizado es uno de los factores a tener en cuenta, ya que su peso molecular y/o carga iónica afectan fuertemente la cinética de remoción de agua, la ganancia de sólidos, el contenido de agua en el equilibrio y el tiempo necesario para llegar a este valor. El tipo y concentración del soluto afectan significativamente los intercambios de agua y soluto durante la osmosis, influenciando por lo tanto las características del producto final. Los azucares de bajo peso

molecular (glucosa, fructosa, sorbitol) favorecen la ganancia de azucares debido a la fácil penetración de las moléculas. Por el contrario, solutos de alto peso molecular favorecen la perdida de agua frente a la ganancia de sólidos resultando en un producto de bajo contenido de soluto. A través de esta incorporación selectiva en el alimento es posible en cierta forma cambiar las propiedades nutricionales y funcionales logrando una formulación específica del producto sin modificar mayormente su integridad (Torreggiani 1995).

A medida que el alimento se deshidrata, se producen cambios en la composición y propiedades del mismo, tales como las ópticas y mecánicas, dependiendo de las condiciones del proceso y las características del producto (Duque et. al. 2007). Estas modificaciones están asociadas al color, la apariencia y la textura del producto y son parámetros que permiten evaluar la calidad de los alimentos procesados (Giese 2000) y están relacionados con los cambios que ocurren en la microestructura.

En este trabajo estudiaremos el efecto que generan el uso de jarabe de glucosa y sorbitol como agentes deshidratantes en la calidad del producto y los cambios microestructurales, ambos combinados con ClNa y agentes antioxidantes en la misma proporción durante la deshidratación osmótica (DO) de cubos de papa.

MATERIALES YMÉTODOS Deshidratación osmótica

Se trabajó con papa variedad Spunta, obtenida del mercado actual. Los tubérculos fueron lavados, secados, pelados y cortados en cubos de 1cm de lado. Las muestras fueron tratadas en soluciones de jarabe de glucosa (JG) y sorbitol (SO) (40%), con

agregado de cloruro de sodio (5 %) y agentes antioxidantes (ácido cítrico y ácido ascórbico, 0.5%). El proceso se realizó a 40°C, durante 2 horas, agitación constante y una relación solución/masa de papa 20/1. Los cubos DO fueron posteriormente envasados en bolsas de polietileno de baja densidad y almacenados a 4 °C durante 15 días.

Se calcularon los parámetros de transferencia de masa través de la variación de la reducción de peso (WR) mediante y del contenido de sólidos totales y sólidos solubles (SS). A partir de estos valores se calcularon la ganancia de sólidos (SG) y la pérdida de aqua (WL) para cada tratamiento.

Las concentraciones de sólidos solubles (SS) de las muestras de papas se determinó con un refractómetro marca Erm, (Japón), rango 0-32% y los SS de las soluciones osmóticas se determinaron con un refractómetro marca Bausch E Lomb (New York, USA), rango 40 – 85%. Los valores obtenidos se expresaron como °Brix. Las determinaciones se realizaron por duplicado y se informan los valores medios.

La pérdida de agua (WL) y la ganancia de solidos (GS) fueron calculadas a partir de las ecuaciones (1):

$$WL(\%) = \left[\left(1 - \frac{TS_0}{100}\right) - \left(1 - \frac{TS_{DO}}{100}\right) \times \left(1 - \frac{WR_{DO}}{100}\right) \right] \times 100$$

$$SG(\%) = \left[\left(1 - \frac{WR_{DO}}{100} \right) \times \frac{TS_{DO}}{100} - \frac{TS_0}{100} \right] \times 100$$

donde: TS_0 , TS_{DO} : contenido de sólidos totales iniciales y al finalizar la DO, respectivamente.

WR_{DO}: pérdida de peso después de la DO y calculada como

$$WR_{DO} = \frac{(m_0 - m_f)}{m_i} \times 100$$

donde m_0 , m_f = masa inicial y final de la muestra de papa fresca y deshidratada, respectivamente, determinados mediante balanza analítica marca Denver (máx. 610 g, d= 0.01 g).

Medidas de color

El color se midió con un Colorímetro MINOLTA (Chromameter CR300), usando la representación en tres dimensiones CIE 1976 L* a* b*. Los tres parámetros utilizados fueron L* (luminosidad), a* (rojo-verde), b* (azul-amarillo) y se calculó la diferencia de color (Δ E*): (Garcia-Martinez et. Al., 2002; Mallikarjunan et al., 1997) a través de

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2} + \Delta L^{*2}}$$

Donde $\Delta a^*, \Delta b^* y \Delta L^*$ son las diferencias entre los valores finales e iniciales de los parámetros de color.

Las medidas fueron realizadas luego de la DO y durante el tiempo de almacenamiento en refrigeración.

Medidas de textura

El estudio de las propiedades mecánicas fue realizado mediante ensayos de perfil de textura (TPA) de dos ciclos de compresión, utilizando un texturómetro Stable Microsystems TXT-2a (Reino Unido). Para configurar los ensayos, se trabajó con una celda de compresión de 5 kg usando una probeta cilindrica con una velocidad de cabezal de 5 mm/seg hasta llegar a una compresión del 40%. A partir del TPA se obtuvieron los valores de dureza (D) y cohesividad (C) para caracterizar las propiedades mecánicas de los productos obtenidos (Rosenthal, 1999) y se presentan normalizados con los valores correspondientes al producto fresco.

Estudio de la microestructura.

Se analizó la microestructura de los cubos de papas frescos, luego de la DO y el almacenamiento en refrigeración mediante microscopia electrónica de barrido ambiental (ESEM, marca Philips, modelo XL 30) que permite observar muestras de alto contenido de humedad debido a que el agua puede mantenerse en fase liquida sin necesidad de preparación previa. Las micrografías fueron obtenidas en una una atmósfera con 80% de humedad relativa, temperatura de 6°C y una presión de 5,6 torr.

Análisis y Diseño experimental

Las variables medidas fueron expresadas en función de la muestra fresca o control. Todos los ensayos se realizaron por duplicado y se informaron los valores medios.

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza y comparación de medias de Tukey al 5 % de probabilidad mediante el programa Infostat, 2008. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Tabla 1** muestra la influencia del uso de SO y JG como agentes deshidratantes en los parámetros de la DO al cabo de 2 horas de tratamiento.

Tabla 1. Perdida de agua (WL(%)) y ganancia de solidos (GS (%))después de 2 hs de deshidratación osmótica usando jarabe de glucosa (JG) o sorbitol (SO) como soluto primario en el baño deshidratante.

Soluto	WL	SG
JG	48,4	7,3
SO	31,5	10,0

Como se puede observar, las muestras deshidratadas con SO presentan una mayor GS pero menor WL con respecto a la solución de JG. Estos resultados están de acuerdo a lo esperado dado que según la bibliografía, moléculas con mayor peso molecular provocan mayor WL y menor GS (Ispir y Togrur ,2009; Marani et al., 2007).

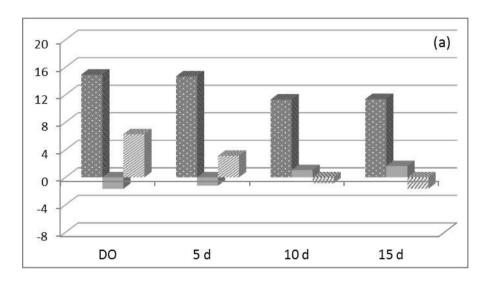
Por otra parte, durante el almacenamiento no se registró pérdida de peso en ninguna d elas muestras.

La Figura 1 (a) y (b) presentan los resultados de color obtenidos después de la DO y los registrados durante el almacenamiento a 4 ° C de las muestras tratadas con JG y SO respectivamente. Es posible notar que la luminosidad aumenta luego de la DO en ambos casos, en gran parte como consecuencia de la presencia de antioxidantes en el baño deshidratante. Sin embargo, las muestras tratadas con SO no solo generan productos más claros desde el comienzo sino que mantienen esta condición durante el almacenamiento. La luminosidad se mantiene constante durante 10 días con SO mientras que con JG disminuye al cabo de 5 días. Por lo tanto, este parámetro estaría relacionado también con el contenido y la naturaleza del solido incorporado a la matriz del tejido vegetal.

En cuanto a los valores de enrojecimiento, se puede observar en la Figura 1 que ambos tratamientos conducen a productos menos rojizos, también como consecuencia de la acción de los antioxidantes. Esta tendencia que se acentúa durante el almacenamiento tornándose muy levemente al color verde. Esto último se da con ambos solutos por igual por lo que no puede adjudicarse a cambios estructurales relacionados con la DO.

El amarillamiento, por el contrario, sí presenta cambios que dependen del soluto involucrado en la DO. Las muestras tratadas con SO son similares a las frescas en cuanto a este parámetro. Sin embargo durante el almacenamiento, los cubos de papa tienden a tonos más azulados. Las muestras tratadas con JG son más amarillas que las frescas al finalizar la DO y durante el almacenamiento también tienden a tonalidades más azuladas pero en forma menos marcada. El efecto de amarillamiento luego de DO se debe a que los componentes del jarabe de

glucosa (glucosa, maltosa y maltotriosa) intervienen en la reacción de Maillard mientras que el sorbitol no participa de dicha reacción.





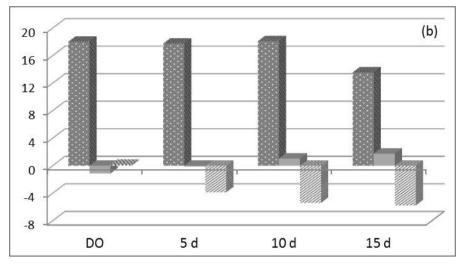


Figura 1. Variación de la luminosidad ΔL^* , el enrojecimiento Δa^* y amarillamiento Δb^* de los cubos de papa después de la DO y durante el tiempo de almacenamiento a 4°C en: (a) solución de JG y (b) en solución de SO.

La **Figura 2** muestra la variación total de color ΔE^* después de la DO y durante el almacenamiento, siempre con respecto al alimento fresco. Estos resultados muestras que los cambios de color globales que ocurren después de la DO y hasta los cinco primeros días de almacenamiento resultan muy similares por ser el resultado de los distintos aportes de sus parámetros. A los 10 días de almacenamiento la muestra deshidratada con JG mostro valores inferiores en el cambio de color, para luego volver a igualarse en su valor más bajo al final del almacenamiento. Estos resultados no se corresponden con la apreciación directa del color. En efecto, las muestras deshidratadas en el baño de SO

presentan una apariencia más clara, menos amarilla y rojiza que las tratadas con JG, pero también se muestran más claras que los cubos de papa frescos. Esto se debe a la acción los agentes antioxidantes que contienen ambas soluciones deshidratantes y blanquean la papa cortada durante el tratamiento. La DO con SO prolonga ese efecto durante el almacenamiento y resulta un producto más agradable a la vista. De ahí, la mayor diferencia de color que presentan las muestras DO con SO dado que se calcula tomando a la papa fresca como referencia.

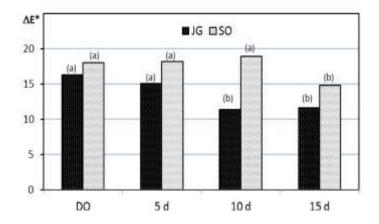


Figura 2. Variación total de color de los cubos de papa después de la DO y durante el tiempo de almacenamiento a con almacenamient4°C en solución de JG y SO. Letras distintas indican diferencias significativas (p< 0,05).

La dureza de los cubos de papa (**Figura 3**) luego de la DO se reduce sensiblemente con ambos agentes deshidratantes, no obstante, la pérdida es más notoria cuando se utiliza JG (75% más blanda que la muestra fresca). El ablandamiento de los cubos DO con SO alcanzó un valor del 56% del correspondiente al producto fresco. La pérdida de dureza después del tratamiento DO puede relacionarse con la WL y la SG. Efectivamente, el JG, provocó una mayor WL y menor SG generando un mayor ablandamiento. Sin embargo, la disminución en la dureza de las muestras tratadas con JG y SO no guardan relación con los cambios en WL y SG obtenidos con cada uno. Esta diferencia podría adjudicarse también a que el JG, al penetrar en el tejido,

genere mayor daño debido a su mayor tamaño molecular promedio.

La cohesividad (**Figura 3**) de las muestras DO se duplicó con JG y apenas aumento un 10% con SO respecto de la muestra fresca. Este mayor aumento observado con JG podría deberse a la mayor WL que este agente produce. El aumento de SG también debería producir un aumento de la cohesividad pero, en este caso no se verifica este comportamiento, quizás porque la diferencia en la incorporación de solidos no es muy diferente entre ambos tratamientos.

Durante el periodo de almacenamiento no se verificaron cambios en la dureza ni la cohesividad de las muestras. Estos ocurren sólo como consecuencia de la DO.

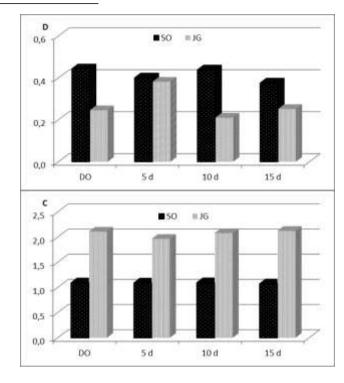
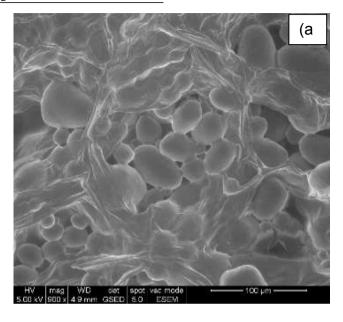
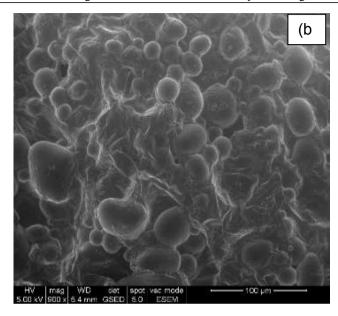
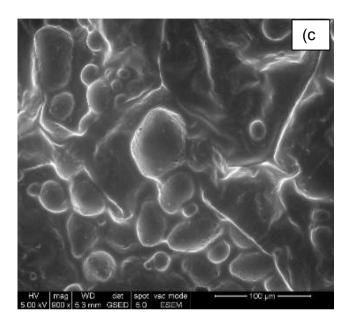


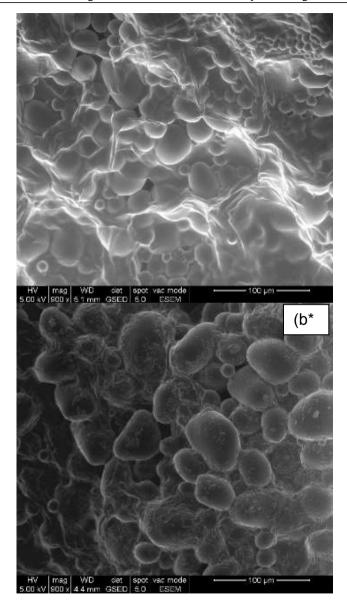
Figura 3. Variación de la dureza (D) y la cohesividad (C) de los cubos de papa después de la DO con JG y SO y durante su almacenamiento en cámara. (Los valores están normalizados con los correspondientes al producto fresco).

Las micrografías de las papas frescas (Figura 4 (a)) muestran células turgentes, con paredes celulares lisas y tensas. Los espacios intercelulares se observaron pequeños y de forma irregular. Las células de los cubos de papa las papas DO con JG (Figura 4 (b)) se deformaron v se encogieron levemente, se observan pliegues y relieves en la superficie correspondientes a los sólidos incorporados y mayores espacios intercelulares. Las micrografías de las papas DO con SO (Figura 4 (c)) permiten ver células con una turgencia aceptable con la presencia de pocos pliegues, algunos relieves y espacios intercelulares más grandes. Cuando las papas DO fueron almacenadas 15 días en refrigeración (Figura 4 (b*) y (c*)), sus células se encogieron, sus paredes aparecieron con más pliegues y más relieve con respecto a la fresca y a la muestra DO sin almacenar. Esta evolución en la microestructura durante el periodo de almacenamiento no se refleja en la respuesta macroscópica de las propiedades mecánicas en las que todo parece deteriorarse como consecuencia de la DO. Solo variación de color presenta leves cambios durante el almacenamiento









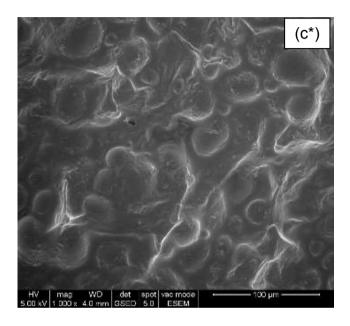


Figura 4. Micrografías correspondientes a (a) papa fresca, (b) papa DO con JG, (b*) papa DO con JG almacenada 15 días a 4 °C, (c) papa DO con SO, (b*) papa DO con SO almacenada 15 días a 4 °C.

CONCLUSION

Los cubos deshidratados con SO generan un producto de mejor aspecto en cuanto al color, que se ablanda menos y presenta una cohesividad muy similar al del producto fresco.

En ambos casos, la deshidratación osmótica y el tiempo de almacenamiento en refrigeración produjeron cambios en el color, las propiedades mecánicas y la estructura de los cubos de papas. Estos cambios resultan más extensos cuando la DO se lleva a cabo con JG. Se puede inferir que el mayor tamaño molecular de la solución de JG genera un daño mayor al tejido del vegetal al penetrar en el interior de la muestra, resultando un producto más blando y cohesivo que el obtenido con SO.

BIBLIOGRAFÍA

Alzamora SM., Castro M.A, Vidales S.L, Nieto A.B, Salvatori D. 2000. The roll of tissue microstructure in the textural characteristics of minimally processed fruits. en Minimally processed fruits and vegetables fundamental aspects and applications, 153-171.

Barat J, Fito P, Chiralt A. 2001. Modelling of simultaneous mass transfer and structural changes in fruits tissue. Journal of Food Engineering, 49: 77-85

Infostat. 2008. Software estadistico.

Duque A, Giraldo G, Mejía D. 2007. Variación del color en Mango, Mora y Uchuva en diferentes Tratamientos de Deshidratación osmótica.

Giese J. 2000. color measurement in foods as a quality parameter. Foof Technology Chicago, 54: 62-63.

Reppa A, Mandala J, Kostaropoulos A, Saravacos GD. 1999. Influence of solute temperature and concentration on the combined osmotic and air drying. Drying Technology, 17: 1449–1458.

Rosenthal, A.J. 1999. Relation between instrumental and sensory measures of food texture. En: Food Texture. Measurement and Perception. Ed.: Rosenthal A.J. An Aspen Publication.

Torreggiani, D. 1995. Technological aspects of osmotic dehydration in foods. En: Food Preservation by Moisture Control: Fundamental and Applications - ISOPOW Practicum II. Eds.: Barbosa-Cánovas G.V. & Welti-Chanes J. Technomics Publishing Co., Inc., Lancaster, USA, 99 –147.

Vidales SL., Castro M.A, Alzamora SM., 1998. The structure-texture relationship of blanched glucose impregnated strawberries. Food science and technology international, 4:169-178.

POSTHARVEST QUALITY OF PEAR (PYRUS COMMUNIS) SUBMITTED TO DIFFERENT STORAGE CONDITIONS

Costa A.C.S., Carvalho C.U.S., Lima E.L.C., Silva M.C.A., Souza C.C.¹, Madruga M.S.

Graduate Program in Science and Food Technology - PPGCTA - Federal University of Paraíba, Brazil acarolinasc@hotmail.com

Resumen: Se evaluó el efecto de diferentes condiciones de almacenamiento en la calidad poscosecha de pera en tres estados de madurez (E1 - verde, E2 - amarillo-verde y E3 amarillo). Frutas cubiertas con una película de cloruro de polivinilo y almacenadas durante cinco días a temperatura ambiente (25 °C) y bajo refrigeración (5 °C) fueron evaluadas según la pérdida de peso, sólidos solubles, pH, firmeza y evaluación sensorial. Las frutas mostraron una mayor pérdida de peso a 25 °C que en las almacenadas a 5 °C. Frutas en E3 fueron más sensibles y a 25 °C supera la pérdida de peso del 2%. Los sólidos solubles aumentaron en lãs etapas evaluadas, con un mayor progreso en E2. Se encontraron diferencias significativas en la media del pH de las frutas, y E3 tuvo los promedios más altos. Fruta en las etapas E1 y E3 a 25 °C fueron las más firmeza perdida. Frutas en E2 eran más aceptables, con promedios superiores a 8.3 para sabor, dulzor, jugosidad y textura. Por lo tanto, el almacenamiento en frío combinado con atmósfera modificada produjo La disminución del metabolismo de peras que se extiendiendo la vida útil de las mismas.

Palabras clave: Pyrus communis, calidad, poscosecha.

Abstract: The effect of different storage conditions on postharvest quality of pear was evaluated in three maturation stages (E1 - green skin, E2 - yellow-green and E3 - yellow). Fruits covered with polyvinyl chloride film and stored for five days at room temperature (25°C) and under refrigeration (5°C) were evaluated for mass loss (%); soluble solids; pH, firmness (N) and sensory evaluation. Fruit showed greater weight loss at 25 ° C than those stored at 5 ° C. Fruits at stage E3were more sensitive and at 25 ° C exceeded 2% weight loss. Soluble solids increased in stages evaluated, with greater progress in E2. Significant differences in mean pH of fruits were found, and E3 had the highest averages. The mean pH values increased approximately 9.6% and 8.8% after five days at room temperature and under refrigeration, respectively. Fruits at stages E1 and E3 at 25 ° C were those that most lost firmness. Fruits at E2 were more acceptable, with averages higher than 8.3 for flavor, sweetness, juiciness and texture. Thus, cold storage combined with modified atmosphere decreased the metabolism of pears, increasing the shelf life of fruits.

Keywords: *Pyrus communis*, quality, postharvest.

INTRODUCTION

Pear is a fruit of great acceptance and economically important in the international market. World pear production is concentrated in a few countries. Brazil's production represents only 0.008% of the world production and occupies the 46th place in the world ranking (Melo 2013).

In the years 2009 and 2010, pear topped the list of Brazilian imports of fresh fruits, with volumes of 161,875 and 189,841 tonnes, respectively. The amount of pear imported by Brazil clearly shows the existence of a well-established consumer market, mainly used to the quality of pears from Argentina and Chile (Antoniolli 2011).

For being a climacteric product, pear should be harvested at minimum respiratory rate in order to facilitate post-harvest handling and increase the storage time, delaying and reducing climacteric physiological changes, such as starch hydrolysis, increase total soluble solids, color changes and loss of pulp firmness (Parra-coronado *et al.* 2006).

Even after harvest, pears remain with active vital functions such as breathing; therefore, the harvest and postharvest management techniques aim to keep the commercial quality of the product for fresh consumption or processing (Oteiza and Cantillano 2014).

Postharvest fruit quality is related to the minimization of the deterioration rate, namely maintenance of firmness, color, appearance, aiming to keep them attractive to consumers for a longer period of time (Chitarra e Chitarra 2005).

To control the deterioration rate of fruits, reduce losses and increase shelf life, many storage techniques have been

developed over the years (Peerzada *et al.* 2010). Among postharvest techniques considered efficient in controlling the metabolism of climacteric fruits and able to increase their shelf life, refrigeration is very important when maintained throughout the fresh fruit manipulation chain from the packing house to the shelves of supermarkets (Aroucha *et al.* 2012).

Another way to increase the postharvest quality of climacteric fruits is modified atmosphere obtained with the use of plastic films, which seems to be more practical and less costly. The effectiveness of this technology is achieved due to the CO₂ concentrations that gradually increase as fruits breathe (Brackmann *et al.* 2012).

Flexible films, such as polyvinyl chloride (PVC), are good examples of a modified atmosphere, as they are a way to establish a gaseous composition within the packing, different from air by reducing the O₂ concentration and increasing the CO₂ concentration (Santos *et al.* 2009). The use of low density polyethylene film - LDPE (100 mm) with 6% BIF 1500 additive allowed maintaining the quality of 'Rocha' and 'Packham's Triumph' pears during 180 days under conditions of 0 ° C and 90-95% relative humidity (Antoniolli 2011). Thus, cold storage combined with modified atmosphere was able to decrease the metabolism of pears, increasing their shelf life.

The aim of this study was to evaluate the effect of different storage conditions on the postharvest quality of pears at three maturation stages (E1 - green skin, E2 - yellow-green skin and E3- yellow skin).

MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted at the Laboratory of Chemical Analysis of Foods – LAQA, Department of Food Engineering, Federal University of Paraíba. Pears purchased in a supermarket in the city of João Pessoa - PB were selected and grouped according to three maturation stages defined according to their color and firmness. Based on these characteristics, the fruits were classified into: stage 1 (E1) - fruits with uniform green skin and firmer compared to fruits of other stages; stage 2 (E2) - fruits with green-yellow skin and intermediate firmness; and stage 3 (E3) – fruits with mostly yellow skin and less firmness than in previous stages.

After classification, fruits were washed in running water, sanitized with sodium hypochlorite solution and dried with paper towel. Then, they were arranged in pairs in Styrofoam trays and coated with polyvinyl chloride (PVC) film. After this procedure, trays were stored under predetermined conditions. Part of trays was submitted to cold storage (5 ° C) while the other part was maintained at room temperature (25 ° C). In both conditions, the storage period was five days during which the fruits were analyzed for weight loss, soluble solids, pH and firmness. Analyses were performed at time zero (the same day of fruit purchase), third day and fifth day of storage. Sensory analyses were performed at time zero and at the end of the five days of storage.

Weight loss was obtained by difference between initial and final weight of fruits. Fruits were weighted on semi-analytical scales. The content of soluble solids, given in ° Brix, was obtained by reading in benchtop refractometer as recommended by "Instituto Adolfo Lutz" (2005). For pH analysis, pH meter was used and samples were analyzed in triplicate (IAL 2005).

Texture tests were conducted to determine the firmness of fruits at each maturation stage as a function of time and temperature. Whole fruits were placed with the mid-point on the largest diameter at the center of the load cell, with 1 fruit representing each stage at each time interval, using the P / 3 cylindrical probe. The equipment used was Texture Analyzer model TA-XT Plus from Extralab Brasil. The results of readings were recorded in software (STABLE MICRO SYSTEMS®, TE32L, version 4.0, Surrey, England) and expressed in Newtons (N).

Fruits were submitted to sensory acceptance test with 12 untrained judges. The traits analyzed were: flavor, sweetness, acidity, appearance, texture and overall assessment. Individually, samples were presented to judges coded with random three-digit codes. Data were collected through individual records using a 9-point hedonic scale numerated from 1 to 9, from extremely disliked (score 1) to extremely liked (score 9).

Sensory evaluation results were interpreted according to methodology proposed by Dutcosky (2011), which proposes the calculation of the Acceptability Index (AI) using the following expression:

$$AI (\%) = A \times 100 / B_{(1)}$$

Where, A = average score given to the product and B = maximum score given to the product. To be considered of good repercussion, AI should be \geq 70%.

For statistical analysis, performed using Excel from Microsoft Office 2010, analysis of variance was performed in a factorial design in randomized blocks. When significant differences were found, means were evaluated by the Tukey test ($p \le 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows that fruits at stage E3 were the most sensitive to weight loss and this sensitivity was higher under conditions of room temperature. Fruits stored at room temperature showed losses greater than twice those observed for fruits stored under refrigeration.

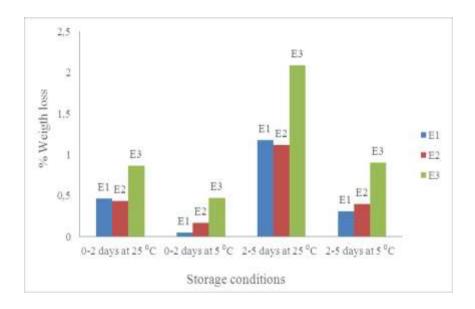


Figure 1: Weight loss percentage of pears at three maturation stages during refrigerated storage at room temperature for 0, 2 and 5 days.

A major cause of deterioration of climacteric fruits is moisture loss, which in pears has important consequences for fruit quality, which according to Nguyen *et al.* (2007), leads to weight loss and shriveling.

Weight loss occurs due to the transpiration process, which is generally determined by the water vapor pressure gradient between the fruit and the surrounding air (Pasquariello *et al.* 2013). According to Chitarra e Chitarra (2005), weight loss is reduced in storage under modified atmosphere due to the increase of the relative humidity within the package, saturating the atmosphere around the fruit, which reduces the water vapor pressure deficit in relation to the storage environment, minimizing the transpiration rate.

When studying the effects of modified atmosphere caused by coating with chitosan-based film associated with ascorbic acid on postharvest quality of pears, 'Yali' Lin *et al.* (2008) found a gradual increase in weight loss significantly greater in control fruits than in coated fruits, with difference of 20.4% between fruit covered with chitosan and ascorbic acid and those without coating stored for 60 days at 25°C.

In a study to evaluate the combined effect of gamma irradiation and coating based on carboxymethylcellulose (CMC) on the quality and shelf life of pears cv. Bartlett / William, Peerzada *et al.* (2010) observed weight loss of $6.5 \pm 0.21\%$ after 7 days of storage at 25°C for control fruits. In the same period, weight loss was $3.1 \pm 0.22\%$ for fruits covered with film at 1.00% CMC and treated with 1.5 kGy of radiation. These results are similar to those obtained in this study and show that the combination of more sophisticated technology such as biopolymer coatings and irradiation can provide results very close to those obtained using simpler technology, such as the covering of fruits with PVC film. The average results of physicochemical evaluations of pears studied in this work are shown in Table 1.

		Sto	rage conc	litions	
Sta ge	Bas elin e	Stored at 5°C After 2 days	Stored at 25°C After 2 days	Stored at 5°C After 5 days	Stored at 5°C After 5 days
		Soluble	Solids (S	S %)	
E1	15.1 ^a	15.38 ^a	15.5 ^a	15.5 ^a	16.75 ^a
E2	15.6 ^a	15.75 a.b	16.25 ^b	18.13 ^c	17.38 ^d
E 3	18.00 a	18.13 ^a	18.50 ^a	18.25 ^a	18.13 ^a
				рН	
E1	4.68 ^a	4.63 ^a	4.47 ^a	4.26 ^b	4.34 ^c
E2	4.24 a	4.37 ^b	4.48 ^c	4.35 ^b	4.20 a
E3	4.16 ^a	4.44 ^b	4.25 a.b	4.56 b.c	4.60 b.c
		Fir	mness (N)		
E1	4.15 ^a	10 ^b	6.66 a.b	7.66 b	4.56 ^a
E2	2.97 ^a	3.24 ^a	2.23 ^a	3.21 ^a	3.84 ^a
E 3	3.95 ^a	4.52 ^b	3.60 ^c	2.35 ^d	2.47 ^e

Means followed by same letter in line do not differ by the Tukey test at 5% probability.

Table 1: Average results for soluble solids, pH and firmness of pears at three maturation stages over refrigerated storage and at room temperature for 0, 2 and 5 days.

It was observed that the content of soluble solids increased over time at the three maturation stages, but only fruits at E2 showed values with significant difference. At this stage, fruits stored under refrigeration showed lower evolution than fruits stored at room temperature in the accumulation of soluble solids, which is a consequence of maturation. In analysis of the postharvest quality of pears cultivar 'Carrick', Coutinho *et al.* (2003) also found higher content of soluble solids in fruits stored at room conditions.

In a study with different pear cultivars from southern Italy harvested at commercial maturity and stored at 2 ° C for 16 weeks and then maintained at 20°C, Pasquariello *et al.* (2013) found that the content of soluble solids remained stable during cold storage and that these levels only increased after exposure of fruits to temperatures of 20°C.

Characterizing pears from five commercial orchards in the state of Washington, USA, Mattheis *et al.* (2013) found content of soluble solids between 11.6 and 12.3% in fruits at commercial maturity. These results are lower than those found in this study including pears classified here as at stage 1 (E1).

The increase in the content of soluble solids is due to the degradation of polysaccharides, favored by the action of amylases and phosphorylases, with consequent fruit ripening (Chitarra and Chitarra, 2005). Thus, soluble solids in fruit estimate the content of dissolved sugars (sucrose, glucose and fructose) resulting from starch hydrolysis that occurs during maturation. (Pasquariello *et al.* 2013).

Lombardi *et al.* (2000) reported that during the maturation of pears there is decrease and stabilization of acidity, increase of the sugar content, intensification of the skin color, which varies according to cultivar and finally reduction of pulp firmness, resulting from excessive loss of water from tissues, as well as reduction of turgidity pressure due to the low air relative humidity, mainly by increased enzymatic activity.

The results obtained for the pH analysis showed that both after refrigerated storage and after storage at room temperature, significant changes in the different maturation stages were observed, either for more or for less.

With respect to pears at stage E1, significant pH change was observed only after 5 days of storage in both refrigeration and room temperature, with a decrease in the pH values in both cases.

For pears at E2, significant change (increase) was observed after 2 days at room temperature compared to time 0, which after 5 days under the same storage condition, is no longer significant. The same was observed for pears at E2 stored under refrigeration.

By comparing pH values at beginning and end of experiments for pears at stage E3, a significant increase in pH at both storage temperatures only after 5 days was observed, which is in agreement with literature, whereas among fruits used in experiments, fruits at stage E3 were those in the latest maturation stage. According to Botrel *et al.* (2010), reduced acidity and increased pH are characteristic of the senescence phase of fruits and resulting from the metabolism of organic acids.

Parra-Coronado *et al.* (2006) found for Pears cv. 'Triunfo de Viena' from the Colombian Andean region stored at 18°C, 11°C and 3°C, mean pH values between 4.04 and 4.90 and found with

no significant differences in most treatments, increased pH over time. According to the authors, this behavior is consistent with fruits in general that when ripening shows reduced acid content and increased soluble solids, and high pH values after they reach maturation.

Regarding firmness, statistical difference was observed for fruits at the three stages evaluated. Significant difference between results obtained at time 0 compared to the second day of evaluation was observed in all of them. The values indicated fruits with very low firmness compared to those found in the following days. Fruits at E1 stored at room temperature had less decrease in firmness than those stored under refrigeration. The contrary, which would be expected, was observed for fruits at E3. Pulp firmness is an important quality that allows the monitoring of the fruit quality during maturation, storage and distribution (Pasquariello *et al.* 2013).

In the study of Pasquariello *et al.* (2013), the softening of fruits resulting from the decrease in the firmness values was faster when fruit stored under refrigeration were transferred to 20°C.

Predieri and Gatti (2009) assessed the quality of pears cv. 'Abate Fetel' stored under refrigeration (0-1°C) for 13 weeks and observed fruit firmness of 19.61N six days after the removal from refrigeration conditions. These fruits contained 19.8% soluble solids. Data from Predieri and Gatti (2009) obtained with fruits harvested at adequate maturation stage for prolonged storage period, when confronted with those obtained in this study, show that pears evaluated here were slightly firm already at the time of purchase in the local supermarket.

According to Cavaco *et al.* (2009), for pears cv. 'Rocha', optimal maturity at harvest is considered when fruit has firmness of 55-65N and the ideal firmness level for consumption (ripe) and when firmness is approximately 20N, since fruits with values

below this are considered too ripe. Pears cv. 'd'Anjou' at commercial maturation stage from orchards of Washington - USA characterized by Mattheis et al. (2013) showed firmness values ranging from 61.4 to 65.7N.

Peerzada et al. (2010) reported for control pears (without modified atmosphere by coating and without irradiation treatment) maintained at 25 °C for 7 and 14 days of storage, firmness equal to 13.7 and 9.8 respectively. At the same temperature, fruits treated with 1.0% CMC and 1.5 kGy showed firmness of 78.4 after seven days and 56.8 after 14 days.

A comprehensive knowledge of factors affecting consumer acceptance is of great importance and a realistic approach of the quality of pears should consider physicochemical parameters not as goals but as tools for monitoring maturation and prior knowledge of the optimal food quality (Predieri and Gatti 2009). Sensory analysis is defined by the Brazilian Association of Technical Standards (ABNT 1993) as a scientific discipline used to evoke, measure, analyze and interpret reactions of the characteristics of foods and materials as they are perceived by the senses of sight, smell, taste, touch and hearing.

Attributes	E	Baseline	2	After 5 days			
Attributes	Score E1	Score E2	Score E3	Score E1	Score E2	Score E3	
Flavor	7.75	8.33	7.92	7.67	8.33	7.00	
Sweetness	7.58	8.25	7.92	7.67	8.33	7.50	
Acidity	7.17	7.58	7.50	7.50	8.17	7.25	
Juiciness	7.67	8.33	8.00	7.58	8.42	7.50	
Texture	7.83	7.92	7.83	7.67	8.42	7.17	
Overall evaluation	7.67	8.25	7.92	7.75	8.33	7.25	

Table 2: Mean scores for the sensory attributes at the three maturation stages at baseline and after five days of treatment at 5°C

Table 2 presents the mean values calculated from the scores given to sensory parameters evaluated at time 0 (baseline) and after five days of experiment.

In a study to determine the optimal storage conditions for the maintenance of the postharvest quality of six pear cultivars during cold storage for long periods of time, Pasquariello *et al.* (2013) found that physicochemical parameters such as firmness and soluble solids strongly influenced the quality and consumer preference. The authors attributed the significant differences between the content of soluble solids and firmness found at the beginning and end of the experiment with differences in the acceptance scores.

The acceptance index (AI) of pears in the 1st day of storage at all maturation stages was higher when compared to the 5th day of storage. The data for the AI calculation for each maturation stage and in each test are shown in Table 3.

	Baseline		е	After 5 days			
Attributes	AI (%) E1	AI (%) E2	AI (%) E3	AI (%) E1	AI (%) E2	AI (%) E3	
Flavor	86.11	92.56	88.00	85.22	92.56	77.78	
Sweetness	84.22	91.67	88.00	85.22	92.56	83.33	
Acidity	79.67	84.22	83.33	83.33	90.78	80.56	
Juiciness	85.22	92.56	88.89	84.22	93.56	83.33	
Texture	87.00	88.00	87.00	85.22	93.56	79.67	
Overall evaluation	85.22	91.67	88.00	86.11	92.56	80.56	

Table 3: Acceptance index (AI) at the three maturation stages at baseline and after five days of treatment at 5°C

Considering the same data and comparing them with results observed in the analysis after 5 days of cold storage, it was observed that there was a noticeable decrease in the acceptance index of pears at E3. This may have occurred because these fruits were at that time in an advanced maturation stage. During sensory analysis, it was also observed that pears at E3 stage quickly developed brownish color due to the oxidation of compounds present in the fruit, being a possible cause of decreased acceptance.

Pasquariello *et al.* (2013) reported that consumers considered sweetness, juiciness, flavor and smoothness as important attributes for pears. Predieri *et al.* (2005) observed that sweetness and aroma of pear are attributes highly correlated with consumer preference.

Predieri and Gatti (2009) reported that differences in firmness of pears stored under refrigeration were clearly perceived by both trained judges and consumers, but it did not influence scores given.

CONCLUSIONS

According to results, it was concluded that the combination of cold storage and modified atmosphere provided by polyvinyl chloride film was able to control the deterioration of pears and contribute to the preservation of their quality characteristics.

BIBLIOGRAPHY

ABNT. 1993. NBR 12806: análise sensorial dos alimentos e bebidas. Rio de Janeiro.

Antoniolli LR. 2011. Pera: perspectivas de produção e conservação pós-colheita. Jornal da Fruta. Anais do III Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita. Nova Friburgo — RJ. 4-5. 2011. Disponível em:

http://www.cnpuv.embrapa.br/pesquisa/qualipears/artigos/trabalho01.pdf. Acesso em: 20.10.2014.

Aroucha, EMM., Souza CSM., Souza, AED, Ferreira RMA, Aroucha filho J.C. 2012. Qualidade pós-colheita da cajarana em diferentes estádios de maturação durante armazenamento refrigerado. Revista Brasileira de Fruticultura, 34: 391-399.

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: 1814-1820.

Cavaco AM, Pinto P, Antunes MD, Silva JM, Guerra R. 2009. "Rocha" pear firmness predicted by a Vis/NIR segmented model. Postharvest Biology and Technology, 51: 311–319.

Chitarra MLF, Chitarra AB. UFLA. 2005. Pós-colheita de frutos e hortaliças – Fisiologia e Manuseio. 785p.

Coutinho EF, Malgarim MB, Souza EL, Treptow RO. 2003. Qualidade pós-colheita da pêra (Pyrus communis L.) cultivar carrick, submetida a diferentes condições de armazenamento. Revista Brasileira de Fruticultura, 25: 417-420.

Dutcosky SD. Champagnat, 2011. Análise sensorial de alimentos. 3. ed.427p.

Instituto Adolfo Lutz (IAL). 2005. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 1020 p. Disponível em: <a href="http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository<emid=20">http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository<emid=20>. Acesso em 30 jun. 2014.

Lin L, Wang B, Wang M, Cao J, Zhang J, Wu Y, Jiang W. 2008. Effects of a chitosan-based coating with ascorbic acid on post-harvest qualityand core browning of 'Yali' pears (Pyrus bertschneideri Rehd.). Journal of the Science of Food and Agriculture, 88: 877–884

Lombardi SRB, Moraes DM, Camelatto D. 2000. Avaliação do crescimento e da maturação pós-colheita de pêras da cultivar Shinsseiki. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 35: 2399-2405.

Mattheis J, Felicetti1 D, Rudell DR 2013. Pithy brown core in 'd'Anjou' pear (Pyrus communis L.) fruit developing during controlled atmosphere storage at pO2 determined by monitoring chlorophyll fluorescence. Postharvest Biology and Technology, 86: 259–264.

Melo LMR 2013. Produção e mercado da pera de 2001 a 2010: panorama nacional e mundial. Comunicado Técnico. Nº 133. 7p. Nguyen TA, Verboven P, Schenk A, Nicolai B M. 2007. Prediction of water loss from pears (Pyrus communis cv. Conference) during controlled atmosphere storage as affected by relative humidity. Journal of Food Engineering, 83: 149–155.

Oteiza E, Cantillano RF. 2014. Pera: Colheita e Pós-colheita. In: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/pera/arvore/CON T000gjr2dp4r02wx5ok06wjwcxl7p1ha2.html. Acesso em: 20.10.2014

Pasquariello MS, Rega P, Migliozzi T, Capuano LR, Scortichini M, Petriccione M. 2013. Effect of cold storage and shelf life on physiological and quality traits of early ripening pear cultivars. Scientia Horticulturae, 162: 341-350.

Peerzada RH, Raghuveer SM, Mohd AD, Ali MW. 2010.Carboxymethyl Cellulose Coating and Low-Dose Gamma Irradiation Improves Storage Quality and Shelf Life of Pear (Pyrus Communis L., Cv. Bartlett/William). Journal of Food Science, 75: 586-596.

Parra-Coronado A, Hernandez JE, Camacho-Tamayo JH 2006. Comportamiento fisiológico de la pera variedad Triunfo de Viena (Pyrus communis L.) durante el período poscosecha. Revista Brasileira de Fruticultura, 28: 46-50.

Predieri S, Gatti E 2009. Effects of cold storage and shelf-life on sensory quality and consumer acceptance of 'Abate Fetel' pars. Postharvest Biology and Technology,51: 342-348.

Predieri S, Gatti E, Rapparini F, Cavicchi L, Colombo R. 2005. Sensory evaluation from a consumer perspective and its application to 'Abate Fetel' pear fruit quality. Acta Horticulturae, 671: 349–353.

Santos AF, Silva S.M., Mendonca RMN, Alves RE 2009. Conservação pós-colheita de mangaba em função da maturação, atmosfera e temperatura de armazenamento. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 29: 85-91.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank UFPB for the possibility of studies at Masters level, the PPGCTA for providing laboratories and equipment to perform the analyzes listed in this work and CAPES (Coordination of Improvement of Higher Education Personnel) for granting scholarships.

INFLUENCE OF MATURATION STAGES ON THE POSTHARVEST QUALITY OF TOMATOES (SOLANUMLYCOPERSICUM) SUBMITTED TO DIFFERENT STORAGE CONDITIONS

Costa A.C.S.¹, Carvalho C.U.S.¹, Lima E.L.C.¹, Silva M.C.A.¹, Souza C.C.¹, Madruga M.S.¹

1: Graduate Program in Science and Food Technology - PPGCTA - Federal University of Paraíba, Brazilacarolinasc@hotmail.com

Resumen: El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de las condiciones de la etapa de almacenamiento y maduración de las características físicas y físico-químicas de los tomates en 3 etapas de maduración (E1 - verde, E2 - naranja- rojo y E3 - de color rojo oscuro) . Los frutos fueron desinfectados y se almacenados a 25 °C y 5 °C, todos cubiertos con una película de cloruro de polivinilo (PVC) . Se evaluaron los siguientes parámetros: la pérdida de peso (WL), firmeza (N), pH, sólidos solubles (SS), y la incidencia de los moldes. Los resultados mostraron que en el quinto día de almacenamiento, se produjeroncambios significativos enla etapa E3 y se observaronlas diferencias más grandes para WL (3 % y 0,65 %) y la firmeza (4,61 N y 8,89 N), respectivamente, a 25 °C y 5 °C. Se observó que el contenido de SS aumentó con el tiempo en las tres etapas evaluados, con mayor progreso en E1. Enel quinto día de almacenamiento, se observó la incidencia de moho y las manchas de tomate enel E3 etapa almacenado a 25 ° C. Estoscambiosestándirectamente relacionados conla temperatura de almacenamiento, donde a 25 ° C , el metabolismo de las frutas y lasreacciones enzimáticas aumentan, disminuyendo su vida útil. Por lo tanto, se concluye que elalmacenamiento refrigerado combina con atmósfera modificada resultados enelmantenimiento de lacalidaddel fruto .

Palabras clave : *Solanumlycopersicum* , conservación , después de lacosecha.

Abstract: The objective of this study was to analyze the effect of maturation stage and storage conditions on physical and physicochemical characteristics of tomatoes at 3 maturation stages (E1 - Green, E2 - orange-red and E3 - deep red). Fruits were sanitized and stored at 25°C and 5°C, both covered with polyvinyl chloride film (PVC). The following parameters were evaluated: weight loss (WL), firmness (N), pH, soluble solids (SS), and incidence of molds. The results showed that on the fifth day of storage, significant changes occurred at stage E3 and the largest differences were observed for WL (3% and 0.65%) and firmness (4.61 N and 8.89 N), respectively, at room temperature and under refrigeration. It was observed that SS content increased over time in the three stages evaluated, with greater progress in E1. On the 5th day of storage, incidence of mold and stains of tomatoes at stage E3 stored at 25°C was observed. These changes are directly related to the storage temperature, where at 25°C, the metabolism of fruits and enzymatic reactions increase, decreasing their shelf life. Therefore, it is concluded that refrigerated storage combined with modified atmosphere results in maintaining fruit quality.

Keywords: *Solanumlycopersicum*, conservation, postharvest.

INTRODUCTION

Tomatoes are among the most popular vegetables in the world. World production is estimated at 1.26 million tons per hectare per year, with China and USA as the main producers (Faostat). According to Embrapa, Brazil occupies the eighth position, with average production volume of 110 million tons (Embrapa2005). Tomatoes are a rich source of fiber, vitamins A, C and lycopene, and epidemiological studies indicate that increased consumption of tomato is coincident with lower incidence of cardiovascular diseases (Árabeand Steck 2000,Sesso*et al.* 2003) and certain types of cancers (Giovannuci 2002a, Giovannuci 2002b,Giovannuci*et al.* 2002).

In Brazil, tomato is one of the largest cultures in the agricultural market, covering an area of 58,000 hectares of which 40,000 hectares are tomatoes for fresh consumption and 18,000 hectaresare tomatoes intended for processing. Productionreaches approximately three million tons per year, of which one million and 800 thousand tons are of variety fresh tomato. The largest production is concentrated in the states of Goiás, São Paulo and Minas Gerais, totaling about 65% of national production (Peixoto2003).

Tomato is harvested at green maturation stage, and after the maturation process, optimum nutritional and sensory qualities are developed. However, after harvest and during transport and storage, tomatoes can lose their quality and become unsaleable. Consequently, improving and preserving the quality of tomatoes in terms of firmness, color, texture, flavor and shelf life are extremely important for producers, tomato processing

companies, and the food industry in general. Postharvest losses account for nearly 40% of vegetables harvested worldwide (Gustavsson *et al.* 2011).

According to Chiumarelli and Ferreira (2006), after harvest, tomato becomes a highly perishable fruit. Due to the high water content, it is subject to variations in temperature and relative humidity. Water loss causes weight loss and changes the fruit appearance, and these losses are more significant in the postharvest period due to mechanical damage, improper storage, inadequate handling and transportation.

Being classified as a climacteric fruit, the ripening of tomatoes is accompanied by a small increase in respiratory activity usually associated with high ethylene production. The peak expiratory process is called climacteric maximum, followed by a decline in respiratory activity called post-climacterium. Climacterium can be defined as the stage of development with elevated respiratory activity associated with an autocatalytic ethylene production, growth hormone, which has a highly variable concentration during development, with maximum production at maturation (Koblitz 2008).

Refrigeration delays the senescence process and reduces injuries caused by higher temperatures, with benefits in conservation and increased storage time, with improvements in the marketing and sales process, ensuring higher quality to consumers (Azodanlou *et al.* 2003).

Aroucha*et al.* (2012) point out the cold chain in the handling of fresh fruit from the packing house up to supermarket shelves as an effective technique to extend the shelf life of these products, since it delays the metabolism of fruits and increases their shelf life. However, there are other ways to extend the postharvest quality of climacteric fruits, which may be associated togood postharvest quality.

According to Brackmann et al. (2012), the use of modified atmosphere obtained with the use of plastic films seems to be a more practical and less costly way of conservation, because due to the effect of coating, gas exchange occurs at a slower rate, gradually increasing CO₂ concentrations with breathing, which subsequently is inhibited due to increased CO₂ concentration in the internal part of the coating.

Flexible films, such as polyvinyl chloride (PVC), are good examples of modified atmosphere, as they are a way to establish a gaseous composition within the packing, different from air by reducing the O_2 concentration and increasing the CO_2 concentration (Santos *et al.* 2009).

Theaim of this study was to evaluate the effect of maturation stage on storage conditions with and without modified atmosphere and temperature variations on the postharvest quality of tomatoes (*Solanumlycopersicum*).

MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted at the Laboratory of Chemical Analysis of Foods - LAQA Department of Food Engineering, Federal University of Paraíba - UFPB. Fruits purchased in a supermarket in the city of João Pessoa - PB were selected and grouped according to three maturation stages defined according to their color and firmness. Tomatoes at stage 1 (E1) had green skin and high firmness compared to fruits at stages E2 and E3, respectively, which had red-orange and deep red skin. The firmness of tomatoes at E2 was intermediate to those at E1 and E3.

After classification, fruits were washed in running water, sanitized with sodium hypochlorite solution and dried with

paper towel. Then, they were arranged in pairs in Styrofoam trays and coated with polyvinyl chloride (PVC) film. After this procedure, trays were stored under predetermined conditions. Part of trays was submitted to cold storage (5 ° C) while the other part was maintained at room temperature (25 ° C). In both conditions, the storage period was five days during which the fruits were analyzed for weight loss, soluble solids, pH and firmness. Analyses were performed at time zero (the same day of fruit purchase), third day and fifth day of storage. Sensory analyses were performed at time zero and at the end of the five days of storage.

Weight loss was obtained by difference between initial and final weight of fruits. Fruits were weighted on semi-analytical scales. The content of soluble solids, given in ° Brix, was obtained by reading in benchtop refractometer as recommended by "Instituto Adolfo Lutz" (2005). For pH analysis, pH meter was used and samples were analyzed in triplicate (IAL 2005).

Texture tests were conducted to determine the firmness of fruits at each maturation stage as a function of time and temperature. Whole fruits were placed with the mid-point on the largest diameter at the center of the load cell, with 1 fruit representing each stage at each time interval, using the P / 3 cylindrical probe. The equipment used was Texture Analyzer model TA-XT Plus from ExtralabBrasil. The results of readings were recorded in software (STABLE MICRO SYSTEMS®, TE32L, version 4.0, Surrey, England) and expressed in Newtons (N).

Fruits were submitted to sensory acceptance test with 12 untrained judges. The traits analyzed were: flavor, sweetness, acidity, appearance, texture and overall assessment. Individually, samples were presented to judges coded with random three-digit codes. Data were collected through individual record using

a 9-point hedonic scale numerated from 1 to 9, from extremely disliked (score 1) to extremely liked (score 9).

Sensory evaluation results were interpreted according to methodology proposed by Dutcosky (2011), which proposes the calculation of the Acceptability Index (AI) using the following expression:

$$AI(\%) = A \times 100 / B_{(1)}$$

Where, A = average score given to the product and B = maximum score given to the product. To be considered of good repercussion, Al should be \geq 70%.

For statistical analysis, performed using Excel from Microsoft Office 2010, analysis of variance was performed in a factorial design in randomized blocks. When significant differences were found, means were evaluated by the Tukey test ($p \le 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows that fruits at stage E3 were the most sensitive to fresh weight loss and this sensitivity was higher under conditions of room temperature. Fruits stored at room temperature showed losses greater than twice those observed for fruits stored under refrigeration.

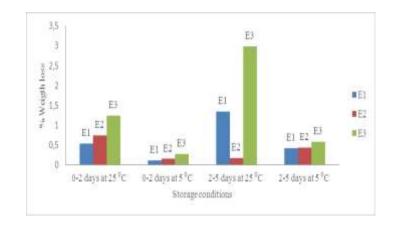


Figure 1.Weight loss percentage of tomatoesat three maturation stagesduring refrigerated storage and at room temperature for 0, 2 and 5 days.

Tomatoes stored at room temperature showed a decrease in all three maturation stages; however,reduction was not proportional up to the end of the experiment. Nguyen *et al.* (2007) reported that a major cause of deterioration of climacteric fruit is moisture loss, which in tomatoes has important consequences for fruit quality, since wilting and weight loss occur. According to the authors, there is a reduction of fruit volume as water is lost from cells with decreased turgidity pressure.

Weight loss is reduced in storage under modified atmosphere due to the increase of the relative humidity within the package, saturating the atmosphere around the fruit, which reduces the water vapor pressure deficit in relation to the storage environment, minimizing the transpiration rate (Chitarra and Chitarra 2005; Pasquariello *et al.* 2013).

In a study with green tomatoes, Farnetti*et al.* (2013) observed that differences in fruit maturation may be linked to the temperature gradient and CO_2 levels when stored under different conditions. Thus, CO_2 levels, temperature and harvest period are related to the postharvest behavior of tomatoes.

The average results of physicochemical evaluations of tomatoes studied in this work are shown in Table 1.

Table 1. Average results for soluble solids, pH Firmness, Luminosity, Parametersa * and b * of tomatoes at three maturation stages over refrigerated storage and at room temperature for 0, 2 and 5 days

			Storage cond	litions	
Maturation stage	Time 0	After 2 days under refrigeration	After 2 days under room temperature	After 5 days under refrigeration	After 5 days under room temperature
			Soluble solids	(SS %)	
E1	5.50 a	4.38 b	4.75 ^c	5.75 ^d	7.88 ^e
E2	4.50	4.63 ^a	5.25 b	5.88 ^c	7.25 ^d
E3	5.25	4.88 ^b	5.63 ^c	5.78 ^d	6.63 ^e
			рН		
E1	4.22 a	4.19 ^a	4.43 ^b	4.48 ^b	4.35 °
E2	4.64	4.78 ^b	4.74 ^c	4.76 b.c	4.63 ^a
E3	4.78 a	4.92 ^b	4.92 b.c	4.75 ^a	4.64 ^d

			Firmness ((N)	
E1	18.60 a	13.64 ^b	13.14 ^b	16.66 ^c	8.79 ^d
E2	11.73 a	10.72 ^a	10.71 ^a	11.50 ^a	8.02 ^a
E3	8.80 a	9.05 ^a	8.26 ^a	8.89 a	4.61 ^a

Means followed by the same letter in the line do not differ by the Tukey test at 5% probability.

Fruit ripening is a phase of dynamic transition that involves several metabolic and biochemical processes, such as breakdown of cell walls and pectin, degradation of membranes, breaking of carbohydrates stored as sugars, acidity reduction and increase in biosynthesis of color and volatile compounds, all contributing to an overall improvement of fruit quality (Paliyath et al. 2012).

The amount and types of sugars stored in tomato fruits are some of the main postharvest quality of tomato to affect the overall flavor and fruit quality (Daiane2012). During the five days of the experiment, there was an accumulation of soluble solids at the three maturation stages, being more pronounced when stored underroom conditions. According to Morgan (2004), soluble solids values above 5.0°Brix are indicative of high-quality tomato fruits. Soluble solids content is associated to flavor, as in the case of tomatoes, most of these solids are represented by acids and sugars, providing greater acceptance and therefore the product quality.

The firmness analysis of tomatoes resulted in significantly different values according to statistical test only for fruits atstage E1. The results for fruits stored at room temperature in the three stages did not decrease proportionally up to the end

of the experiment. Nevertheless, a reduction in the average firmness values was observed. Pulp firmness is an important quality that allows the monitoring of the fruit quality during ripening, storage and distribution (Pasquariello *et al.* 2013). Pasquariello *et al.* (2013) observed that the softening of fruits resulting from the decrease in the firmness values was faster when fruits stored under refrigeration conditions were transferred to 20 ° C.

The results obtained for the pH analysis showed that both after refrigerated storage and after storage at room temperature, significant changes in the different maturation stages were observed, either for more or for less. In relation to tomatoes at stage E1, significant pH change was only observed after 5 days in both refrigeration and room temperature, with decreased pH values in both cases. E2 and E3 showed similar behavior and similar variations; however, the decrease in pH was greater at the end of storage.

The pH values found for tomatoes atstage E1 confirm that the fruit is acid according to classification proposed by Giordano, Silve and Barbosa (2000a), pH less than 4.5. The pH value may vary depending on storage conditions, with great influence on the taste of the final product.

According to Silva *et al.* (2004),pH below 4.5 is in general desirable due to the ability to reduce the proliferation of microorganisms.

A comprehensive knowledge of factors affecting consumer acceptance is of great importance and a realistic approach of the quality of pears should consider physicochemical parameters not as goals but as tools for monitoring maturation and prior knowledge of the optimal food quality (Predieri and Gatti 2009). Sensory analysis is defined by the Brazilian Association of Technical Standards (ABNT 1993) as a scientific discipline used

to evoke, measure, analyze and interpret reactions of the characteristics of foods and materials as they are perceived by the senses of sight, smell, taste, touch and hearing. Table 2 presents the mean values calculated from the scores given to sensory parameters evaluated at time 0 (baseline) and after five days of experiment.

Table 2.Mean scores for the sensory attributes of tomatoes at the three maturation stages at time 0 (first test) and after five days at 5 °C (second test)

Attributes	1 st test			2 nd test			
	Mean E1	Mean E2	Mean E3	Mean E1	Mean E2	Mean E3	
Flavor	5.75	7.33	7.75	5.50	6.50	7.33	
Sweetness	5.00	6.25	7.00	4.67	5.92	7.25	
Acidity	5.42	7.00	6.75	5.17	6.17	6.92	
Juiciness	5.25	7.08	7.75	5.75	6.58	7.42	
Texture	6.17	7.58	7.67	6.75	7.33	7.67	
Overall evaluation	5.83	7.33	7.58	5.83	6.75	7.42	

According to Ferreira *et al.*(2004), the sensory properties of tomatoes are important both for consumers to assess the quality of vegetable as for the buying procedure, as in supermarkets, only products that meet consumer expectations are marketed. The maturation stage of tomatoes influences the postharvest life of fruits, in maturation and assists in the selection of fruits, along with size, shape and external defects (Ferreira *et al.* 2010).

In evaluating the sensory aspects and physicochemical characteristics of two non-commercial genotypes of tomatoes, Guilherme*et al.* (2014) observed that fruits met the good condition of color and physical appearance, with scores above 8.0 (likedmuch) and 7.5 (liked moderately), respectively. The same authors found scores above 7.5 for flavor and general appearance of fruits.

The data for the AI calculation for each maturation stage and in each test are shown in Table 3.

Table 2. Results of the Acceptance Index (AI) calculation of tomatoes at different maturation stages assessed at time 0 (first test) and after five days at 5 °C (second test)

Attributes	1 st test			2 nd test		
	AI (%) E1	AI (%) E2	AI (%) E3	AI (%) E1	AI (%) E2	AI (%) E3
Flavor	63.89	81.44	86.11	68.75	72.22	81.44
Sweetness	62.50	69.44	77.78	58.38	65.78	80.56
Acidity	77.43	87.50	84.38	64.63	77.13	86.50
Juiciness	75.00	78.67	86.11	63.89	73.11	82.44
Texture	77.13	94.75	85.22	75.00	81.44	85.22
Overall evaluation	83.29	91.63	84.22	72.88	75.00	82.44

In the assessment performed in the initial period, it was found that tomatoes at E3 were well accepted, presenting more than 70% of Acceptance Index for all attributes. However, fruit at E1 and E2, attributes such as flavor, sweetness, acidity and juiciness did not reach the minimum of 70%.

Considering that tomatoes at E1 and E2 were greener, their lower acceptance can be explained by the higher concentration of organic acids and texture harder than fruits usually present when they are in the early stages of the maturation process.

Ferreira *et al.* (2010) pointed out that understanding the maturation processes of tomatoes and characteristics of fruit quality during storage are key to marketing and suggest color as the most attractive quality attribute, being related to appearance, contentof sugars, acidity, pH, texture, flavor and juiciness.

Due to the genetic variability and soil and climatic conditions of cultivation areas, there is considerable variation in the levels of chemical constituents of tomatoes and this variation is reflected in the sensory characteristics of fruits (Guilherme *et al.* 2014). The perishable nature of tomatoes requires the adequate storage of fruits to delay ripening, maintain quality and extend shelf life (Brackmann *et al.* 2007).

CONCLUSION

According to results, it is concluded that the combination of cold storage and modified atmosphere is more effective in maintaining the postharvest quality of tomatoes. This is due to the ability to reduce the fruit metabolism, keeping the physicochemical characteristics and reducing weight loss.

BIBLIOGRAPHY

Arab L, SteckS. 2000.Lycopene and cardiovascular disease. The American Journal Clinical Nutrition,71:1691–1695.

ArouchaMME, Souza MSC, Souza DEA, Ferreira AMR, Filho ACJ2012.Qualidade pós-colheita da cajarana em diferentes estádios de maturação durante armazenamento refrigerado. Revista Brasileira de Fruticultura. 34:391-399.

Azodanlou R, DarbellayC, Luisier J, Villettaz J, AmadòR. 2003. Development of a model for quality assessment of tomatoes and apricots. Lebensm.-Wiss.U.-Technol., 36:223-233.

Brackmann A, SteffensA C, AndrioloJL, PintoVAJ,2007. Armazenamento de tomate cultivar "Cronus" em função do estádio de maturação e da temperatura. CiênciaRural,37:1295-1300.

Diane M, 2012. Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanumlycopersicum* L.) fruit. Postharvest Biology and Technology, 63:129–140.

Farneti B, <u>Schouten</u> ER, <u>Qian</u> T, <u>Dieleman</u>JA, <u>Tijskens</u> LMM, <u>Woltering</u> JE.2013. Greenhouse climate control affects postharvest tomato quality. <u>PostharvestBiologyand</u> Technology,86:354–361.

Ferreira SMR, Quadros DA,Karkle ENL, Lima JJ,Tullio LT, Freitas RJS.2010. Qualidade pós-colheita do tomate de mesa convencional e orgânico. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 30:224-230.

Ferreira SMR, ,Quadros DA, , Freitas RJS, *Lazzari* EN. 2004. Perfil sensorial do tomate de mesa (*Lycopersiconesculentum Mill*) Orgânico. Visão Acadêmica, Curitiba, PR, 5:19-26.

Giordano LB, Silva JBC, BarbosaV. 2000. Colheita. In: SILVA, J.B.C. da; GIORDANO, L. de B. (Org.). Tomate para processamento industrial . Brasília, DF: EMBRAPA Comunicação para Transferência de Tecnologia/EMBRAPA-CNPH, 128-135.

Giovannucci E. 2002a. Lycopene and prostate cancer risk. Methodological considerations in the epidemiologic literature. Pure and Applied Chemistry, 74: 1427–1434.

Giovannucci E. 2002b A review of epidemiologic studies of tomatoes, lycopene, and prostate cancer, Experimental Biology and Medicine, 227:852–859.

Giovannucci E. 2002. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. Journal of The National Cancer Institute, 94:391–398.

GuilhermeDO,Pinho L, Cavalcanti TFM, Costa CA, AlmeidaAC.2014. Análise sensorial e físico-química de frutos tomate cerejaOrgânicos. RevistaCaatinga, Mossoró, 27: 181 – 186.

Gutavsson*et al.* 2011.Global food losses and food waste. Food and Agriculture Organization of the United Nations.Disponível em :< http://www.fao.org/docrep/014/mb060e/mb060e00.pdf>, Acesso em 20 set. 2014.

Instituto Adolfo Lutz (IAL). 2005. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 1020 p. Disponível em: <a href="http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository<emid=20">http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository<emid=20>. Acessoem 30 jun. 2014.

Morgan L 2014. Tomato fruit flavor and quality evaluation .Part I. 2004. Disponível em: http://www.fertcut.com/seach.cfm Acesso em: 15 de setembro de 2014.

NguyenT.A. *et al.* 2007. Prediction of water loss from pears (Pyruscommuniscv.Conference) during controlled atmosphere storage as affected by relative humidity. Journal of Food Engineering83:149–155.

Pasquariello MS *et al.* 2013. Effect of cold storage and shelf life on physiological and quality traits of early ripening pear cultivars. ScientiaHorticulturae. 162:341-350.

Peixoto A 2003. O mercado de tomate no Brasil e suas tendências . UNICAMP, 23 de maio de 2003. Disponível em: http://www.feagri.unicamp.br/tomates/pdfs/wrktom001.pdf>. Acesso em: 17 de setembro de 2014.

Predieri S, Gatti E 2009. Effects of cold storage and shelf-life on sensory quality and consumer acceptance of 'Abate Fetel' pars.PostharvestBiologyand Technology. 51:342-348.

Rinaldi MM, *Sandri D, Oliveira BN, Sales RN, Amaral RDA*. 2011. Avaliação da vida útil e de embalagens para tomate de mesa em diferentes condições de armazenamento. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 29, n. 2.

Santos AF, Silva SM, Mendonca RMN, Alves RE. 2009. Conservação pós-colheita de mangaba em função da maturação, atmosfera e temperatura de armazenamento. Ciência e Tecnologia de Alimentos 29:85-91.

Silva CV, Barbosa CPI, Paula ML, Coelho NRA. 2004. Obtenção e caracterização físico-química do pó de tomate. In: Congresso Brasileiro De Ciência E Tecnologia De Alimentos, pag 19,2004. Recife. Anais. Recife: SBCTA. CDhttp://www.grupocultivar.com.br/arquivos/hf29_rei.pdf,

http://www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=676

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank UFPB for the possibility of studies at Masters level, the PPGCTA for providing laboratories and equipment to perform the analyzes listed in this work and CAPES (Coordination of Improvement of Higher Education Personnel) for granting scholarships.

<u>CARACTERÍSTICAS DEL SECADO DE MORAS</u> (<u>MORUS NIGRA</u>)

Fernández P.R.¹, Mascheroni R.H.², Ramallo L.A.¹

1: IMAM– CONICET – Universidad Nacional de Misiones, Argentina

2: CIDCA – Facultad de Ingeniería – UNLP, La Plata, Argentina fernandezpaula.28@gmail.com

Resumen: En el presente trabajo se determinaron los cambios en el color y la cinética de pérdida de aqua durante el secado de frutas de Morus nigra. A tal fin, frutas maduras de mora de masa y color uniforme fueron secadas durante 5 h en un secadero convectivo de flujo axial a temperatura (45, 60 y 75°C) y velocidad de aire (0,9 m/s) constantes. Se midió color, humedad y peso de la fruta antes y después del secado. Se aplicó un modelo difusional (2^{da} Ley de Fick, con propiedades constantes) y un modelo empírico (Ecuación de Page) para describir la pérdida de masa. Los resultados de ΔE , diferencia de color entre la fruta procesada y la fruta fresca, para los procesos a 45, 60 y 75°C fueron 1,99, 2,54 y 3,26 respectivamente. El contenido de agua en las frutas con 5 h de secado a 45, 60 y 75°C fue de 80,06±2,08; 63,78±6,22 y 15,28±8,55g agua/100 g de fruta, respectivamente. Los valores del parámetro n del modelo de Page no variaron con la temperatura del secado a 45 y 60°C, resultando en un valor promedio de 0,997±0,003, mientras que para el secado a 75°C el valor fue n=1,44±0,006. Los valores del parámetro K fueron 0,001, 0,0038, 0,001 para el secado a 45, 60 y 75°C, respectivamente. Los coeficientes de difusión y el error de la estimación, resultantes de la aplicación de la ecuación integrada de la 2^{da} Ley de Fick fueron $1,9x10^{-11}$ m²/s y 4,06%; $1x10^{-10}$ m²/s y 7,65%; $8x10^{-10}$ m²/s y 62%, a 45, 60 y 75° C respectivamente.

Palabras claves: moras, secado, cinética de pérdida de agua

Abstract: In this work, color changes and kinetics of water loss during the drying of *Morus nigra* fruits were determined. To this end, ripe mulberry fruits with uniform mass and color were dried during 5h in a axial flow dryer atconstanttemperature (45, 60 and 75 °C) and air velocity (0,9m/s). Color, moisture and weight of fruit before and after drying were measured. To describe the mass loss during mulberry drying a diffusion model (2nd Fick's law with constant properties) and an empirical model (Page Equation) were applied. Results of ΔE , color difference between processed fruit and fresh fruit, for processes at 45, 60 and 75°C were 1,99, 2,54 and 3,26, respectively. Water content of dried fruits at 45, 60 and 75°C were 80,06±2,08; 63,78±6,22 v 15,28±8,55 g water/100 g of fruit, respectively. The *n* parameter of Page model remained unchanged in drying temperature range 45-60°C, resulting an average value of 0,997±0,003, while for drying at 75°C its value was $n=1,44\pm0,006$. Values of k parameter were 0,001, 0,0038, 0,001 for drying at 45, 60 and 75°C, respectively. Diffusion coefficients and estimationerror from application of integrated equation of 2nd Fick's Law were $1.9 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ and 4.06%: 1×10^{-10} m²/s and 7.65%: 8×10^{-10} m²/s and 62%, at 45, 60 and 75°C, respectively.

Keywords: mulberry, drying, water loss kinetics

INTRODUCCIÓN

La mora negra (*Morus nigra*) es una fruta polidrupa que pertenece al grupo de las llamadas berries o también frutos del bosque junto con las frutillas, frambuesas, arándanos y grosellas. En los últimos años hubo un crecimiento en el consumo y comercialización de estas frutas en forma principalmente fresca, congelada y desecada, aunque este último proceso induce numerosos cambios en la estructura y composición del tejido vegetal, que afectan la calidad del producto final. El secado es una de las operaciones unitarias más comúnmente usadas para prolongar la vida útil de los alimentos y facilitar su comercialización. El proceso de secado de frutas ha sido descrito tanto por modelos teóricos, a través de la 2^{da} Ley de Fick, como por modelos empíricos, como laEcuación de Page, con diferentes resultados de acuerdo a las características del material. El modelo difusional de Fick considera que el transporte de agua desde el interior del sólido hacia la superficie del mismo tiene lugar principalmente por difusión, calculándose de este modo un coeficiente de difusión efectivo (Kaymak-Ertekin2002). El modelo empírico de Page deriva de una relación directa entre la humedad promedio del sólido y el tiempo de secado, además de estar fuertemente relacionados con el modelo difusional de la segunda ley de Fick (Akpinar 2005). A pesar de que las constantes k y n no tienen significado físico claramente definido, esta ecuación permite describir en forma satisfactoria la curva de secado de alimentos, tal como lo reportan varios autores, Simal et al. (2005) en kiwi, Ceylan et al. (2007) en banana, kiwi y palta, Doymaz (2006, 2007) en tomates y uvas negras, entre otros productos.

Doymaz (2004a) comparó el secado con flujo transversal de aire caliente a 50°C y velocidad de aire de 1m/s de moras blancas pretratadas con soluciones de oleato de etilo, ácido cítrico y ascórbico, concluyendo que el oleato de etilo reduce en mayor medida el tiempo de secado. De estas conclusiones, Doymaz (2004b) ocupa el oleato de etilo como pretratamiento para secar moras blancas en un secadero solar (26 a 34°C) obteniendo menor tiempo de secado que las no tratadas. Maskan y Göğüş (1998) estudiaron las características del secado de moras blancas a 60, 70 y 80°Cy velocidad de aire de 1,2 m/s. En la provincia de Misiones la variedad preponderante es *Morus* nigra, no encontrándose referencias sobre el secado de las mismas. Las principales desventajas para la comercialización de esta fruta son su corto tiempo de cosecha y su alta velocidad de senescencia. Por ello es necesario el estudio de técnicas que posibiliten la preservación de esta fruta, viables de ser aplicadas en la provincia de Misiones, dando la oportunidad de surgimiento de nuevos productos que ayuden al impulso de la producción e industria regional. El objetivo de este trabajo fue determinar las características fisicoquímicas, como el contenido de humedad, color, sólidos solubles de las moras (Morus nigra) y

MATERIALES Y MÉTODOS Preparación de la muestra

de Page) a tres temperaturas (45, 60 y 75°C).

Se utilizaron moras del género *Morus*, especie *Nigra* cosechadas en la Provincia de Misiones. Fueron clasificadas según grado de madurez (14,87 \pm 2,97 °Brix y color uniforme, **Tabla 3**) y tamaño (2,37 \pm 0,58 g).

estudiar la cinética de secado con aire caliente aplicando un modelo teórico (2^{da} Ley de Fick) y un modelo empírico (Ecuación

Humedad, sólidos solubles, pH y acidez

La humedad se cuantificó mediante el método gravimétrico, en estufa a 75°C hasta pesada constante (aproximadamente 48 horas). El contenido de sólidos solubles totales se determinó sobre lectura directa en refractómetro (Marca Icsa, Ind. China) del jugo de moras obtenido por compresión mecánica de 3 frutas por vez, por triplicado. El pH se determinó utilizando un pHmetro (Marca Altronix, Ind. Arg.) calibrado previamente con buffer de pH 7 y 4, directamente en el jugo de moras provenientes de 10 g de fruta fresca. La acidez titulable se determinó por método de titulación con NaOH 0,1N (AOAC 942.15). Los análisis se efectuaron por triplicado.

$$MR = \frac{M - M_{\theta}}{M_0 - M_{\theta}} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} exp \left[-n^2 \pi^2 \left(\frac{D_{\theta} f f t}{r^2} \right) \right]$$
 (1)

$$MR = \frac{M - M_{\theta}}{M_0 - M_{\theta}} = \exp(-kt^n)$$
 (2)

Donde: M_0 , M y M_e son los valores de humedad inicial (t=0), al tiempo t de secado y de equilibrio (72 h de secado con aire caliente), respectivamente (g de agua/100 g de materia seca); Deff es el coeficiente de difusión (m²/s); r es el radio de la esfera

Secado

El proceso de secado se realizó en secadero convectivo con flujo de aire axial a temperatura (45, 60 y 75°C) y velocidad de aire (0,9 m/s) constantes. Las muestras de mora (10 frutas, peso promedio de 20,43±2,80 g) fueron colocadas en canastas de malla perforada. Se registró el peso de cada canasta cada 10 minutos en la primer hora, cada 15 minutos las dos horas siguientes y cada 30 minutos las últimas dos horas. Los ensayos se realizaron por triplicado. Se evaluó la humedad de la fruta fresca y al final del secado.

Se aplicaron dos modelos matemáticos para describir la transferencia de masa durante el secado de moras, un modelo difusional simplificado: 10 primeros términos de la ecuación integrada (Crank 1975) de la 2^{da} Ley de Fick en coordenadas esféricas (Ecuación 1), considerando la fruta como una esfera con propiedades constantes (volumen, difusividad, temperatura, etc.) y un modelo empírico: Ecuación de Page (Page 1949) (Ecuación 2).

(m); t es el tiempo de secado (s); k (s⁻¹) y n son coeficientes de la Ec. de Page.

La bondad del ajuste de las Ec. 1 y 2 a los resultados experimentales se evaluó a través del coeficiente de regresión lineal (r^2) y del error promedio porcentual (Epp) de la estimación (Ecuación 3).

$$Epp = \frac{1}{n} \sum \left| \frac{Mexp-Mcalc}{Mexp} \right| \times 100 \tag{3}$$

Color

Para la determinación de color se utilizó un colorímetro (MiniScanb, USA). Se midió el color en el sistema CIELAB, en fruta fresca y después del proceso de secado. Los parámetros que se emplearon para el análisis de variación de color fueron Hue (Ec. 4a y 4b), Croma (Ec. 5) y variación total del color Δ E (Ec. 6). El ángulo Hue puede tomar valores que varían en el círculo

cromático de 0 (color rojo), 90° (color amarillo), 180° (color verde) a 270° (color azul); el Croma representa la intensidad o la pureza de la tonalidad, y el valor ΔE se utiliza para saber cuánta diferencia hay entre los colores de 2 muestras.

$$Hue = tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right), (cuandoa *> 0)$$
 (4a)

$$Hue = 180 + tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*}\right), (cuandoa *< 0)$$
 (4b)

$$Croma = \sqrt{{a^*}^2 + {b^*}^2}$$
 (5)

$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2}$$
 (6)

Donde L_0 , a_0 y b_0 corresponden a las coordenadas de color de la fruta fresca a tiempo 0, y, L^* , a^* y b^* a las coordenadas de la muestras medidas a tiempo t.

RESULTADOS Características de la mora fresca

Los resultados de la caracterización de las frutas de mora utilizadas en el presente estudio se presentan en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Análisis físico-químico de mora negra

Parámetro	Resultados*
Peso del fruto (g)	2,37 ± 0,58
Humedad (g de agua/100g	$83,4 \pm 2,9$
fruta fresca)	
Sólidos Solubles Totales	$14,87 \pm 2,97$
(°Brix)	
рH	$4,86 \pm 0,70$
Acidez Titulable (g de ácido	$0,75 \pm 0,25$
cítrico/100g fr)	
Color: L*	$10,60 \pm 1,20$
a^*	$1,02 \pm 0,29$
<i>b</i> *	0,85 ± 0,19

^{*}Cada valor es el promedio ± la Desviación Standard de los resultados obtenidos.

Estos resultados son similares a los reportados por Ercisli y **Tabla2:** Constantes y ajustes de los modelos de Page y quienes estudiaron las características (2008)fisicoquímicas de moras negras. Los valores de pH para esta fruta reportados en la literatura son diversos: entre 3,43 y 3,66 (Ercisli v Orhan 2008), entre 5,95 v 7,39 (Sánchez-Salcedo et al. 2013), entre otros.

El promedio de Sólidos Solubles Totales entra dentro del rango reportado por Sánchez-Salcedo et al. (2013) que informaron valores desde 12,03% a 25,77%. Por otra parte, el valor de acidez titulable (0,75%) cuantificado en el presente trabajo fue ligeramente menor a los reportados por otros autores para el género Morus: 0,93% a 2,65% (Sánchez-Salcedo et al. 2013), 1,40% (Ercisli v Orhan 2007) v 1,084% (Gundogdu 2011).

Secado

El promedio del contenido de agua de las frutas frescas fue de 83,4±2,9 g de agua/100g fruta fresca, disminuyendo luego de 5 h de secado a 45, 60 y 75°C a valores de 80,06±2,08; 63,78±6,22 y 15,28±8,55g agua/100 g de fruta, respectivamente. Los valores de humedad expresados como relación adimensional (MR), se ajustaron a los modelos matemáticos mencionados anteriormente (Ec.1 y 2). Los valores de los parámetros resultantes del ajuste por regresión no lineal y de los errores de estimación para cada

modelo se presentan en la Tabla 2.

Difusional.

	Modelo de Page				Modelo	difusion	nal
Tratamiento	k	n	r²	Ерр (%)	$D_{efx10}(m^2/s)$	P	Ерр (%)
SAC 45°C	0,001	0,995	0,9996	0,185	1,9x10 ⁻¹¹	0,9845	4,06
SAC 60 °C	0,0038	0,999	0,9925	3,95	1,0x10 ⁻¹⁰	0,9434	7,65
SAC 75 °C	0,001	1,440	0,9627	12,12	8,0x10 ⁻¹⁰	0,7419	62,0

El parámetro k de la ecuación de Page puede ser aplicado para comparar la velocidad de pérdida de humedad cuando se comparan experiencias con idénticos valores de n, puesto que n determina la escala del eje de abscisas (tⁿ) en el análisis de regresión (Ec. (2)). El parámetro *n* se mantuvo constante en las experiencias de secado a 45 y 60°C y muestra un marcado incremento en las curvas de secado a 75°C. En ensayos con n constante los valores de k se incrementaron con la temperatura del proceso. Estos resultados son acordes a los presentados por Doymaz (2003) en un estudio de secado de moras blancas, donde se informó valores de *n* de 1,003, 1,149, 1,154 y 1,244 y *k* de 0,00153, 0,00921, 0,001158 y 0,001288 secadas a 50, 60, 70 y 80°C respectivamente. En la aplicación de la ecuación integrada de la segunda ley de Fick (Ec. 1), se consideró a la mora de forma esférica, utilizando el radio promedio de la fruta.

Los valores de difusividad resultantes se encuentran en el rango de 10⁻¹⁰-10⁻¹¹m²/s estando en concordancia con otras investigaciones. Doymaz (2003) obtuvo valores de difusividad en

el rango de $2.3 \times 10^{-10} \text{m}^2/\text{s}$ a $1.2 \times 10^{-9} \text{m}^2/\text{s}$, durante el secado de moras blancas pretratadas con oleato de etilo a 50°C y 80°C , respectivamente. Maskan y Göğüş (1998) reportaron para moras blancas deshidratadas de 60 a 80°C valores de difusividad comprendidos desde 2.32×10^{-10} hasta 2.76×10^{-9} m²/s.

En la **figura 1** y **2** se presentan los valores experimentales, expresados por MR en función del tiempo de secado, y los valores calculados según el modelo difusional de Fick (Ec. 1) y el modelo de Page (Ec. 2).

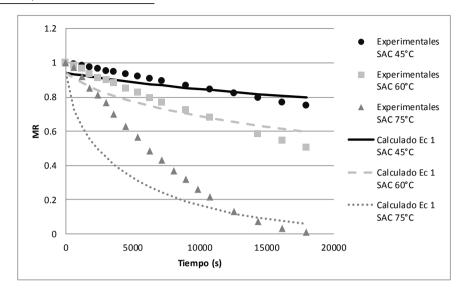


Figura 1: Variación de la humedad adimensional experimental y la predicha por el modelo difusional para el secado de moras a 3 temperaturas.

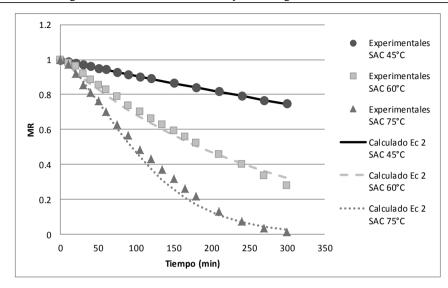


Figura 2: Variación de la humedad adimensional experimental y la predicha por el modelo de Page para el secado de moras a 3 temperaturas.

En todos los casos, el error promedio porcentual de la estimación a través del modelo de Fick es más elevado que el error de la estimación resultante de la aplicación de la Ecuación de Page. Una de las razones de esta diferencia podría originarse en que la geometría real de las frutas difiere de la esfera asumida para el modelo matemático, en cambio el modelo empírico no considera la forma del sólido. Por otra parte, el marcado incremento en los valores del Epp durante el secado a 75°C respecto del secado a 45 y 60°C, podría deberse a cambios estructurales en el tejido, puesto que a simple vista se observa disgregación de las drupas y reducción del volumen global. Por otra parte, a esta temperatura las propiedades termofísicas del sólido pueden variar por efecto de la concentración de solutos.

Color

El color varía conforme la mora va madurando, comenzando en un tono blanco verdoso pasando al rojo para finalmente llegar al púrpura oscuro, prácticamente negro.

El color de la mora se atribuye principalmente a la presencia de antocianinas. Las antocianinas son inestables y pueden degradarse debido a varios factores, entre ellos; pH, luz, oxígeno, enzimas, ácido ascórbico, y tratamiento térmico.Las antocianinas relativamente simples son más estables en medio ácido que en medio neutro o alcalino. En medio ácido la forma predominante es la del ión flavilio, el cual proporciona color rojo a medida que el pH se eleva, las antocianinas se transforman en una base quinónica de color azulado.

Los parámetros de color obtenidos y calculados se presentan en la **tabla 3**.

Tabla 3: Determinaciones de color en moras frescas y secas

	L*	a*	b*	Hue	Croma	ΔΕ
Fruta	10,60 ±	1,02 ±	0,85 ±	39,69 ±	1,33 ±	
Fresca	1,20	0,29	0,19	4,27	0,33	
CAC AE°C	11,04 ±	1,38 ±	1,39 ±	45,25 ±	1,96 ±	1.00
SAC 45°C	0,69	0,02	0,20	3,76	0,15	1,99
SAC 60°C	11,15 ±	2,45 ±	1,58 ±	32,68 ±	2,92 ±	2 5 4
SAC OU C	1,12	0,19	0,25	3,66	0,26	2,54
SAC 75°C	12,24 ±	1,99 ±	0,93 ±	24,39 ±	2,21 ±	3,26
SAC 75°C	0,70	0,07	0,33	7,23	0,19	3,20

Los valores de luminosidad, a* y b* de fruta fresca de mora cuantificados en el presente estudio están en el orden de los publicados por otros autores (Özgen 2009, Ercisli y Orhan, 2007). El Hue se encuentra en el primer cuadrante del círculo cromático, en la región de los rojos. El valor del parámetro croma resultó extremadamente bajo, indicando que los colores son poco saturados y oscuros, ubicándose en la zona donde predominan los grises/negros como señalan los valores de L^* . El proceso de secado no generó cambios drásticos en el color de las frutas de mora. Estos cambios se ven favorecidos con el incremento de la temperatura del proceso, siendo el secado a 75°C el proceso que más cambios de coloración produjo sobre la fruta, como lo indican los resultados de ΔE .

CONCLUSIONES

Estos estudios preliminares permitieron caracterizar a las moras de nuestra región y estudiar el proceso de secado como medio de conservación, siendo de suma importancia para generar nuevas alternativas en la producción de alimentos regionales.

Se analizó la cinética de secado de moras a tres temperaturas y se describió matemáticamente el proceso a través del modelo difusional de Fick y del modelo empírico de Page. El modelo que predice mejor lapérdida de humedad en función del tiempo es el modelo de Page para las tres temperaturas ensayadas. El modelo de Fick describe satisfactoriamente el proceso de secado de moras para las temperaturas de 45 y 60°C.

Evaluando la bondad de los ajustes, se concluye que para el secado a 45°C (bajas temperaturas) los dos modelos demostraron un buen ajuste a los datos experimentales. Sin embargo no es adecuado el uso del modelo difusional para 75°C, presentando un error de la estimación muy alto, esto podría deberse a cambios estructurales en el tejido, puesto que a simple vista se observa disgregación de las drupas y marcada reducción del volumen. Los valores de difusividad de moras (*Morus nigra*) fueron de 1,9x10⁻¹¹ m²/s, 1x10⁻¹⁰ m²/s y 8x10⁻¹⁰ m²/s para 45, 60 y 75°C respectivamente.

En la etapa siguiente de este estudio se pretende incorporar la variación del volumen como una función del contenido de agua para describir con mayor precisión la cinética del secado de moras.

BIBLIOGRAFÍA

Akpinar EK. 2005. Determination of suitable thin layer drying curve model for some vegetables and fruits. Journal of Food Engineering.73: 75-84.

Ceylan İ, Aktas M, Dogan H. 2007. Mathematical modeling of drying characteristics of tropical fruits. Applied Thermal Engineering, 27: 1931-1936.

Crank J. 1975. The mathematics of diffusion. 2^a Ed. Londres. Oxford University Press. ISBN 0198533446

Doymaz İ y Pala M. 2003. Effect of ethyl oleate on drying characteristics of mulberries. Molecular Nutrition & Food Research, 47: 304-308.

Doymaz İ. 2004a. Drying kinetics of white mulberry. Journal of Food Engineering, 61: 341–346.

Doymaz İ. 2004b. Pretreatment effect on sun drying of mulberry fruits (*Morus alba L.*). Journal of Food Engineering, 65: 205–209.

Doymaz İ. 2006. Drying kinetics of black grapes treated with different solutions. Journal of Food Engineering 76, 212–217

Doymaz İ. 2007. Air-drying characteristics of tomatoes. Journal of Food Engineering, 78: 1291–1297

Ercisli S y Orhan E. 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. Food Chemistry, 103: 1380–1384.

Ercisli S y Orhan E. 2008. Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra L.*) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. Scientia Horticulturae, 116: 41–46 Gundogdu M., Muradoglu F, Gazioglu Sensoy RI, Yilmaz H. 2011. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra L.*,

Morus alba L. and *Morus rubra L.* by HPLC. Scientia Horticulturae, 132: 37–41.

Kaymak-Ertekin F. 2002. Drying and rehydration kinetics of green and red peppers. Journal of Food Science, 67: 168-175.

Maskan M y Göğüş F. 1998. Sorption isotherms and drying characteristics of mulberry (*Morus alba*). Journal of Food Engineering, 37: 437-449.

Özgen M, Serçe S y Kaya C. 2009. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. Scientia Horticulturae, 119: 275–279.

Page GE. 1949. Factors influencing the maximum rates of air drying shelled corn in thin layer. Tesis de Master. Universidad de Purdue, Lafayette, IN, USA.

Sánchez-Salcedo EM, Hernández F, Martínez JJ. 2013. Caracterización preliminar de los frutos de ocho clones de *Morus sp.* En VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas, Madrid. *Libro de actas.* ISBN- 84-695-9055-3

Simal S, Femenia A, Garau MC y Rosselló C. 2005. Use of exponential, Page's and diffusional models to simulate the drying kinetics of kiwi fruit. Journal of Food Engineering, 66: 323–328.

Formulación y caracterización de una película comestible en base a lactosuero y fructooligosacáridos.

Figueredo A¹, Maldonado S.¹, Bertuzzi M. A.²

¹Ingeniería para el Desarrollo de la Agroindustria Regional (IDeAR). Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos (CITA) Facultad de Ingeniería.Universidad Nacional de Jujuy.
²Instituto de Investigaciones para la Ingeniería Química (INIQUI-CONICET) Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Salta smaldonado@fi.unju.edu.ar; bertuzzi@unsa.edu.ar

Resumen: El suero lácteo obtenido como remanente de la elaboración de guesosse considera un desecho altamente contaminante por lo queel objetivo de este trabajo fue formular una película comestible en base a lactosuero, para su potencial uso como envase o recubrimiento de alimentos. La película se formuló usando un aislado de proteína de suero de leche (APS)induciendo la desnaturalizaciónde las proteínas por calentamiento. Como plastificante se agregó glicerol en diferentes proporciones: 20, 30, 40 y 50% p/p. Se evaluó además el efecto del agregado de fructooligosacáridos (FOS) en proporciones del 1, 2, 3 y 4% p/p. Se determinó: solubilidad, opacidad y permeabilidad al vapor de agua de las distintas formulaciones ensavadas. Los resultados obtenidos para solubilidad y permeabilidad al vapor de agua, para las muestras con 1, 2, 3 y 4% de FOS fueron: 10,4±0,3; 11,3±0,2; 12,1±0,6 y $13,5\pm0,9$ g/100g; 7,56E-11; 7,45E-11; 6,80E-11 y 7,64E-11 gm⁻¹s⁻¹ ¹Pa⁻¹, respectivamente, mientras que la opacidad fue de 0.08 ± 0.01 ; 0.09 ± 0.01 ; 0.12 ± 0.01 ; 0.33 ± 0.03 A/ η m, para las mismas concentraciones de FOS. La solubilidad y la opacidad aumentaron con la incorporación de FOS en la formulación, mientras que la permeabilidad al vapor de agua no mostró diferencias significativas entre las diferentes muestras con contenido creciente de FOS

Palabras clave: películas comestibles, FOS, permeabilidad al vapor de agua, transparencia.

Abstract: The whey is obtained as a remnant of cheese manufacture and is considered a highly polluting waste, so the aim of this work was to develop an edible film based on whey proteins for potential uses as food packaging or coatings. Film forming solution was prepared by inducing protein denaturation by heating. Whey protein isolate (APS) was used as film matrix and glycerol was added as plasticizer in different concentrations: 20, 30, 40 and 50%w/w. The effect of fructooligosaccharides (FOS) incorporation in proportions of 1, 2, 3 and 4% w/w on film properties was evaluated. Solubility, opacity and water vapor permeability, for the different formulations were determined. Solubility of film samples with 1, 2, 3 and 4% FOS were: $10.4 \pm$ 0.3; 11.3 \pm 0.2; 12.1 \pm 0.6; 13.5 \pm 0.9 g/100 g; water vapor permeability values: 7.56E-11; 7.45E-11; 6.80E-11 7.64E-11 g m ¹s⁻¹Pa⁻1, and Opacity values: 0.08; 0.09; 0.12; 0.33 A/nm, respectively. Both, solubility and opacity, increased whit FOS concentration, while water vapor permeability values does not show significant differences between the different samples with increasing FOS content.

Keywords: edible films, FOS, water vapor permeability, transparency.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han desarrollado una gran variedad de películas comestibles en base a biopolímeros como polisacáridos, proteínas y/o lípidos. Estas podrían llegar a sustituir a los polímeros sintéticos en algunos casos, colaborando así con el cuidado del medio ambiente y reduciendo los desechos que en la actualidad son causa importante de contaminación.Podrían por ejemplo utilizarse en envases multicapa proporcionando oportunidades para el desarrollo de productos novedosos (Kurek et al., 2014, Debeaufort et al., 1998).

Las películas biodegradables y comestibles pueden complementar el valor nutritivo de los alimentos, mejorar las propiedades organolépticas de los alimentos envasados y transportar agentes microbianos y antioxidantes. Además deben ser capaces de regular la migración de agua, oxígeno, dióxido de carbono, lípidos y compuestos volátiles asociados al aroma y sabor, ya sea con el entorno o entre componentes de productos alimenticios heterogéneos (Sanchez-Gonzalez et al., 2009). Las propiedades de cada película dependerán del tipo de material utilizado así como del proceso y las condiciones empleadas para su elaboración, que a su vez determinarán sus aplicaciones (Krochta & De Mulder-Johnston, 1997; Rao et al., 2010).

El suero de leche es un subproducto de la elaboración del queso y contiene una mezcla de proteínas globulares. Se considera un biopolímero formador de película con interesantes propiedadesmecánicas (Kurek et al., 2014; Kokoszka et al., 2010; Foegeding et al., 2002). El suero lácteo contiene no sólo las proteínas solubles de la leche y azúcares, sino también

metabolitos microbianos producidos durante el proceso de fermentación que presentan capacidad inmunomoduladora (Vinderola, 2008) lo que brindaría una funcionalidad probiótica adicional a la película.

Las proteínas de suero lácteo (PSL) se pueden encontrar como concentrado de proteína de suero (CPS 25-80 g de proteína / 100 g) y aislado proteína de suero (APS > 90 g proteína / 100 g) (Gennadios, 2002). Las películas de APSson transparentes, incoloras, insípidas, inodoras, termosellables, son una buena barrera al oxígeno y tienen buenas propiedades de tracción en ciertas condiciones de humedad relativa media (McHugh & Krochta, 1994). Por otra parte los aislados de proteína de suero (APS) representan la forma más pura de tales proteínas de suero de leche (Mulvihill & Ennis, 2003) y sus propiedades son comparables a las de las mejores películas en base a polímeros sintéticos disponibles, como por ejemplo polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno de alta densidad, alcohol vinílico, cloruro de polivinilideno (PVDC), celofán y poliéster (Ramos et al., 2012; Khwaldia et al., 2004; Pérez-Gago y Krochta, 2002).

Se han desarrollado diversos materiales de embalaje con biocomponentes comestibles para aplicaciones específicas. Gran parte de las películas de biopolímeros tienen buenas propiedades mecánicas o buenas propiedades físicas pero no ambas (Leuangsukrerk et al., 2014). Muchas sustancias se han incorporado a las películas con el objeto de complementar sus propiedades de barrera, añadir funcionalidad, etc. Janjarasskul et al. (2014)incorporaron de candelilla cera (Euphorbiaantisyphilitica) a películas de proteína de suero evaluando su efecto sobre las propiedades de barrera; donde obtuvieron como resultado una disminución considerable sobre

la permeabilidad al vapor de agua con el agregado de esta cera, mientras que la permeabilidad al oxígeno disminuye en menor proporción. Leuangsukrerk et al. (2014) evaluaron el efecto de la incorporación de galactomananos, sobre las propiedades de solubilidad y permeabilidad al vapor de agua de películas de proteína de suero; aunque no obtuvieron efectos significativos sobre la permeabilidad al vapor de agua, mientras aumenta la solubilidad en agua y opacidad de la película. Oses et al., 2009 también estudiaron el efecto del agregado de goma mezquit sobre películas de suero de leche observando que esta goma no afecta de forma significativa las propiedades de barrera al vapor de agua.

Uno de los componentes que pueden incorporarse en la formulación de películas, por su gran interés para la zona, son los fructooligosacáridos o simplemente FOS. Estos hidratos de carbono están presentes en el yacón (*Smallanthussonchifolius*), tubérculo andino de arraigue ancestral que ha retomado auge en los últimos años justamente por su composición en FOS, asociada a potencialidades de consumo por parte de poblaciones con requerimientos específicos y a la posibilidad de extraerlos con relativamente baja dificultad. Los FOS son polímeros de fructosa con un grado de polimerización de entre 3 y 10 fructanos (Ojansivu et al., 2011; Graefe et al., 2004). Son compuestos solubles de sabor dulce, con propiedades prebióticas y que además pueden utilizarse como sustituto del azúcar común de mesa, ya que poseen aproximadamente el 30% de dulzor del azúcar (Coussement, 1999; Niness, 1999).

La utilización de FOS en la formulación de películas produciría interacciones con las proteínas que podrían mejorar las propiedades funcionales de la matriz biopolimérica y su

capacidad prebiótica. Castro et al. (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 prebiótica. Sin embargo es necesario tener en cuenta que dado el comportamiento de fibra dietaria que presentan los FOS en el tracto digestivo, se requiere conocer el límite máximo tolerado para su inclusión en la formulación de películas. Con respecto esto se encontró que un consumo mayor a 0,14g/kg de peso corporal/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).

Teniendo en cuento lo antes planteado en este trabajo se propone formular una película en base a aislado de suero lácteo, evaluando el efecto del agregado de FOS en sus propiedades de solubilidad, opacidad y permeabilidad al vapor de agua.

Materiales y métodos

Se usó un aislado de suero de leche bovina provisto por la marca Provon de Glanbia Nutrionals (>90% de proteínas). Se usó glicerol de grado analítico al 87% marca Anedra. Los FOS (93,2% de pureza) fueron provistos por Orafti de Beneo.

Preparación del film

La película se formuló usando aislado de suero de leche al 10% p/p en agua destilada. Se agitó durante una 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 diferentes proporciones: 20, 30, 40 y 50 % p/p, en relación al peso de suero utilizado. Se prepararon formulaciones con 1, 2, 3 y 4 % p/p de FOS con 40% de glicerol. Se colocaron 15 ml de cada solución filmogénica en cajas de Petri previamente acondicionadas y se dejaron secar en estufa a 40°C.

Humedad

El contenido de humedad inicial de las muestras de película se determinó en estufa de vacío a 65 ± 1 °C, según el método AOAC (16th) 44.01.03.

Medida del espesor del film

El espesor del film fue medido con un espesímetro manual (Schwyz), con una resolución de 1 µm. El espesor se expresó como el promedio de 5 medidas tomadas aleatoriamente, en films acondicionados previamente durante 48 hs a 25°C y 52% de humedad relativa, mediante una solución sobresaturada de Mg(NO3)₂. Luego del acondicionamiento se cortaron círculos de diámetro acorde a la celda de permeación.

Solubilidad

Se cortaron muestras de película de peso similar y se secaron en estufa de vacío a 65 $\pm 1^{\circ}$ C hasta peso constante y se mantuvieron en desecador con CaCl₂ hasta realizar el ensayo. La solubilidad en agua se determinó como el porcentaje de materiaseca de la película, solubilizada después de 24 horas de inmersión enagua (Gontard et al., 1994). Las muestras sepesaron y se colocaron en un vaso de precipitado con 50 ml de agua. Se llevaron a un baño termostático con agitación constante a 20 °C y 62 rpm (Vicking modelo orbital). Se escurrieron y se secaron en una estufa de vacío a 65 $\pm 1^{\circ}$ C, para determinar la materia seca no soluble en agua (Escobaret al., 2012). El resultado seexpresó como porcentaje de la materia seca inicial. Los ensayos se realizaron por triplicado.

$$\%Solubilidad = \frac{peso\ inicial\ de\ la\ película\ b.s.}{peso\ final\ de\ la\ película\ b.s.} \times 100 \qquad (1)$$

Opacidad aparente

Muestras de película se acondicionaron a una HR=53% y T=25°C durante 48 hs y se cortaron en rectángulos de tal manera que pudieran ubicarse en el lado interno de una celda de cuarzo. La opacidad se determinó de acuerdo al método descripto por Gontard et al. (1992) y las recomendaciones de la ASTM D 1003 (ASTM, 2011). Se registró el espectro de absorbancia entre 400 y

800 ηm usando un espectrofotómetro UV Biotraza Modelo 752. Según la metodología utilizada la opacidad del film queda definida por el área bajo la curva registrada y se expresa como Absorbancia por nanómetro (A ηm). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Permeabilidad al vapor de agua:

Se determinó la permeabilidad al vapor de agua (PVA) siguiendo el método ASTM E96 "Standard test methodsforwater vapor transmission of materials", en un ambiente con T y HR controladas. Se determinó el flujo de vapor de agua a través de la película una vez alcanzado el estado estacionario en las condiciones de ensayo (Bertuzzi et al., 2007). Para este ensayo se construyó una celda de permeación teniendo en cuenta las recomendaciones de ASTM E96.

Muestras de película se acondicionaron durante 48 hs en un desecador a 25°C y 52% de humedad relativa, mediante una solución sobresaturada de Mg (NO3)₂. Las películas se colocaronen las celdas de permeación con agua destilada. A su vez las celdas se ubicaron en un desecador mantenido a temperatura y humedad relativacontrolada (sílica gel). Se utilizóun ventilador para mantener condiciones uniformes. Se tomó el peso de las películas en función del tiempo, calculándose la pérdida de peso. Se representaron los datos obtenidos para cada tiempo, ajustándose a una regresión lineal, a partir de la cual se determinó la pendiente (G). La PVA se calculó a partir de la siguiente expresión:

$$PVA = \frac{G * x}{A * \Delta p}$$

Donde:

x: espesor de la película; A: el área de la película expuestay Δp es la diferencia de presión parcial de vapor de agua a través de la película.

Este método utiliza la primera ley de Fick y la ley de Henry para calcular PVA de la película que se calcula con el supuesto que la solubilidad y difusividad de la películason constantes. Los valores de PVA medidosse corrigieron para la distancia de aire entre el nivel de aguay la posición de la película de acuerdo con procedimientos descritos enGennadios et al. (1994)

Análisis estadístico

Los datos experimentales se analizaron con Software GraphPadPrism.

Para discernir entre las medias se utilizará 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

El aislado de suero de leche utilizado fue apto para la formulación de las películas deseadas. En cuanto a la proporción de glicerol, se encontró que las películas con una proporción del 20 y 30% de glicerol fueron muy quebradizas, incluso al tacto por lo que se descartaron. Las películas con 40 y 50% de glicerol

tuvieron mejores propiedades físicas y buenas características generales, evaluadas sensorialmente. Por esto se consideró para los ensayos posteriores las películas con un contenido de glicerol del 40%, teniendo en cuenta el uso de una menor cantidad de plastificante, con miras a posibles aplicaciones industriales.





(a) (b)

Fig. 1Películas de proteína de suero con 20%(a) y 40% (b) de glicerol

Humedad y Solubilidad de las películas

Las películas en base a APS y FOS presentaron humedades similares cuando se aumentó la concentración entre FOS de 1 a 4%.

Tabla 1. Humedad, solubilidad y opacidad de películas en base a APS y FOS. Medias con letras iguales norepresentan diferencias significativas(p<0,05).

% FOS	Hum g/100g	Solubilidad g/100g	Opacidad A/ηm
1	14,29±024 ^a	10,4±0,3 ^a	0,08±0,01 ^a
2	14,71±0,38 ^a	11,3±0,2 ^{ab}	0,09±0,01 ^{ab}
3	14,88±0,66ª	12,1±0,6 ^b	0,12±0,01 ^b
4	14,81±0,11 ^a	13,5±0,9 ^c	0,33±0,03°

Solubilidad. Se observa que la solubilidad no se modifica por aumentos en la concentración de FOS sino a partir del 3%, obteniéndose una película de mayor solubilidad. Esto podría deberse a que el efecto plastificante de los FOS disminuye las interacciones proteína- proteína lo que hace a la película más soluble en agua, en acuerdo a lo expresado por De Castro et al. (2009) v Barreto et al. (2003). Sin embargo es importante destacar que todas las películas presentaron baja solubilidad en relación a otros hidrocoloides como el almidón cuya solubilidad es superior al 30%y mantienen su integridad durante la inmersión en agua bajo agitación y a temperatura constante de 25°C(Sothornvit y Krochta, 2000). Esta situación es un indicio de que la red de proteína formada fue altamente estable. Estos resultados, entre otros, permiten evaluar las posibilidades de uso de la película ya que para recubrimientos de alimentos con alto contenido de humedad son necesarias películasinsolubles tal como lo reporta Soazo et al., 2011.

Opacidad aparente: Los valores de opacidad fueron 0,08±0,01; 0,09±0,01; 0,12±0,01; 0,33±0,03 A/ηm, para las películas formuladas con 1, 2,3 y 4% de FOS, respectivamente.

Según se puede observar en la Tabla 1 el comportamiento es **Tabla 2.** PVA obtenidas para películas de aislado de proteína de similar al encontrado para la solubilidad, dado que sólo se manifiesta aumento significativo de la opacidad cuando la concentración de FOS es superior al 3%.

Para películas formuladas sólo con de APS los valores de opacidad reportados son menoresque la de las películas formuladas en base polisacáridos (metilcelulosa. а hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio) o mezclas de proteínas con polisacáridos (Yoo y Krochta, 2011) los que fundamentan sus resultados debido a un cierto grado de incompatibilidad entre la proteína de suero yestos polisacáridos, lo que da como resultado películas con estructura más heterogénea. En el caso de geles de goma gellano, el agregado de FOS resultó en la disminución de la opacidad, lo que se atribuyó a la interferencia de estas moléculas pequeñas en la intrincada red de gellano (Evageliuo et al., 2010).No se han encontrado estudios referidos al agregado de FOS en películas comestibles.

Permeabilidad al vapor de aqua:Los valores PVA de las películas se presentan en la Tabla 2.

suero v FOS.

%FOS	Espesor(mm)	PVA(g/msPa)
1	26,5±1,2	7,56E-11±8,75E-12 ^a
2	30,8±1,5	7,45E-11±1,37E-12 ^a
3	31,6±1,9	6,80E-11±9,49E-12 ^a
4	34,6±0,7	7,65E 11±1,43E-12³

Los valores obtenidos para la PVA de las películas ensayadas son estadísticamente similares, por lo que podría decirse que la variación de la concentración de FOS, en el rango estudiado, no tuvo efecto sobre las propiedades de barrera al vapor de agua de las películas. Este comportamiento podría atribuirse a que la cantidad de FOS añadida es baja, existe buena compatibilidad entre las proteínas y los FOS y estos últimos quedan dispersos de forma homogénea en los films, con lo que no confieren una mayor tortuosidad a las moléculas de agua conforme aumenta la concentración de FOS.

Al comparar los valores de PVA, se puede decir que son mucho menores a los reportados por otros autorespara films de APS, al respecto Zinoviadou et al. (2010) reportaron valores de PVA de 2,38E-09gm/sPa usando en la formulación de la película un 37,5% de sorbitol, valores que están en el mismo orden de los reportado para películas de APS plastificadas con un 50% de glicerol 1,14E-09g m /s Pa (Wang et al., 2008)

CONCLUSIONES

La solubilidad solo aumentó en forma significativa cuando la concentración de FOS de superó el 3%

La opacidad siguió el mismo comportamiento solo aumentó en forma significativa cuando se superó el 3% en la concentración de FOS.

La concentración de FOS (de 1 a 4%) no tuvo efectos significativos sobre la PVA.

BIBLIOGRAFÍA

ASTM International, 2011.Standard Test Method for Measurement of Fatigue Crack Growth Rates.ASTM International. Barreto P L M, Roeder J, Crespo J S, Maciel G R, Terenzi H, Pires A T N and Soldi V (2003) Effect of concentration,temperature and plasticizer content on rheological properties of sodium caseinate and sodium caseinate/sorbitol solutions and glass transition of their films. FoodChemistry 82 425–431.

Bertuzzi, M. A., Castro Vidaurre, E. F., Armada, M., y Gottifredi, J. C. 2007.Water vapor permeability of edible starch based films.Journal of food engineering,80(3), 972-978.

De Castro, F. P., Cunha, T. M., Barreto, P. L., Amboni, R. D. D., & Prudencio, E. S. (2009). Effect of oligofructose incorporation on the properties of fermented probiotic lactic beverages. International Journal of DairyTechnology,62(1), 68-74.

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.

Coussement, P., 1999. Inulin y oligofructose: Safe intakes and legal status. Journal of Nutrition 129: 1412S-1417S.

De Souza, H. K., Bai, G., Gonçalves, M. D. P., y Bastos, M., 2009. Whey protein isolate—chitosan interactions: A calorimetric and spectroscopy study. Thermochimica Acta, 495(1), 108-114.

Debeaufort, F., Quezada-Galo, J. A., y Voilley, A., 1998. Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 38, 299–313.

Escobar Gianni, D. V., Sala, A., Silvera, C., Harispe, R., y Marquez Romero, R., 2012. Vida útil de tapas de empanadas con películas biodegradables como separadores.Innotec, (7), 21-24.

Evageliou, V., Tseliou, G., Mandala, I., and Komaitis, M., 2010.Effect of inulin on texture and clarity of gellangels. Journal of food engineering, 101(4), 381-385.

Foegeding, E. A., Davis, J. P., Doucet, D., and McGuffey, M. K., 2002. Advances in modifying understanding whey protein functionality. Trends in Food Science & Technology, 13, 151–159.

Gennadios, A., 2002. Protein-based films and coatings. United States of America:CRC Press.

Gennadios, A., Weller, C. L., y Gooding, C. H., 1994. Measurementerrors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilicedible films. Journal of Food Engineering, 21, 395–409.

Genta, S., Cabrera, W., Habib, N., Pons, J., Manrique Carillo, I., Grau, A., 2009. Yacon syrup: beneficial effects on obesityand insulin resistance in humans. Clinical Nutrition, 28, 182e187.

Gontard N., Guilbert S., Cuq Jean-Louis, 1992. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. Journal of Food Science 57(1): 190-191.

Graefe, S., Hermann, M., Manrique, I., Golombek, S., y Buerkert, A., 2004. Effects of post-harvest treatments on the carbohydratecomposition of yacon roots in the Peruvian Andes.FieldCropsResearch, 86, 157e165.

Janjarassku T., Rauch D. J., McCarthy K. L., Krochta J. M., 2014. Barrier and tensile properties of whey protein candelillawaxfilm/sheetLWT - Food Science and Technology 56 377e382

Khwaldia, K., Perez, C., Banon, S., Desobry, S., y Hardy, J., 2004. Milk proteins for ediblefilms and coatings. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44, 239–251.

Kokoszka, S., Debeaufort, F., Lenart, A., y Voilley, A., 2010. Water vapor permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. International Dairy Journal, 20, 53–60.

Krochta, J. M., and De Mulder-Johnston, C., 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenge and opportunities. Food Technology, 51, 61–74.

Kurek, M., Galus, S., y Debeaufort, F., 2014. Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and whey protein. Food Packaging and Shelf Life,1(1), 56-67.

Leuangsukrerk, M., Phupoksakul, T., Tananuwong, K., Borompichaichartkul, C., y Janjarasskul, T., 2014. Properties of konjacglucomannan—whey protein isolate blend films. LWT-Food Science and Technology.

McHugh, T. H., y Krochta, J. M., 1994. Sorbitol- vs glycerol-plasticized whey proteinedible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42(4), 841-845.

Mulvihill, D. M.,y Ennis, M. P., 2003. Functional milk proteins: Production and utilisation. In P. F. Fox, and P. L. H. McSweeney (Eds.), Advanced Dairy Chemistry. Part B, 1.(pp. 1128–1176) New York NY, USA: Kluwer.

Niness, K. Inulin and oligofructoseWhat are they?1999J. Nutr,129, 1402-1406.

Ojansivu, I., Ferreira, C. L., and Salminen, S., 2011. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. Trends in Food Science and Technology, 22(1), 40-46.

Osés, J., Fabregat-Vázquez, M., Pedroza-Islas, R., Tomás, S. A., Cruz-Orea, A., and Maté, J. I., 2009. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum.Journal of Food Engineering,92(1), 56-62.

Perez-Gago, M. B., y Krochta, J. M., 2002.Formation and properties of whey protein films and coatings.In A. Gennadios (Ed.), Protein-based Films and Coatings(pp. 159–180).Boca Raton FL, USA: CRC Press

Ramos, Ó. L., Silva, S. I., Soares, J. C., Fernandes, J. C., Poças, M. F., Pintado, M. E., y Malcata, F. X., 2012. Features and performance of edible films, obtained from whey protein isolate formulated with antimicrobial compounds. Food Research International, 45(1), 351-361.

Rao, M. S., Kanatt, S. R., Chawla, S. P., y Sharma, A., 2010. Chitosan and guar gum composite films: Preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties. Carbohydrate polymers, 81, 1243–1247

Sanchez-Gonzalez, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., y Cháfer, M., 2009.Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. Food Hydrocolloids, 23, 2102–2109.

Soazo, M., Rubiolo, A. C., and Verdini, R. A., 2011. Effect of drying temperature and beeswax content on physical properties of whey protein emulsion films. Food Hydrocolloids, 25(5), 1251-1255.

Sothornvit, R., and Krochta, J. M., 2000.Plasticizer effect on oxygen permeability of β -lactoglobulinfilms.Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(12), 6298-6302.

Vinderola G., 2008. Dried cell-free fraction of fermented milks: new functional additives for the food industry. Trends in Food Science & Technology 19: 40-46.

Wang, L., Liu, L., Holmes, J., Huang, J., Kerry, J. F., and Kerry, J. P., 2008. Effect of pH and addition of corn oil on the properties of whey protein isolate-based films using response surface methodology.International journal of food science and technology,43(5), 787-796.

Yoo, S., and Krochta, J. M., 2011. Whey protein polysaccharide blended edible filmformation and barrier, tensile, thermal and transparency properties. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91(14), 2628e2636.

Zinoviadou, K. G., Koutsoumanis, K. P., y Biliaderis, C. G., 2010. Physical and thermo-mechanical properties of whey protein isolate films containing antimicrobials, and their effect against spoilage flora of fresh beef.Food Hydrocolloids, 24(1), 49-59.

EFECTIVIDAD DEL ÁCIDO CÍTRICO COMO REEMPLAZANTE DEL HIPOCLORITO DE SODIO EN EL LAVADO DE HOJAS DE ESPINACA (SPINACIA OLERACEA L.)

<u>Finten G.</u>^{(1) (2),} Finten F.⁽³⁾, Agüero M.V.^{(1) (2)}, Jagus R.J.⁽¹⁾

- (1) Laboratorio de Microbiología Industrial: Tecnología de Alimentos (FIUBA) -C.A.B.A. (Argentina).
- (2) CONICET –C.A.B.A. (Argentina).
- (3) UNICEN –Tandil (Argentina). fintengabriel@hotmail.com

Resumen

En el presente estudio se evaluó ácido cítrico (AC) a distintas concentraciones como posible reemplazante del hipoclorito de sodio (HCS) en el lavado y desinfección de hojas de espinaca mínimamente procesadas. Para ello se realizó un lavado por inmersión con agitación (5 min) utilizando: agua destilada (A), HCS 200 ppm (AH), AC 0,5% (AC1), AC 1,0% (AC2) y AC 2,0 % (AC3). La materia prima lavada fue envasada y almacenada en condiciones de refrigeración (5±2°C; 8 d). Durante el almacenamiento se evaluó la calidad microbiológica a través de los siguientes indicadores: bacterias aerobias mesófilas. bacterias psicrótrofas y mohos y levaduras. Adicionalmente, se evaluó calidad organoléptica: color, textura, defectos, aroma a fresco y calidad visual global. Los resultados obtenidos demostraron que el lavado con agua destilada no mejoró la calidad microbiológica de la espinaca fresca. Por otro lado, el tratamiento más efectivo en reducir la carga microbiana fue AC3, sin embargo, impactó negativamente en la textura del tejido. El ácido cítrico 0,5 % p/v podría ser un excelente reemplazante del hipoclorito de sodio ya que permite obtener un producto con menores recuentos de bacterias y bajos recuentos de mohos y levaduras, sin comprometer la calidad organoléptica de las hojas de espinaca.

Palabras claves: espinaca (*Spinacia oleracea* L.), desinfección, mínimamente procesados, sanitizantes, ácido cítrico.

Abstract

Effectiveness of citric acid (CA) on the reduction of target microorganisms (mesophilic bacteria, psychotropic psychrotropic bacteria, and moulds & yeasts), was evaluated, as a natural sanitizer replacement for chlorinated water (CW) in the disinfection step of minimally processedleafy vegetables. Additionally, organoleptic quality was assessed by a sensory panel through colour, texture, imperfections, fresh odour and overall visual quality. Raw material was washed, centrifuged, bagged and stored for 8 days at 5±2°C. The disinfection treatments were the following: distilled water (A), CW 200 ppm (AH), CA 0,5% (AC1), CA 1,0% (AC2) y CA 2,0 % (AC3). The outcomes showed that distilled water (A) didn't reduce the microbial load of the leaves. On the other hand, the best treatment in terms of microbial inactivation was AC3 but it reduced the organoleptic quality of spinach leaves. Citric acid 0,5% w/v solution was an effective replacement for CW according to the microbial reduction achieved and it didn't affect spinach's organoleptic quality.

Keywords: spinach (*Spinacia oleracea* L.), disinfection, minimally processed, sanitizer, citric acid.

INTRODUCCIÓN

Las hortalizas de hoja frescas son consideradas parte de una dieta saludable, sin embargo, a ellas se asocian un gran número de casos de enfermedades de transmisión por alimentos, ETA's (Lee y Baek 2008, Huang y Chen 2011, Neal et al. 2012, Goodburn y Wallace 2013). Para proveer hortalizas de hoja mínimamente procesadas inocuas es necesario garantizar una buena reducción de la carga microbiana (patógenos y microflora normal) en la etapa de desinfección y lavado, siendo el hipoclorito de sodio (HCS) el producto habitualmente utilizado (Lee y Baek 2008, Allende et al. 2008, Huang y Chen 2011, Rahman et al. 2011, Neal et al. 2012, Goodburn y Wallace 2013). Su empleo como sanitizante de hortalizas está siendo cuestionado debido a que se le atribuye la formación de compuestos carcinógenos y su efectividad depende de diversos factores tales cómo carga orgánica, pH de la solución y dureza del agua (Neal et al. 2012, Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas 2013). Además, las reducciones de carga microbiana logradas en el proceso de desinfección con HCS no son superiores a 2 ciclos log (Lee y Baek 2008, Huang y Chen 2011, Goodburn y Wallace 2013). En los últimos años, se han propuesto numerosas alternativas para reemplazar este producto por otros más naturales y atractivos para los consumidores (Allende et al. 2008, Huang y Chen 2011, Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas 2013).

Entre las sustancias químicas naturales propuestas se encuentran los ácidos orgánicos como el ácido cítrico, los cuales actúan reduciendo la carga microbiana mediante diversos mecanismos: reduciendo el pH de la matriz alimentaria; afectando el sistema de transporte de la membrana celular de los microorganismos y su permeabilidad; acumulando iones tóxicos; reduciendo el pH intercelular e impidiendo de esa manera una normal homeostasis en los microorganismos (Huang y Chen 2011, Sagong *et al.* 2011, Neal *et al.* 2012, Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas 2013). El ácido cítrico, además de ser un compuesto GRAS (Generally Recognized As Safe) actúa en un amplio rango de temperaturas y no es afectado por la dureza del agua; sin embargo, como desventaja de su aplicación se puede mencionar su alto costo y corrosividad (Sagong *et al.* 2011).

El presente trabajo tiene por objetivo evaluar al ácido cítrico a distintas concentraciones como reemplazante natural del HCS empleado tradicionalmente en el lavado y desinfección de hortalizas de hoja mínimamente procesadas. Para ello se evaluará, por un lado la reducción lograda en grupos específicos de microorganismos y su evolución en el almacenamiento refrigerado, y por otro lado, la calidad organoléptica de las hojas de espinaca frescas.

Materiales y Métodos

Muestras de espinaca

La materia prima (MP), hojas de espinaca (*Spinacia oleracea* L.) proveniente de un productor de La Plata provincia de Buenos Aires (Argentina), fue cosechada en febrero de 2014 y trasladada al laboratorio en forma refrigerada para su posterior procesamiento.

Procesamiento de la materia prima

En una primera etapa se eliminaron tallos excesivamente largos y se retiró materia extraña presente proveniente del campo.

Luego se procedió al lavado y desinfección por inmersión en una sola etapa con agitación suave durante 5 min a 25±2°C, relación MP/volumen de la solución 1:20 (Sagong *et al.* 2011). La MP fue dividida en 6 lotes de 500 g cada uno, para ser sometidos a distintos tratamientos y un lote control (sin someterlo al lavado y desinfección). Luego se centrifugó la MP en centrifuga doméstica durante 30 s. Para finalizar el procesado las hojas de espinaca fueron envasadas en unidades de 20 g y almacenadas a temperaturas de refrigeración (5±2°C) durante 8 días. El material de empaque fue poliolefina (PD960, Cryovac®, Argentina) con una permeabilidad de 6000-8000 y 19000-22000 cm³.m⁻².24h⁻¹ a O₂ y CO₂, respectivamente; y una permeabilidad al vapor de agua de 5-6 g.cm².24h⁻¹.

Los tratamientos de lavado y desinfección por inmersión fueron con:

- -Agua destilada (A).
- -Solución de Hipoclorito de Sodio (HCS) 200 ppm (agua lavandina concentrada 55 g Cl/L, Ayudín[®], Argentina). La concentración de cloro total y cloro libre fue controlada con "Chlorine Test Papers" y "Free Chlorine High Range Test Strips" (LaMotte[®], USA) (AH).
- -Soluciones de ácido cítrico (ácido cítrico anhidro, Anedra[®], Argentina) al 0,5% p/v (AC1), 1,0% p/v (AC2) y 2,0% p/v (AC3).

Análisis microbiológico

La calidad microbiológica fue evaluada en tres muestras independientes a través de los siguientes grupos microbianos: Bacterias Aerobias Mesofilas (BAM), Bacterias Psicrótrofas (BP) y Mohos y Levaduras (M&L). Para ello se siguió la metodología descripta por Agüero *et al.* (2011), se pesó 10 g de MP en una bolsa plástica estéril y se le añadió 90 mL de agua peptonada estéril (0,1%), luego se homogeneizó durante 2 minutos

utilizando un homogenizador "Bag Mixer" (Intersciences Laboratories Inc., Estados Unidos). Se realizaron diluciones en serie con agua peptonada estéril (0,1%) y se sembraron en placas de Petri con los siguientes medios para el desarrollo de microorganismos: PCA (Plate Count Agar, Biokar Diagnostic, Francia) para BAM y PB, e YGC (Yeast extract Glucose Chloramphenicol agar, Biokar Diagnostic, Francia) para M&L. Para realizar el recuento de microorganismos viables los medios se incubaron a 37°C-24 h, 5°C-5 d y 28°C-48 h, respectivamente

Análisis de calidad organoléptica

para BAM, PB y M&L.

La calidad organoléptica fue evaluada por un panel semientrenado de 5 miembros a través de los siguientes atributos sensoriales: color, textura, defectos, aroma a fresco y calidad visual global (OVQ). Para la evaluación de los atributos sensoriales se empleó una escala hedónica de 5 puntos (Alegria et al. 2009). Color: 1-muy verde; 2-verde; 3-verde claro; 4amarillo (con o sin manchas marrones); y 5-marrón. Textura: 1firme y crujiente; 2-firme; 3-poco firme; 4-blando; y 5-muy blando. Defectos: 1-ninguno; 2-pocos; 3-moderados; 4-Muchos; y 5-inaceptables. Aroma a fresco: 1-muy intenso; 2-intenso; 3moderado; 4-escaso; y 5-ausente. Y OVQ: 1-excelente; 2-bueno; 3-límite de comercialización; 4-malo; y 5-no apto para consumo humano.

Análisis estadístico

Se calcularon los promedios de las poblaciones microbianas expresadas en unidades log ufc. g^{-1} para cada tratamiento a partir de tres muestras independientes. Los datos se expresaron como valor medio \pm desviación estándar. Los resultados fueron analizados usando el software Microsoft Excel 2010.

Resultados y Discusión

Los altos recuentos iniciales encontrados para los distintos grupos microbianos pueden ser atribuidos a las altas temperaturas registradas durante el período de cultivo v cosecha de la MP. Es importante destacar que la calidad microbiológica inicial de esta MP se encuentra próxima al valor máximo recomendado (5 x 10⁷ ufc/g) para recuentos de bacterias aerobias mesófilas (Corbo et al. 2006), reforzando la necesidad de desarrollar métodos de desinfección más eficientes. En la Figura 1 puede observarse la evolución en el almacenamiento de los recuentos de BAM en hojas de espinaca envasadas. Los recuentos iniciales en el control (SL) fueron similares a los encontrados por Barrera et al. (2012) en las misma MP y condiciones de trabajo. El lavado con agua destilada no logró reducir la carga inicial a diferencia de los otros tratamientos que mostraron una reducción de 1.86, 2.69, 3.20 y 2.67 ciclos log, respectivamente para AH, AC1, AC2 y AC3.

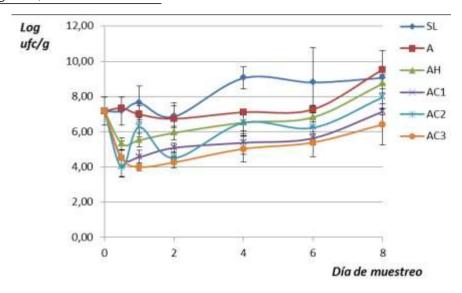


Figura 1: Recuentos de bacterias aerobias mesófilas (BAM) durante el almacenamiento refrigerado. Sin lavar (SL); agua destilada (A); hipoclorito de sodio 200 ppm (AH); ácido cítrico 0,5% (AC1); ácido cítrico 1,0% (AC2); y ácido cítrico 2,0% (AC3).

Como sucedió con las BAM, el agua destilada no tuvo impacto en los recuentos de psicótropas o psicrótropas y la evolución de este grupo de microorganismos fue similar al de la materia prima sin lavar (ver Figura 2). La solución de HCS 200 ppm logró una reducción inicial cercana a 2 log ufc.g⁻¹. Sin embargo, al día 8 de almacenamiento refrigerado, los recuentos alcanzan valores próximos al de las muestras SL y A. Por otro lado, los tratamientos por inmersión en solución de ácido cítrico redujeron considerablemente la carga inicial de BP (1.94-3.15 log ufc.g⁻¹). Al final del almacenamiento el tratamiento con mayor concentración de ácido cítrico presentó mejores resultados, con un recuento de 2.34 log ufc.g⁻¹ inferior a SL.

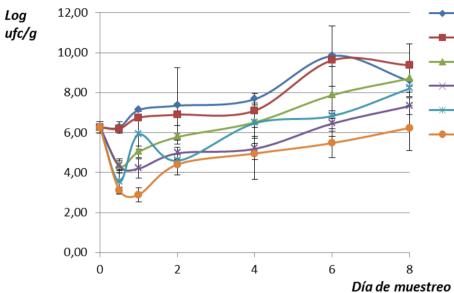


Figura 2: Recuentos de bacterias psicrótrofas (BP) durante el almacenamiento refrigerado. Sin lavar (SL); agua destilada (A); hipoclorito de sodio 200 ppm (AH); ácido cítrico 0.5% (AC1); ácido cítrico 1.0% (AC2); y ácido cítrico 2.0% (AC3).

El comportamiento de mohos y levaduras no presentó grandes cambios en términos cuantitativos y los recuentos fueron bajos en relación a los observados en BAM y BP para todas las → SI muestras (ver Figura 3). Estos resultados son similares a los observados por Rahman et al. (2010) quien trabajó con hojas de espinaca cortadas, envasadas y almacenadas a 4°C. AHAdicionalmente Artés *et al.* (2009) concluye que los ácidos ACorgánicos son más efectivos en bacterias que en mohos y Adevaduras debido al bajo pH al cual son aplicados (entre 2.1 y , 2.7). El agua destilada no logró reducir la carga inicial de M&L y los tratamientos AH, AC1, AC2 y AC3 redujeron los recuentos en 1.20, 1.33, 1.26 y 1.51 ciclos log, respectivamente (ver tabla N°1). En el último día evaluado, los recuentos en las muestras AC1, AC2 v AC3 presentaron valores superiores al control (SL) v superiores a los recuentos iniciales en 1.26, 2.31 y 2.40 ciclos log, respectivamente. Posiblemente los recuentos altos de BAM y BP en el control hayan tenido gran influencia en el desarrollo de M&L a través de la competencia por sustrato, dando de esta forma recuentos bajos (inferiores a los de las muestras tratadas con ácido cítrico). Análogamente, el menor desarrollo de bacterias observado en las muestras AC1, AC2 y AC3 pudo haber beneficiado el crecimiento de mohos y levaduras al existir una menor competencia por sustrato.

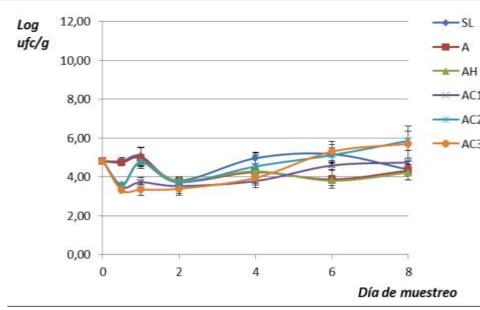


Figura 3: Recuentos de mohos y levaduras (M&L) durante el almacenamiento refrigerado. Sin lavar (SL); agua destilada (A); hipoclorito de sodio 200 ppm (AH); ácido cítrico 0.5% (AC1); ácido cítrico 1.0% (AC2); y ácido cítrico 2.0% (AC3).

El lavado con agua destilada no mejoró la calidad microbiológica de la espinaca fresca, demostrando que la simple acción mecánica del lavado por inmersión con agitación suave AC1no logra disminuir la carga microbiana. Baur *et al.*(2004) v Delaquis et al. (2004) observaron reducciones de BAM de ____alrededor de 0.5 ciclos log en lechuga cortada y lavada con agua de red. Por otro lado, otros autores observaron reducciones de 1 log de BAM y ~0.5 log de M&L en hojas de espinaca lavadas con agua de red (Rahman et al. 2010, Rubinstein et al. 2012). Con respecto a la efectividad de los tratamientos con ácido cítrico, las reducciones resultaron ser 2.67-3.20, 1.94-3.15 y 1.26-1.51 ciclos log para BAM, PB y M&L, respectivamente. Rahman et al. (2010) encontraron reducciones inferiores a 2 log y a 1 log para bacterias totales y M&L, respectivamente, luego de someter las hojas de espinaca a una desinfección por inmersión en ácido cítrico 1.0%p/v durante 3 min.

Respecto al resto de los tratamientos la textura, evaluada organolépticamente, de las muestras tratadas con ácido cítrico a la mayor concentración (AC3) fue inferior (ver Figura 4). Rubinstein *et al.* (2012) observaron pérdida de textura y color en hojas de espinaca tratadas con ácido cítrico 2%p/v. Con respecto al atributo sensorial aroma a fresco, las muestras tratadas con HCS presentaron "aroma a fresco escaso" y se pudo detectar olores correspondientes al agente sanitizante. Al final del almacenamiento (día 8) la calidad organoléptica no presentó diferencias entre los distintos tratamientos (datos no mostrados), aunque si hubo en términos generales una ligera pérdida de turgencia en las hojas debido a la pérdida de agua, la cual afectó negativamente a la textura.

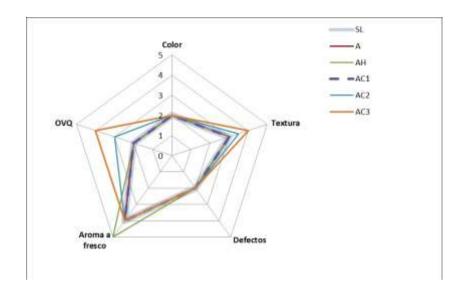


Figura 4: Calidad organoléptica de las hojas de espinaca inmediatamente después de aplicados los tratamientos. Color: 1-muy verde; 2-verde; 3-verde claro; 4-amarillo; y 5-marrón. Textura: 1-firme y crujiente; 2-firme; 3-poco firme; 4-blando; y 5muy blando. Defectos: 1-ninguno; 2-pocos; 3-moderados; 4-Muchos; y 5-inaceptables. Aroma a fresco: 1-muy intenso; 2intenso; 3-moderado; 4-escaso; y 5-ausente. Y OVQ (calidad alobal): 1-excelente: 2-bueno: 3-límite visual comercialización; 4-malo; y 5-no apto para consumo humano. Sin lavar (SL); agua destilada (A); hipoclorito de sodio 200 ppm (AH); ácido cítrico 0.5% (AC1); ácido cítrico 1.0% (AC2); y ácido cítrico 2.0% (AC3).

CONCLUSIONES

Los altos recuentos iniciales de BAM, BP y M&L en hojas de espinaca fresca y su incremento en el almacenamiento a temperaturas de refrigeración revalorizan la etapa de lavado y desinfección de hortalizas mínimamente procesadas generando conciencia acerca de la inocuidad de estos productos. El desinfección más tratamiento de efectivo fue lavado/inmersión con ácido cítrico al 2,0% p/v (AC3), sin embargo, este tratamiento impactó negativamente en la textura del tejido. Adicionalmente, el tratamiento AC3 no demuestra grandes ventajas frente a los tratamientos AC1 y AC2 en lo que respecta a reducción de la carga microbiana. Por tanto, el ácido cítrico a una concentración de 0,5 % p/v (AC1), podría ser un excelente reemplazante del hipoclorito de sodio va que permite obtener un producto con menores recuentos de bacterias (BAM y BP) y bajos recuentos de mohos y levaduras, sin comprometer la calidad organoléptica de las hojas de espinaca.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Lee S-Y, Baek S-Y. 2008. Effect of chemical sanitizer combined with modified atmosphere packaging on inhibiting Escherichia coli O157:H7 in commercial spinach. Food Microbiol. 25: 582-587.
- 2. Huang Y, Chen H. 2011. Effect of organic acids, hydrogen peroxide and mild heat on inactivation of Escherichia coliO157:H7 on baby spinach. Food Control 22; 1178-1183.
- 3. Neal JA, Marquez-Gonzalez M, Cabrera-Diaz E, Lucia LM, O'Bryan CA, Crandall PG, Ricke SC, Castillo A. 2012. Comparison of multiple chemical sanitizers for reducing Salmonella and Escherichia coli O157:H7 on spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. Food Research International 45: 1123-1128.
- 4. Goodburn C, Wallace CA. 2013. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: A review. Food Control 32: 418-427.
- 5. Allende A, Selma MV, López-Gálvez F, Villaescusa R, Gil MI. 2008. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. Postharvest Biology and Technology 49: 155-163.
- 6. Rahman SME, Y-G Jin, Deog-Hwan Oh. 2011. Combination treatment of alkaline electrolyzed water and citric acid with mild heat to ensure microbial safety, shelf-life and sensory quality of shredded carrots. Food Microbiol. 28: 484-491.
- 7. Bermúdez-Aguirre D, Barbosa-Cánovas GV. 2013. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. Food Control 29: 82-90.

- 8. Sagong H-G, Lee S-Y, Chang P-S, Heu S, Ryu S, Choi Y-J, Kang D-H. 2011. Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce Escherichia coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, and Listeria monocytogenes on organic fresh lettuce. International Journal of Food Microbiology 145: 287-292.
- 9. Agüero MV, Ponce AG, Moreira MR, Roura SI. 2011. Lettuce quality loss under conditions that favor the wilting phenomenon. Postharvest Biology and Technology, 59: 124-131. 10. Alegria C, Pinheiro J, Gonçalves EM, Fernandes I, Moldão M, Abreu M. 2009. Quality attributes of shredded carrot (Daucus carota L. cv. Nantes) as affected by alternative decontamination processes to chlorine. Innovat. Food Sci. Emerg.Tech. 10: 61-69.
- 11. Corbo MR, Del Nobile MA, Sinigaglia M. 2006. A novel approach for calculating shelf life of minimally processed vegetables. International Journal of Food Microbiology 106: 69-73.
- 12. Barrera MJ, Blenkinsop R, Warriner K. 2012. The effect of different processing parameters on the efficacy of commercial post-harvest washing of minimally processed spinach and shredded lettuce. Food Control 25: 745-751.
- 13. Artés F, Gómez P, Aguayo E, Escalona V, Artés-Hernández F. 2009. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. Postharvest Biology and Technology 51: 287-296.
- 14. Rahman SME, Ding T, Oh D-H. 2010. Inactivation effect of newly developed low concentration electrolyzed water and other sanitizers against microorganisms on spinach. Food Control 21: 1383-1387.
- 15. Baur S, Klaiber R, Hammes WP, Carle R. 2004. Sensory and microbiological quality of shredded, packaged iceberg lettuce as affected by pre-washing procedures with chlorinated and ozonated water. Innovat. Food Sci. Emerg.Tech. 5: 45-55.

- 16. Delaquis PJ, Fukumoto LR, Toivonen PM, Cliff M. 2004. Implications of wash water chlorination and temperature for the microbiological and sensory properties of fresh-cut iceberg lettuce. Postharvest Biology and Technology 31: 81-91.
- 17. Rubinstein A, Jagus RJ, Agüero MV. 2012. Evaluación de sanitizantes alternativos al hipoclorito de sodio para la desinfección de espinaca: calidad microbiológica y organoléptica. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos- Córdoba (Argentina), libro de trabajos completos 139-146.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero de CONICET (Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), ANPCyT (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica) y UBA (Universidad de Buenos Aires).

VARIACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS EN LOS CULTIVARES DE BATATA DURANTE EL ALMACENAMIENTO.

Gabilondo J¹, Corbino G¹, Chludil H², Malec L³

- 1: Estación Experimental Agropecuaria INTA San Pedro- Buenos Aires. Argentina.
- 2: Cátedra de Biomoléculas. Fac. de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina.
- 3: Dpto. Química Orgánica. Fac. de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina. qabilondo.julieta@inta.qob.ar

Resumen: El objetivo de este trabajo fue estudiar y comparar el contenido de polifenoles totales (PFT), la actividad antioxidante (AA) y separar los principales fenoles ácidos en piel y pulpa de dos cultivares de batata (*Beauregard* y *Colorado INTA*) en el producto fresco y luego de 90 días de almacenamiento en cámara a 13°C. El contenido de PFT se determinó con el reactivo de Folin-Ciocalteau, la AA mediante la reducción del radical 2,2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH·) y los fenoles ácidosmediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa. El contenido de PFT y la AA tanto en la pulpa como en la piel, resultaron considerablemente mayores en el cultivar *Colorado INTA*. Los valores de PFT y AA obtenidos en la piel, fueron

superiores a los de la pulpa para ambos cultivares. Después del almacenamiento, el contenido de PFT y la AA aumentaron en la pulpa del cultivar *Colorado INTA*. Por el contrario, en la piel, ambos parámetros disminuyeron aproximadamente 30% en ambos cultivares. Los principales fenoles identificados fueron los isómeros de los ácidos clorogénico y dicafeoilquínicos. El incremento observado en los compuestos bioactivos de la batata acentuaron aún más las diferencias entre las propiedades funcionales de ambos cultivares.

Palabras claves: capacidad antioxidante, polifenoles, ácido clorogénico, ácidos dicafeoílquinicos, *Ipomoea batata L*.

Abstract: The aim of this work was to study and to compare the content of total polyphenols (PP), theantioxidant activity (AA) and to separate the main phenolic acids in skin and pulp of two sweetpotato cultivars (Beauregard and Colorado INTA) in the fresh product and after 90 days of storage at 13°C chamber .The PP content was determined with the Folin-Ciocalteu reagent, AA by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH·) radicalscavenging activity assay and phenolic acids were performed by high performance liquid chromatography (HPLC) on reversed phase. The PP content and AA in pulp and skin were significantly higher in the cultivar Colorado INTA. PP and AA values obtained from skin were superior to those of pulp for both cultivars. After storage, the PP and AA increased in the pulp of cultivar Colorado INTA. By contrast, both parameters decreased approximately 30 % in the skin of both cultivars. The main polyphenols identified were the isomers of chlorogenic and dicaffeoylquinic acids. The observed increase of the bioactive compounds of the sweetpotatoes during storage further

accentuated the differences between the functional properties of both cultivars.

Keywords: antioxidant activity, polyphenols, chlorogenic acids, dicaffeoylquinic acids, sweetpotato Ipomoea L.

INTRODUCCION

La batata (*Ipomoea batata L. Lam*) es un cultivo que se produce en más de 100 países. En la Argentina, el área plantada de batata es de aproximadamente 10000 hectáreas con una producción de 120000 toneladas y un consumo por habitante por año de 3kg (INTA-CMCBA, 2013). Las principales zonas de producción son la región pampeana (Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe) y el Noreste argentino (NEA). En la zona de San Pedro, es uno de los cultivos tradicionales. Se plantan unas 3000 a 4000 ha anuales de batata, destinadas a abastecer principalmente a la ciudad de Buenos Aires y el conurbano. Su importancia económica se incrementa con la cantidad de galpones de empagues de la zona que procesan batatas provenientes de distintas regiones del país durante gran parte del año. La época de cosecha depende de la región geográfica ya que por ser un cultivo sensible al frío se cultiva durante la estación templada. Para disponer de batatas durante todo el año, una vez cosechadas, éstas pueden ser almacenadas bajo condiciones controladas (13°C ±2°C – 90% Humedad relativa) por 6-10 meses. Durante la conservación, las raíces sufren cambios en el metabolismo afectando su composición fisicoquímica (Takenaka et al. 2006, Huang et al. 1999). De la planta de batata se pueden aprovechar las raíces tuberosas y el follaje. La importancia de la raíz de batata como alimento radica en su contenido de almidón, fibra dietaria, minerales, vitaminas y compuestos con actividad antioxidante, como ácidos fenólicos, antocianinas y βcaroteno. Los compuestos antioxidantes actúan como eliminadores de radicales libres y/o inhibidores de las especies reactivas del oxígenoque se forman naturalmente durante el

metabolismo humano. Estas moléculas provocan daños en las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos de las estructuras biológicas e inducen en el hombre una variedad de enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo (Elahi y Malata, 2006; Thrasivoulou et al., 2006)como cardiovasculares, cáncer y aquellas vinculadas con la degeneración neuronal (Ames et al., 1993). Debido a que algunos antioxidantes sintéticos han demostrado ser tóxicos y presentar efectos mutagénicos (Krishnakumar y Gordon, 1996), en los últimos años se ha incrementado el interés por los antioxidantes de origen natural como los que se encuentran en frutas, vegetales y bebidas. Ente los compuestos fenólicos, los ácidos cafeoilquínicos poseen fuerte actividad antioxidante (Chuda et al., 1996). Incluso Robards et al., (1999) reportaron que la AA de estos compuestos es superior a la del tocoferol. Sus propiedades antioxidantes han sido vinculadas a potenciales efectos benéficos sobre la salud humana, incluyendo supresión de melanogénesis (Shimozono et al 1996), inhibición de la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (Mahmood et al 1993; Robinson et al 1996; Zhu et al 1999), actividad antiinflamatoria (Peluso *et al* 1995), antiespasmódica (Trute *et al* 1997) antihiperglucémica (Guan et al 2006) y antimutagénica (Yoshimoto et al 1999), entre otros. En distintos cultivares de identificaron los siguientes batata compuestos cafeoilquinicos: ácido clorogénico, cafeico y sus derivados dicafeoílguínicos (Yamakawa y Yoshimoto, 2001; Yoshimoto et al, 2001; Yoshimoto et al, 2005; Teow, 2007). La composición y contenido de los compuestos antioxidantes varía ampliamente entre los distintos cultivares de batata, dependiendo de factores genéticos y ambientales, como edad y partes de la raíz, clima, prácticas del cultivo y almacenamiento luego de la cosecha (Kidmose et al, 2007; Bovell-Benjamin, 2007). En particular,

distintos investigadores han reportado que la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales en la piel de batata fueron superiores al contenido de la pulpa (Walter y Schadel 1981; Cevallos-Casalas y Cisneros-Zevallos, 2003). El conocimiento de la composición funcional de los cultivares *Colorado INTA* y *Beauregard*, ambos de pulpa naranja, nuevos en la región, aportará información para caracterizar su calidad. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la AA, el contenido de polifenoles totales e identificación de los principales fenoles ácidos en dos cultivares de batata (*Beauregard y Colorado INTA*), de importancia comercial para el norte de la provincia de Buenos Aires, en el producto fresco (pulpa y piel) recién cosechado y luego de 90 días de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS Preparación de muestras vegetales

Se utilizaron muestras de los cultivares *Beauregard* y *Colorado INTA* cultivados en idénticas condiciones.

Se realizaron dos muestreos, uno al momento de la cosecha y otro luego de 90 días en cámara a 13°C \pm 2°C. Se tomaron, al azar, 10 batatas por cultivar. Cada muestra se formó utilizando un cuarto de cada una de ellas y se congeló la piel y la pulpa por separado en N_2 líquido. Las muestras congeladas fueron liofilizadas, trituradas y almacenadas a -20°C hasta su uso.

Preparación de los extractos

Cada muestra liofilizada (aprox. 1g) se mezcló con metanol 80% (v/v) durante 15 minutos a 80°C y el sobrenadante se separó por centrifugación, 15 minutos a 3500 rpm. Los extractos se realizaron por triplicado.

Métodos analíticos

La *humedad* se determinó según el método AOAC: 920.151 (1990) por secado de la muestra en estufa de vacío (100 mmHg) a 70° C hasta obtener peso constante.

Determinación de la actividad antioxidante (AA): Se analizó por triplicado mediante la reducción del radical DPPH· de acuerdo al método de Brand-Williams et al, (1995). A 400μl extracto se le agregaron 3,6 ml de DPPH· 0,1 mM, se mantuvo en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 517 nm en espectrofotómetro UV/Vis Perkin Elmer Lambda 25. La AA se calculó usando una curva estándar con concentraciones de TROLOX desde 20μM hasta 450 μM. Los resultados se expresaron como mg equivalentes TROLOX por g bs.

Determinación de polifenoles totales (PFT): Se realizó por triplicado con el reactivo de Folin-Ciocalteau de acuerdo al método de Singleton y Rossi (1965) con algunas modificaciones, utilizando ácido clorogénico como estándar. A 250 μL de extracto se le agregaron 4 ml de agua destilada y 250 μL del reactivo de Folin-Ciocalteau. Luego de 3 minutos, se incorporaron 500 μL de Na₂CO₃ 1N, se mantuvo 120 minutos a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 750 nm en espectrofotómetro UV/Vis Perkin Elmer Lambda 25. La curva estándar se realizó utilizando concentraciones de ácido clorogénico desde 75 hasta 400 mg/L. El contenido total de polifenoles se informó como mg de ácido clorogénico por g bs.

 Identificación y cuantificación de fenoles ácidos: La identificación y cuantificación se realizaron mediante el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa según Padda y Picha (2007) con algunas modificaciones. Una alícuota de los extractos metanólicos se filtraron por una membrana de 0.45 µm. Una muestra de 5µl se injectó en una columna ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4,6 x 250 mm, 5 micrones usando un equipo Agilent Technologies 1200 Series conectado a una bomba cuaternaria. La fase móvil consistió en A: 0.1% ácido acético en solución acuosa: B: acetonitrilo con 0,1 % ácido acético (v/v) con un flujo de 0.75 ml/min en gradiente: B, 10 a 25% de 0 a 35 minutos (min.) y 25 a 50 % de 35 a 50 min. Los picos de los ácidos clorogénico (5-cafeoíl-quínico) y ácido cafeico se identificaron y cuantificaron comparando los tiempos de retención y las áreas con sus respectivos estándares. Los picos de los isómeros de ácido clorogénico (3 y 4 cafeoílquínico) y de los isómeros di-cafeoíl-quínicos (3,4; 3,5 y 4,5 dicafeoíl-quínicos) fueron identificados por referencia bibliográfica para similares sistemas cromatográficos. Los isómeros de ácido clorogénico se cuantificaron por comparación con el estándar del 5-cafeoíl-quínico y los isómeros di-cafeoíl-quínicos, por comparación con el estándar del 1,5 di-cafeoíl-quínico. La cuantificación se basó en la absorbancia a 320nm usando un detector UV-VIS 1260 Infinity de onda múltiple.

Análisis estadísticos

Los datos experimentales se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa *InfoStat versión 2008*.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la **Tabla 1** figuran los contenidos de polifenoles totales/g bs para los cultivares (cv) *Beauregard* y *Colorado INTA*, a los 0 y 90 días de su conservación y en la **Tabla 2** se muestra la AA/g bs

para las mismas muestras. En la pulpa de las batatas recién cosechadas, tanto el contenido de PFT como los valores de la AA resultaron aproximadamente el doble en el cv Colorado INTA que en el cv Beauregard. En la piel, ambos parámetros resultaron muy superiores que en la pulpa y similares para ambos cultivares. Padda y Picha (2008c) reportaron una amplia variabilidad en el contenido de PFT y AA para distintos genotipos de batatas con pulpa color naranja. Además estos resultados coinciden con Padda y Picha (2008a y b) quienes reportaron que el contenido de PFT y AA fue bastante mayor en el tejido de la piel que en la pulpa del cv Beauregard al momento de la cosecha. Jung et al. (2011) también encontraron diferencias en la AA y el contenido de fenoles incluso, dentro de la pulpa de una misma raíz, pudiendo variar de médula a corteza. Walter y Schadel, (1981) y Harrison et al (2003) han atribuido los mayores valores de PFT registrados en los tejidos de la piel de la batata a un mecanismo de defensa química natural de la misma contra enfermedades e insectos. El alto contenido de compuestos fenólicos en la piel podría despertar el interés de las industrias en utilizarla para su incorporación en diversos alimentos con el fin de aprovechar su potencial antioxidante natural y a su vez, minimizar los residuos industriales.

Tabla 1: Contenido de polifenoles totales expresados en mg equivalentes de ácido clorogénico /g bs para los cultivare *Beauregard* y *Colorado INTA*, a los 0 y 90 días de su conservación.

0 días			90 días		
	Beauregar d	INTA	Beauregar d	INTA	
Pulp a	1,9 ± 0,10	3,59 ± 0,27	2,15 ± 0,13	5,78 ± 0,19	
Piel	21,2 ± 1,41	$21,7 \pm 2,4$	14,1 ± 1,4	14,3 ± 1,5	

Cada valor es el promedio ± la Desviación Estándar de los resultados obtenidos.

Tabla 2: Actividad antioxidante expresada en mg equiv. TROLOX /g bs para los cultivares *Beauregard* y *Colorado INTA*, a los 0 y 90 días de su conservación.

0 días			90 días		
	Beauregar d	Colorado INTA	Beauregar d	Colorado INTA	
Pulp a	2,05 ± 0,22	$4,64 \pm 0,33$	2,55 ± 0,24	7,14 ± 0,23	
Piel	23,8 ± 0,59	22,2 ± 2,1	16 ± 1,3	14,2 ± 1,5	

Cada valor es el promedio ± la Desviación Estándar de los resultados obtenidos.

En la **Figura 1** se muestra lavariación de PFT y la AA para los cultivares *Beauregard* y *Colorado INTA* durante su conservación. Se puede observar que la variación de PFT es similar a la de la AA en ambos cultivares. Luego de 90 días de almacenamiento, los PFT y la AA aumentaron en la pulpa de ambos cultivares pero en mucho mayor proporción en el cv *Colorado INTA*. Los valores alcanzados para los respectivos parámetros fueron 60% y 50% más elevados que los iniciales, mientras que en el cv *Beauregard* no hubo variaciones significativas. Por el contrario, en la piel, ambos parámetros disminuyeron aproximadamente 30% tanto para *Colorado INTA* como para *Beauregard*.

Estudios realizados sobre otros cultivares (Ishiguro et al. 2007) encontraron que los PFT y la AA durante 37 días de almacenamiento a 15°C aumentaron en el cv. J-Red, de pulpa naranja, pero disminuyeron en otros tres cv. Por otro lado, Grace et al. (2014) observaron una disminución en el contenido de PFT de distintos cv de batata almacenadas a temperatura óptima durante 4 v 8 meses aunque manifestaron que algunos PF incrementados individuales se vieron durante almacenamiento. Varios autores coinciden en que la variación en el contenido de PFT y la AA depende del cultivar (Lieberman *et* al. 1959, Lattanzio et al. 1994, Grace et al. 2014). Dependiendo del tipo de estrés, los compuestos fenólicos pueden ser inducidos como resultado del incremento de la transcripción de genes que codifican la biosíntesis de las enzimas correspondientes (Dixon y Paiva 1995). El incremento en el contenido de PFT puede ser atribuido a un aumento en paralelo de la actividad de la fenil-alanina amonio-liasa (PAL), una importante enzima involucrada en el camino fenilpropanoide de la síntesis fenólica (Padda y Picha 2008a).

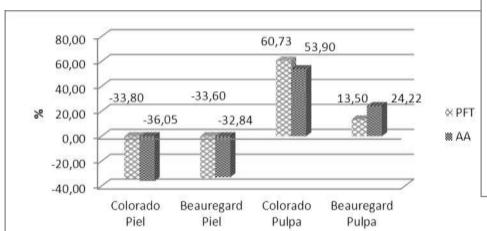


Figura 1: Variación de polifenoles totales y la actividad antioxidante para los cultivares *Beauregard* y *Colorado INTA* durante su conservación.

En la **Figura 2**, puede observarse que los valores de AA mostraron una alta correlación (r^2 = 0,991) con los contenidos de PFT. Otros autores, también encontraron una alta correlación entre PFT y AA en distintos cultivares de batata (Padda y Picha 2008b, Wang *et al.* 2006). Esto sugiere que la AA de las batatas podría ser causada principalmente por la presencia de PF.

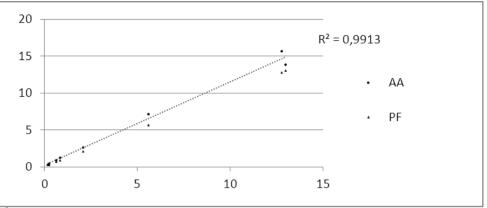


Figura 2: Correlación entre PFT y AA para ambos cultivares, en tejido fresco de piel y pulpa.

Al analizar los PF individuales en las batatas recién cosechadas (**Tabla 3**), se encontró que los PF más abundantes en la pulpa de ambos cv, fueron los isómeros del ácido clorogénico. En cambio en la piel, los isómeros del ácido clorogénico fueron mayoritarios en *Colorado INTA*, pero en *Beauregard*, predominaron los isómeros dicafeoilquinicos (3,4; 3,5; 4,5). El ácido cafeico sólo se identificó en la piel de ambos cv y en baja concentración. Estos resultados coinciden con Bellail *et tal* (2012) quienes reportaron que no se encontró ácido cafeico en la pulpa de ninguno de los cultivares analizados, entre ellos *Beauregard*. Otros estudios (Padda y Picha 2008c, Walter y Purcell 1979) realizados sobre diferentes cv de batata, también identificaron como PF mayoritarios a los isómeros de los ácidos clorogénico y dicafeoilquínico y al ácido cafeico como componente minoritario.

Tabla 3: Contenido PFT, AA, isómeros de ácido clorogénico, ácido cafeico e isómeros de ácidos dicafeoilquínicos de piel y pulpa para los cultivares *Beauregard* y *Colorado INTA* antes y después de su almacenamiento. Los valores están expresados en mg/g bs.

	Beauregard				Colorado INTA			
mg/g bs	90 días		0 días		90 días		0 días	
	Pulpa	Piel	Pulpa	Piel	Pulpa	Piel	Pulpa	Piel
Isomeros Ac. Clorog.	0,642	2,29	0,525	5,73	2,43	1,67	1,25	8,42
Ac. Cafeico	0,000	1,29	0,000	0,793	0,000	1,20	0,000	0,563
Isomeros dicafeoílq.	0,370	4,17	0,338	7,97	1,89	2,93	0,610	4,13
Total	1,01	7,75	0,86	14,5	4,32	5,80	1,86	13,1
AA	2,55	16,0	2,05	23,8	7,14	14,2	4,64	22,2
PFT	2,15	14,1	1,90	21,2	5,78	14,3	3,59	21,7
% en PFT	47,1	55,0	45,4	68,3	74,8	40,5	51,7	60,4

El aumento de los PFT en la pulpa de *Colorado INTA* durante el almacenamiento se debió a un incremento parejo de los isómeros de los ácidos clorogénicos y dicafeoilquínicos (**Figura 4**). En la pulpa del cv *Beauregard*, en coincidencia con los resultados obtenidos al analizar los PF totales, no se registraron variaciones significativas en los diferentes PF durante el almacenamiento. En la piel del cv *Beauregard* (**Figura 5**), la disminución del contenido de PFT también se debió a la variación de los ácidos clorogénicos y dicafeoilquínicos. En la piel del cv *colorado INTA*, en cambio, la disminución se debió fundamentalmente ala variación de los isómeros del ácido clorogénico quedando entonces como mayoritarios en las batatas almacenadas los ácidosdicafeoilquinicos. El ácido cafeico fue el único compuesto que se incrementó, luego de la

conservación, en la piel de ambos cv, aunque su proporción sigue siendo minoritaria con respecto al resto. Estudios previos han reportado resultados contradictorios con respecto al incremento y disminución de estos ácidos fenólicos durante el almacenamiento. Al igual que en el contenido de PFT y la AA, manifestaron que estas variaciones dependen del cultivar (Lieberman *et al.* 1959, Lattanzio *et al.* 1994, Grace *et al.* 2014, Ishiguro *et al.* 2007).

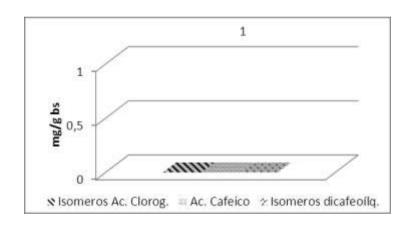


Figura 4: Variación de los isómeros de ácido clorogénico y dicafeoílquinico y del ácido cafeico en la pulpa de los cultivares *Beauregard* y *Colorado INTA* durante su almacenamiento. Los valores están expresados en mg/g bs.

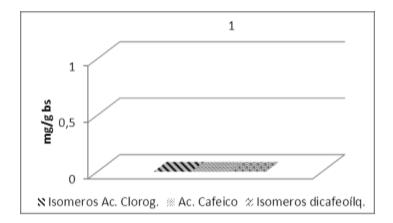


Figura 5: Variación de los isómeros de ácido clorogénico y dicafeoílquinico y del ácido cafeico en la piel de los cultivares *Beauregard* y *Colorado INTA* durante su almacenamiento. Los valores están expresados en mg/g bs.

CONCLUSIONES

El cv *Colorado INTA*, con vetas color púrpura, resultó más rico en PF que el cv *Beauregard* y las diferencias se incrementaron durante el almacenamiento. En la pulpa de ambos cv los PF más abundantes fueron los isómeros del ácido clorogénico. La conservación a temperaturas controladas favoreció el valor funcional de la pulpa del cv Colorado INTA. Pero en la piel, hubo una importante disminución de sus compuestos bioactivos. Por lo tanto, si se quiere aprovechar el alto contenido de antioxidantes naturales en la piel para su agregado en alimentos para prevenir la oxidación lipídica, es aconsejable extraerlos de las batatas recién cosechadas.

BIBLIOGRAFÍA

Ames BM, Shigena MK, Hagen TM. 1993. Oxidants, antioxidant and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Sciences, 90:7915–7922.

A.O.A.C. Association of the Official Analytical Chemists.1990.920.151. Official Methods of the Association of the Official Analytical Chemists. Ed. Horwitz W.14th ed. Washington DC.

Bellail AA, Shaltout OE, Youssef MM, El Gamal AMA. 2012. Effect of home-cooking methods on phenolic composition and antioxidant activity of sweetpotato (Ipomoea batatas (L.) Lam.) cultivars grown in Egypt. Food and Nutrition Sciences. 3: 490-499.

Bovell-Benjamin A. C. 2007. Sweet potato: A review of its past, present, and future role in human nutrition. Advances in Food and Nutrition Research, 52: 1–59.

Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science Technology, 28: 25-30.

Cevallos-Casalas BA and Cisneros-Zevallos LA. 2003. Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and red-fleshed sweetpotato. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51:3313–3319.

Chuda Y, H Ono, M Ohnishi-Kameyarna, T Nagata and T Tsushida. 1996. Structural identification of two antioxidant quinicacid derivatives from garland *(Chri'santhemuni coronariwn L.)*. J.Agr. Food Chem. 44:2037-2039.

Clifford MN. 2000. Chlorogenic acid and other cinnamates: Nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. J. Sci. FoodAgr. 80:1033-1043.

Dixon RA and Paiva NL. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell 7:1085–1097.

Lattanzio V, Cardinali A, Palmieri S.1994. The role of phenolics in the postharvest physiology of fruits and vegetables: browning reactions and fungal diseases. Ital. J. Food Sci. 1: 3–22.

Elahi MM, Malata BM. 2006. Free radicals in blood: evolving concepts in the mechanism of ischemic heart disease. Arch. Biochem. Biophys. 450: 78-88.

Grace MH, Yousef GG, Gustafson SJ, Truong VD, Yencho GC and Lila MA. 2014. Phytochemical changes in phenolics, anthocyanins, ascorbic acid and carotenoids associated with sweetpotato storage and impacts on bioactive properties. Food chemistry. 145: 717-724.

Guan Y, T Wu, M Lin, and J Ye. 2006. Determination ofpharmacologically active ingredients of sweetpotato *(Ipomoea hata-tas* L.) by capillary electrophoresis with electrochemical detection. J. Agr. Food Chem. 54:24-28.

Harrison HF, Peterson JK, Snook ME, Bohac JR and Jackson DM. 2003. Quantity and potential biological activity of caffeic acid in sweet potato [Ipomoea batatas (L.) Lam.] storage root periderm. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51:2843–2848.

Huang YH, Picha DH, Johnson CE. 1998. An alternative method for enzymatic assay of plant invertases. J. Agric.Food Chem. *46:* 3158-3161.

Ishiguro K, Yahara S, and Yoshimoto M. 2007. Changes in Polyphenolic Content and Radical-Scavenging Activity of Sweetpotato (Ipomoea batatas L.) during Storage at Optimal and Low Temperatures. J. Agric. Food Chem. 55: 10773–10778.

INTA-CMCBA. 2013. Gacetilla de Frutas y Hortalizas del Convenio INTA- CMCBA Nº 21. Marzo 2013. En: http://www.mercadocentral.gob.ar/gacetilla/gacetilla/21.pdf

Kidmose U, Christensen L P, Agili SM, Thilsted SH. 2007. Effect of home preparation practices on the content of provitamin A carotenoids in coloured sweet potato varieties (Ipomoea batatas Lam.) from Kenya. Innovative Food Science and Emerging Technologies 8:399–406.

Krishnakumar V, Gordon I. (1996). Antioxidants – trends and developments. International Food Ingredients. 12: 41–44.

Jung jK, Lee SU, Kozukue N, Levin CE, Friedman M. 2011. Distribution of phenolic compounds and antioxidative activities in parts of sweet potato (Ipomoea batata L.) plants and in home processed roots. Journal of Food Composition and Analysis 24: 29–37.

Lieberman M, Craft C, Wilcox M S. 1959. Effect of chilling on the chlorogenic acid and ascorbic acid content of Port Rico sweetpotatoes. J. Am. Soc. Hortic. Sci. *74*: 642–648.

Mahmood N, Moore PS, De Tommasi N. 1993. Inhibition of HIV infection by caffeoylquinic acid derivatives. Antiviral Chemistry and Chemotherapy, 4: 235–240.

Padda MS, Picha DH. 2007. Methodology optimization for quantification of total phenolics and individual phenolic acids in sweetpotato (Ipomoea batatas L.) roots. J. Food Sci. 72: C412–C416.

Padda MS, Picha DH. 2008a. Effect of low temperature storage on phenolic composition and antioxidant activity of sweetpotatoes. Postharvest Biology and Technology 47:176–180. Padda MS, Picha DH. 2008b. Phenolic composition and antioxidant capacity of different heat-processed forms of sweetpotato cv. Beauregard. International Journal of Food Science and Technology. 43:1404–1409.

Padda MS, Picha DH. 2008c. Quantification of phenolic acids and antioxidant activity in sweetpotato genotypes. Scientia Horticulturae 119: 17–20.

Peluso G, V Dc Feo, F Dc Simone, E Bresciano and ML Vuotto.1995. Studies on the inhibitory effects of caffeoylquinic acid onmonocyte migration and superoxide ion production. J. Nat. Prod. 58:639-646.

Robards K, PD Prenzler, G Tucker, P Swatsitang, and W Glover.1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes infruits. Food Chem. 66:401-436.

Robinson EW, M Cordeiro, S Abdel-Malek, Q Jia, SA Chow, MG Reinecke and WM Mitchell. 1996. Dicaffeoylquinic acidinhibitors of human immunodeficiency virus integrase: Inhibition ofthe core catalytic domain of human immunodeficiency virus integrase. Mol. Pharmacol. 50:846-855.

Singleton VL and Rossi JA. Jr. 1965. "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents". Am. J. Enol. Vitic. 16:144-158.

Shimozono H, Kobori M Shinmoto H and Tsushida T. 1996. Suppression of mouse melanoma B 16 cells by sweetpotato extract. Nippon Shokuhin Kogaku Kaishi 43:313-317.

Takenaka M, Yan X, Ono H, Yoshida M, Nagata T and Nakanishi T. 2003. Caffeic acid derivatives in the root of yacon (Smallanthus sonchifolius). J. Agr. Food Chem. 51:793-796.

Takenaka M, Nanayana K, Isobe S and Murata M. 2006. Changes in cafeic acid derivates in sweetpotato (Ipomoea batatas L.) during cooking and processing. Biosci. Biotechnol. Biochem. 70. 1: 172-177.

Teow CC, Truong VD, McFeeters RF, Thompson RL, Pecota KV, Yencho GC. 2007. Antioxidant activities, phenolic and b-carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. Food Chemistry 103:829–838.

Thrasivoulou C, Soubeyre V, Ridha H, Giuliani D, Giaroni C, Michael GJ, Saffrey MJ, Cowen T. 2006. Reactive oxygen species, dietary restriction and neurotrophic factors in age-related loss of myenteric neurons. Aging Cell. 5: 247-257.

Trute A, Gross J, Mutschler F and Nahrstedt A. 1997. In vitroantispasmodic compounds of the dry extract obtained from *Hederahelix*. Planta Med. 63:125-129.

Walter W M, Purcell A E, McCollum GK. 1979. Use of high-pressure liquid chromatography for analysis of sweet potato phenolics. J. Agric. Food Chem. 27: 938–941.

Walter WM and Schadel WE. 1981. Distribution of phenols in 'Jewel' sweet potato [Ipomoea batatas (L.) Lam.] roots. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 29: 904–906.

Wang P, Zhu Z. 2006. Effects of pickling on the contents of antioxidant compounds and antioxidant activities in different cultivars of leaf mustard. Journal of Nuclear Agricultural Sciences. 20: 516-520.

Yamakawa O, Yoshimoto M. 2001. Sweet potato as food material with physiological functions. Proceeding of the First International Conference on Sweet Potato. Food and Health for the Future. Acta Horticulturae, 583:173-184.

Yoshimoto M, Okuno S, Yoshinaga M, Yamakawa O, Yamaguchi M and Yamada J. (1999). Antimutagenicity of sweet potato (Ipomoea batatas) roots. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry,63:537–541.

Yoshimoto M, Okuno S, Yamaguchi M and Yamakawa O. 2001. Antimutagenicity of deacylated anthocyanins in purplefleshed sweet potato. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 65: 1652–1655.

Yoshimoto M, Yamakawa O, Tanoue H. 2005. Potencial chemopreventive properties and varietal difference of dietary

fiber from sweetpotato (Ipomoea batatas L.) root. Japan Agricultural Research Quarterly, 39. 1: 37-43. Zhu KML, Coreiro J, Atienza WE, Robinson J, and Chow SA.1999. Irreversible inhibition of human immunodeficiency virus typel integrase by dicaffeoylquinic acids. *J.* Virol. 73:3309-3316.

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE PROTEÍNA DE SOJA REFORZADAS CON NANOCRISTALES

González A.⁽¹⁾, Alvarez Igarzabal C.I.⁽²⁾

(1) Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba (ICYTAC-CONICET). Juan Filloy s/n, Córdoba, Argentina.
(2) Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. IMBIV-CONICET.

Medina Allende y Haya de la Torre, Córdoba, Argentina.

agustingonzalez24@gmail.com

Resumen

En este trabajo, se prepararon películas de proteínas de soja (SPI) reforzadas con nanocristales de almidón (NCA) mediante la metodología de "casting". Las películas obtenidas resultaron transparentes y homogéneas. La opacidad y el grado de cristalinidad aumentaron con la cantidad de nanocristales agregados. El contenido de humedad, la cantidad de materia soluble total y el hinchamiento en el agua fueron propiedades evaluadas, mostrando una marcada variación de las mismas con los distintos agregados de NCA. A medida que se aumentó la cantidad de NCA, las películas exhibieron menor afinidad por el agua. Por otra parte, se determinaron las propiedades mecánicas de las películas observando que las mismas obtuvieron mayor resistencia y menor elongación conforme al agregado de NCA. Se concluyó el trabajo afirmando que mediante la incorporación de una cantidad específica de refuerzos, puede ser lograda una variación muy marcada en las propiedades de las películas formadas, optimizando así sus

características, haciéndolas muy adecuadas para su utilización en distintas aplicaciones.

Palabras clave: Proteínas de soja; almidón; nanocristales; películas

Abstract

Soy protein isolate (SPI) films reinforced with starch nanocrystals (SNC) were developed by simple casting method. The films were transparent and homogeneous. The opacity and degree of crystallinity increased with the amount of nanocrystals. Moisture content, total soluble matter and swelling in water were evaluated, showing a marked effect on SNC additions. As the amount of SNC increased, the films exhibited lower affinity for water. Moreover, mechanical properties were determined showing that SPI-SNC reinforced films became more resistant and less elongable as SNC amount increased. With the incorporation of a considerable amount of reinforcements, a marked variation was observed in these properties, thus optimizing its characteristics, making them very suitable for the utilization in different applications.

Keywords: Soy protein; Starch; Nanocrystals; Films

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología aplicada a polímeros (nano-compuestos) representa un gran área multidisciplinaria donde, entre otros temas, se estudia el diseño, fabricación, elaboración y aplicación de materiales poliméricos modificados a partir de la incorporación de partículas y / o dispositivos que tengan una o más dimensiones en el orden de los 100 nm o menos.

La obtención de propiedades optimizadas en el material nanocompuesto que no tienen los materiales que lo componen individualmente y/o que no son alcanzables por la suma simple de sus propiedades, hace referencia al efecto sinérgico producto de la combinación de matriz y refuerzo. El factor clave para la aparición de efectos sinérgicos es la existencia de una interface matriz-refuerzo con propiedades físicas propias. Es debido a la muy alta relación superficie/volumen que los nanomateriales poseen (por ser de tamaño tan pequeño), que su incorporación en matrices poliméricas conduce a materiales compuestos con excelentes propiedades en comparación con los microcompuestos convencionales sin detrimentos en la densidad, transparencia y capacidad de procesamiento de las películas (Gao, Dong, Hou, & Zhang, 2011)

En la actualidad, los nanorefuerzos más estudiados y utilizados son los que integran el grupo de los particulados cuyos integrantes principales representan los nanocristales formados a partir de polisacáridos. Es debido a la naturaleza semicristalina de estos materiales (celulosa, almidón, quitina), que nanorrefuerzos cristalinos pueden ser obtenidos a partir de ellos. En particular, las excelentes propiedadesmecánicas, capacidadde refuerzo, abundancia, bajo peso, biodegradabilidad

y el gran área de superficie (varios cientos dem²/g) hacen de los nanocristalesde celulosa y almidón candidatos idealespara el procesamiento depolímerosnano-compuestos inclusive en bajas concentraciones(Chen, Lawton, Thompson, & Liu, 2012; Pires, Neto, Alves, Oliveira, & Pasquini, 2013). Cuando nanocristales producidos a partir de fuentes de características polares como lo son los polisacáridos se utilizan como nano-refuerzos en materiales a base de almidón o proteínas las estructuras químicas de la matriz y el relleno son similares. Estas similitudes estructurales promueven la buena miscibilidad y la fuerte adhesión interfacial entre la carga de nanocristales y la matriz (Lin et al., 2011). Estas interacciones se traducen en las mejoras observadas en propiedades fundamentales de las películas como las descriptas anteriormente. Este efecto es atribuido a la creación de fuertes interacciones no sólo entre los nanocristales, sino también entre la carga y la matriz.

2. Parte experimental

2.1. Preparación de las películas SPI-NCA

Se procedió a la síntesis de los NCA mediante una hidrólisis ácida de almidón nativo de maíz. Para esto, se realizó una dispersión acuosa de 22 g de almidón en 150 mL de una solución 3,16 M de H₂SO₄. La reacción transcurrió durante 5 días a 40 °C y 100 rpm. Para la purificación los nanocristales, se procedió al lavado exhaustivo de los mismos con agua hasta obtener pH neutro. Luego, se los sonicó en un volumen conocido de agua y se los almacenó en heladera con unas gotas de cloroformo para evitar el crecimiento bacteriano. Una vez obtenida la dispersión acuosa de NCA, se procedió a la

preparación de las películas SPI-NCA. Estas fueron obtenidas por el método de "casting", para lo cual se dispersó 0,25 g de SPI en 30 mL de agua y se agregó 100 µL de glicerol (plastificante) (50 % m/m respecto de SPI). Esta dispersión se agitó por 30 min y se agregó la cantidad necesaria de la dispersión de NCA en agua. Se prepararon películas con 0, 2, 5, 10, 20 y 40 % (masa de NCA con respecto a la masa de SPI) de NCA. Antes de realizar el agregado, se agitó la dispersión de NCA por 30 min y se sonicó por 30 min más. Una vez agregado el nanorefuerzo, se agitó la dispersión por 30 min para luego volcarla en cápsulas plásticas de petri de 9 cm de diámetro y puestas a secar en estufa a 50 °C por 8 horas. Una vez secas, las películas fueron retiradas del fondo de las cápsulas y almacenadas a 25°C y 50% HR para su posterior caracterización.

2.2. Opacidad de las películas

La opacidad (O) permite evaluar el grado de transparencia de las películas. Para su determinación se realizó la curva espectral de cada película cortada de 2,5 cm de largo por 1 cm de ancho y ubicada dentro de una cubeta de cuarzo. Se utilizó una cubeta vacía como referencia. El valor de opacidad se determinó calculando el área bajo la curva integrando el espectro de absorción obtenido en el rango visible (400-800 nm). Al valor de las áreas se las normalizó dividiéndolas por el espesor de cada película. Luego, la opacidad se calculó como:

$$O = A / e \tag{1}$$

donde A es el área bajo la curva espectral y e es el espesor de la película.

El valor de opacidad fue determinado por triplicado para todas las películas.

2.3. Contenido de humedad y materia soluble total

El contenido de humedad (MC) se determinó de acuerdo con un método descrito en literatura (Rhim et al., 1998). Porciones de las diferentes películas fueron pesadas (W₀) en placas de vidrio,

secadas en un horno a 110 °C durante 24 h y pesadas nuevamente (W_i). El contenido de humedad de cada película se determinó por cuadruplicado según la ecuación (2).

$$MC = (W_0 - W_i) / W_0 \times 100$$
 (2)

La cantidad de materiasoluble total (TSM) se determinó de acuerdo con un método descrito en literatura (Rhim et al., 1998). Cuatro muestras pesadas de cada película fueron sumergidas en vasos de precipitados conteniendo 30 ml de agua destilada. Los vasos de precipitados fueron almacenados en una cámara a 25 °C durante 24 h con agitación ocasional. La materia insoluble fue separada a continuación, secada en un horno a 110 °C durante 24 h y pesada (W_f). Los valores de TSM fueron determinados por cuadruplicado por medio de la ecuación (3). Las masas de materia seca inicial necesarias para los cálculos de TSM se obtuvieron a partir de las mediciones de MC para un trozo de película de igual masa (W_i).

$$TSM = [(W_i - W_f) / W_i] \times 100$$
 (3)

2.4. Índice de hinchamiento

El índice de hinchamiento (S) describe la capacidad de absorción de agua de las películas. Esta propiedad fue determinada mediante la inmersión de masas conocidas de cada película en 30 ml de agua destilada a temperatura ambiente durante 30 min. Se midió la variación de peso entre el estado hinchado y el estado seco. Las películas se secaron superficialmente con papel absorbente para eliminar el exceso de agua antes de cada pesada. Los valores de S fueron determinados por triplicado según la ecuación 4, donde mh y mi representan las masas del estado hinchado e inicial, respectivamente.

$$S = [(m_h - m_i) / m_i] \times 100$$
 (4)

2.5. Permeabilidad al vapor de agua

Se determinó la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de cada película siguiendo el método del desecante descripto por la norma ASTM E96-10 (ASTM Standard (E96-10), 2010). Para ello se colocaron las películas en una cámara de humedad a 25 °C y 75 % HR por un período de 2 días hasta alcanzar el equilibrio. Luego se determinó el espesor de las mismas. Posteriormente, estas películas fueron fijadas sobre cápsulas de aluminio de dimensiones fijadas por la norma, las cuales contenían CaCl₂ anhidro (secado a 180 °C por 24 hs) en su interior y selladas con grasa siliconada. El desecante quedó separado del ambiente por la película fijada a 0,5 cm del mismo. Estas cápsulas fueron pesadas e introducidas en una cámara de humedad controlada a

las mismas condiciones en las cuales fueron acondicionadas previamente las películas. Se registró la variación de la masa del sistema completo en función del tiempo cada una hora hasta alcanzar 9 mediciones. Estos valores se representaron como la variación de la masa en función del tiempo obteniéndose un gráfico de características lineales del cual se extrajo el valor de su pendiente. La trasmisión del vapor de agua se calculó como:

$$WVT = f/A \tag{5}$$

donde f es el valor de la pendiente y A es el valor del área de la superficie expuesta de la película.

Luego se calcula la permeabilidad como:

$$WVP = WVT \times e / S \times (RH1-RH2) \times 3600$$
 (6)

donde *e* es el espesor de la película, *S* es el valor de la presión de vapor del agua a 25 °C y *(RH1-RH2)* es la diferencia entre las humedades relativas entre el exterior e interior de la cápsula. Los valores de WVP fueron determinados por triplicado para todas las películas.

2.6. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas fueron determinadas mediante ensayos de tracción. Para ello, las diferentes películas recortadas en rectángulos de 25 x 100 mm fueron sometidas a deformaciones controladas obteniendo el registro de las curvas tensión-deformación obtenidas para cada muestra. A partir de estas curvas, se determinaron la resistencia a la tracción (TS) (tensión máxima soportada por el material), la elongación al quiebre (EB) (elongación máxima soportada por el material

previo a la rotura del mismo) y el módulo de Young (E) (resistencia inicial a la deformación) según una norma ASTM (ASTM Standard (D882-02), 2002). Estos ensayos fueron realizados en un instrumento de testeo universal Instron (modelo 3342, Norwood, MA, EE.UU.) equipado con una célula de 500 N de capacidad. Se utilizó una separación inicial de 100 mm y una velocidad de la cruceta de 1 mm/s. Estos ensayos se realizaron por cuadruplicado.

2.7. Microscopías

Las diferentes cámaras y microscopios que se han utilizado en este trabajo para estudiar las características superficiales de las películas son: Cámara digital Cannon 14 Megapixeles, Microscopio óptico Shimadzu (Máxima magnificación: 1000x), Microscopio confocal Olimpus Lext 3D Measuring Laser Microscope. Laser de 405 nm y 10 nm de preseción en Z y Microscopio electrónico de barrido (SEM) FE-SEM Σigma.

2.8. Difractometría de rayos X

Se tomaron espectros de difracción de rayos X en un difractómetro Philips PW 1710/01 con radiación de Cu Kalfa (1,54 A) (FAMAF-UNC).

2.9. Dispersión de luz dinámica (DLS)

Se determinaron los tamaños de los nanocristales utilizando dispersión de luz dinámica (DLS) en un equipo Beckman Coulter Dels Nano C.

3. Resultados y discusión

3.1. Síntesis y caracterización de los nanocristales de almidón (NCA)

Para la obtención de nanocristales a partir de almidón nativo, es necesario aislamiento de la región cristalina (mayoritariamente amilopectina). Esto puede ser logrado mediante unahidrólisis ácida usando ácidoclorhídrico osulfúrico. Se cree quea temperaturas inferiores ala temperatura de gelatinización, las moléculas de ácidoatacanpreferentementelasregionesamorfasdelgránulo(Jenki ns and Donald, 1997), por lo que estas regionesson hidrolizadas másrápidamentegue las regiones cristalinas (Wang et al., 2003). Para poner a punto la preparación, se ensayaron diversas condiciones de hidrólisis llegando a la conclusión que los mejores resultados fueron los descriptos en la sección 2.1. Luego de llevada a cabo la reacción se observó la presencia de un particulado de color blanco en suspensión. Estos NCA obtenidos fueron lavados exhaustivamente con 5 porciones de 300 mL de agua destilada hasta obtener pH neutro. Luego, se los sonicó en un volumen conocido de agua y se los guardó en heladera (4 °C) con cinco gotas de cloroformo para evitar el crecimiento bacteriano. Una vez preparados los NCA, se procedió a caracterizarlos desde el punto de vista morfológico y estructural. Con el objetivo de determinar el tamaño de los NCA preparados, se procedió a realizar dispersión de luz dinámica (DLS) sobre una dispersión de NCA. Este ensayo nos permitió determinar que los NCA poseen una alta polidispersidad de tamaño midiendo un índice de polidispersidad de 0,173. Por otro lado se determinó que el tamaño promedio de los NCA fue

de 35 nm. La proporción de partículas de cada tamaño puede ser observada en la Figura 1.

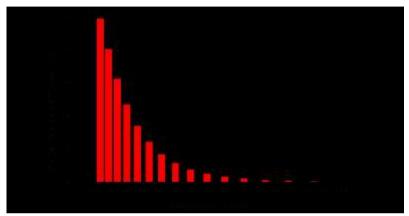


Figura 1. Diámetros de los NCA preparados.

Para poder observar los NCA y de esta forma poder verificar los tamaños determinados y analizar la morfología de los mismos, se procedió a la utilización de diferentes microscopios. Las imágenes obtenidas son mostradas en las Figuras 2 y 3

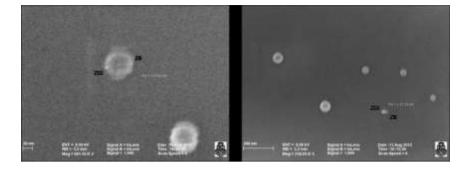


Figura 2. Micrografías SEM de los NCA preparados

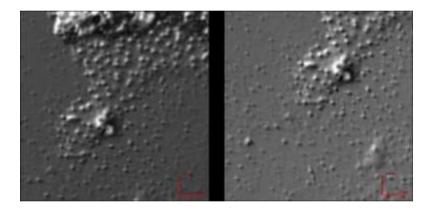


Figura 3. Fotografías de los NCA preparados tomadas con un microscopio confocal.

Mediante las imágenes obtenidas se pudo evidenciar los tamaños determinados por DLS. Además se pudo observar que los nanocristales preparados poseen forma esférica.

El carácter cristalino de los NCA pudo ser determinado mediante difractometría de rayos X. Se realizó la difractometría sobre una muestra de almidón nativo de maíz y sobre los NCA preparados. Los difractogramas obtenidos se muestran en la Figura 4.

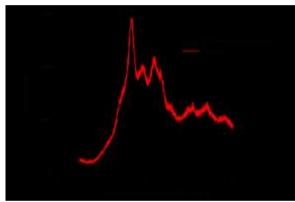


Figura 4.Difractogramas de rayos X de almidón nativo y de NCA.

Observando los difractogramas obtenidos, se puede identificar para el almidón una estructura típica semicristalina polimórfica tipo A característica de almidones provenientes de cereales. Por otro lado, los NCA muestran un patrón similar al del almidón pero con presencia de picos cristalinos más marcados e intensos evidenciando el mayor carácter cristalino de los mismos en comparación con el almidón nativo provenientes de la mayor proporción de amilopectina presente.

3.2. Preparación de las películas SPI-NCA

Una vez preparados y caracterizados los NCA, se procedió a sintetizar las películas de SPI nanoreforzadas con NCA (SPI-NCA). Las películas fueron obtenidas por el método de "casting" utilizando glicerol como plastificante. Se prepararon películas con 0, 2, 5, 10, 20 y 40 % m/m (respecto a la masa de SPI) de NCA. Las películas obtenidas mostraron una superficie homogénea y una coloración amarillenta siendo en general transparentes pero haciéndose más opacas a medida que se aumentó la cantidad de NCA agregado. Las películas fueron fotografiadas para mostrar el aspecto macroscópico de las mismas (Figura 5).

INVESTIGATES DE ALMIDON ELLAS SPI - NANCO NANOCRISTALES DE ALMIDOS PINS SPI - NANCO NANOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NANCO NANOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NANCO NANOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NANOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN AMOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN ANOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN NOCRISTALES DE ALMIDON ELLAS SPI - NAN	NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NA "XX - TALLIS DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRIS NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRI NAMOCRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NAMOCRI	CUSTALES DE ALMIDÓN TLMS SPI - NANOCRIST CRISTALIS DE AMIDÓN FILMS SPI - MANCRIST RISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NANOCRIST RISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NANOCRI RISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NANOCRI
OU I I LA/E DE ALANIDÓN TILMS SPI - NANOCRISTA OCRISTALES DE ALANIDON FILMS SPI - NANOCRISTA DOCRISTALES DE ALANIDON FILMS SPI - NANOCRISTA DERESTALES DE ALANIDÓN FILMS SPI - NANOCRISTA CRISTALES DE ALA	CRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NA NOCE CRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NANOC CRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SPI - NANOC	CRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SIFI - MANOCRIST CRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SIFI - NAHOCRIST CRISTALES DE ALMIDÓN FILMS SIFI - NAHOCRIST

Figura 5. Apariencia de las películas variando los agregados de NCA (0 a 40% m/m)

3.3. Caracterización estructural y superficial de las películas SPI-NCA

Desde el punto de vista estructural, la variación en la cantidad de NCA agregados a las diferentes películas se vio reflejada en un aumento en la cristalinidad medida de las mismas. Analizando los difractogramas de rayos X obtenidos para las distintas películas, pudieron ser observadas las características amorfas de la película proteica sin agregado de NCA (determinado por la presencia de una joroba a 20°). A su vez, también fue observado un aumento de la cristalinidad de las películas (determinada a partir de la aparición de picos

correspondientes a fases cristalinas) causado por un aumento en la cantidad de NCA presentes. La Figura 6 muestra los difractogramas obtenidos para las películas.

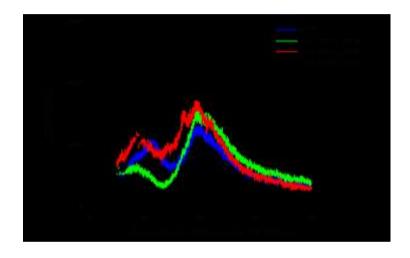


Figura 6. Difractogramas de rayos X de las películas con 0, 10, 20 y 40 % de NCA.

Con el fin de determinar la morfología estructural de la superficie de las películas, se las observó mediante la utilización de microscopios ópticos, de microscopio confocal y mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Las figuras 7, 8 y 9 muestran los resultados obtenidos.

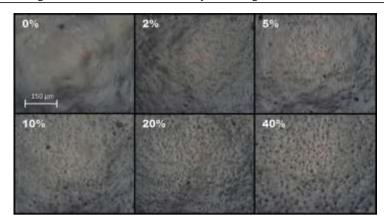


Figura 7.Imágenes de la superficie de las películas con 0, 2, 5, 10, 20 y 40% de NCA tomadas con un microscopio óptico de 1000x.

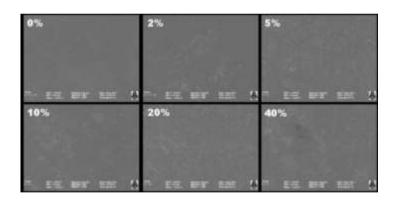


Figura 8.Imágenes de la superficie de las películas con 0, 2, 5, 10, 20 y 40% de NCA tomadas mediante microscopía SEM.

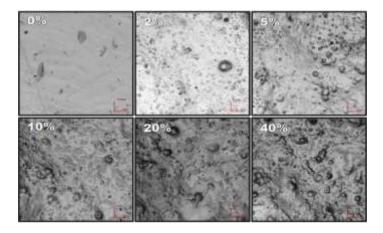


Figura 9. Imágenes de la superficie de las películas con 0, 2, 5, 10, 20 y 40% de NCA tomadas con un microscopio confocal a 2132x.

En las figuras mostradas anteriormente, se puede apreciar que la magnificación va en aumento de acuerdo al orden de aparición de las mismas (Figura 7 a 9). En las imágenes obtenidas, se pudo observar el incremento de la cantidad de estructuras sólidas presentes en las muestras, conforme a como fueron aumentando las cantidades agregadas en la etapa de preparación. Estas estructuras sólidas observadas poseen un tamaño que ronda en el orden de unas pocas micras. Como fue descripto anteriormente, el tamaño promedio de los NCA es de 35 nm por lo que concluimos que las estructuras observadas corresponden a un pequeño porcentaje de NCA de tamaño mucho mayor al promedio, o bien a la formación de agregados que pueden haberse formado en la etapa de preparación de las

películas por una dispersión poco eficaz de los NCA. Vale aclarar que los nanocristales de menor tamaño no pueden ser observados, no por un impedimento en la amplificación de los microscopios utilizados, sino porque se encuentran ocluidos en la matriz proteica, la cual impide una buena observación de los mismos.

3.4. Caracterización física de las películas SPI-NCA

Para la caracterización física de las películas, en un primer momento se procedió a determinar los valores de opacidad de las mismas. Para todos los casos se observó una alta transparencia, siendo más opacas a medida que se aumenta la cantidad de NCA agregados. De acuerdo a esto, el mayor cambio de opacidad (cambio significativo) se observó variando de 2% a 5% la cantidad de NCA agregados. Los valores de opacidad medidos se muestran en la Tabla 1

Películas	OPACIDAD (UA/μm)		
SPI	1,293 ± 0,112 ^A		
SPI-NCA 2%	1,021 ± 0,142 ^A		
SPI-NCA 5%	2,137 ± 0,003 ^B		
SPI-NCA 10%	2,293 ± 0,155 ^B		
SPI-NCA 20%	2,377 ± 0,310 ^B		
SPI-NCA 40%	2,680 ± 0,125 ^B		

Datos seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ($P \ge 0.05$) de acuerdo al test de Tukey

Tabla 1. Opacidad de las películas SPI-NCA

Luego, las películas fueron caracterizadas determinando propiedades donde el agua tiene un rol preponderante. Estas propiedades son el índice de hinchamiento en agua (S) en función del tiempo, el porcentaje de humedad (MC), la cantidad de materia soluble total (TSM) y la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las mismas. En la Figura 10 se muestran los resultados de S en función del tiempo.

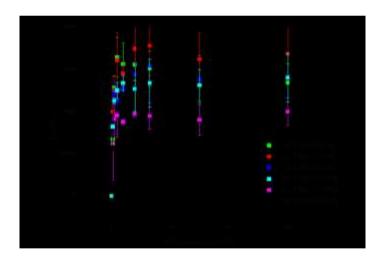


Figura 10. Índices de hinchamiento (S) en función del tiempo de las diferentes películas.

En el grafico de S en función del tiempo se puede observar claramente que todas las películas se hinchan hasta su máxima capacidad en tiempos relativamente cortos (2 minutos como máximo) y una vez alcanzado este equilibrio, los hinchamientos se mantienen en el tiempo. Esta última afirmación se cumple para todas las películas con excepción de la película SPI sin agregado de NCA. Para esta película se observó que superado los primeros minutos, los valores de hinchamiento comienzan a descender. Este efecto no es producido por una disminución del hinchamiento real de la película sino por la solubilización parcial de la misma en el agua al momento del ensayo. Esta solubilización produce una disminución en la masa determinada luego de la inmersión en agua, lo que se ve reflejado en una disminución en el valor de S. Este efecto se da solo en esta película ya que como se puede ver en la Tabla 2, esta es la más soluble en agua.

Comparando los hinchamientos máximos de las películas se pueden observar tres grupos de películas con comportamiento diferente. En este análisis se excluirá la película sin agregados de NCA (0%) por el motivo explicado anteriormente. Se observó que la película que más se hincha es la que posee menor cantidad de NCA agregados (2%). Siguiendo con la tendencia, el segundo grupo de películas en magnitud de hinchamiento máximo fueron las películas con 5 y 10% de NCA y por último las películas que menos se hincharon fueron las que poseían mayor cantidad de NCA agregados (20 y 40% de NCA). Este comportamiento refleja la disminución del hinchamiento a medida que aumenta la cantidad de nano-refuerzo agregado, logrando una disminución del mismo a la mitad aproximadamente para las películas con mayor agregado de NCA respecto a las de menor agregado. En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos para MC y TSM.

Películas	MC (%)	TSM (%)
SPI	33,56 ± 0,39 ^A	37,84 ± 2,33 ^A
SPI-NCA 2%	$35,24 \pm 1,08$ ^A	$31,35 \pm 2,09$ ^B
SPI-NCA 5%	33,11 ± 1,69 ^A	21,63 ± 1,24 ^C
SPI-NCA 10%	28,28 ± 1,35 ^B	24,71 ± 3,72 ^C
SPI-NCA 20%	$27,27 \pm 0,67$ B	$22,84 \pm 2,34$ ^C
SPI-NCA 40%	24,02 ± 0,20 ^C	20,09 ± 0,54 ^C

Datos seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P≥0.05) de acuerdo al test de Tukey

Tabla 2. Contenido de humedad (MC) y materia soluble total (TSM) de las diferentes películas.

En la tabla 2, se puede observar claramente que tanto MC como TSM disminuyen a medida que aumenta la cantidad del refuerzo agregado. Para el caso de MC, si bien la disminución obtenida es muy marcada, se observa en las películas con grandes agregados de NCA (mayores al 10%), mientras que para el caso de TSM, una disminución muy importante (cercana al 43%) es alcanzada con el agregado de bajas cantidades de NCA (5% de NCA).

Para finalizar la caracterización física, se procedió a determinar la WVP utilizando el ensayo descripto por la norma ASTM (ASTM Standard (E96-10), 2010).

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de WVP.

WVP (g / Pa s m)	
4.3 ± 0.2 ^A	
4.8 ± 0.3 ^A	
3.9 ± 0.1^{B}	
3.6 ± 0.1 ^C	

Tabla 3. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas con 0, 5, 20 y 40% de NCA.

En la determinación de WVP, se logró observar que al igual que las propiedades medidas anteriormente, la WVP también disminuye a medida que aumenta la cantidad de NCA, en especial cuando el agregado es de magnitud importante (20% de NCA).

El análisis en conjunto de todas estas propiedades físicas cuya característica común y principal es que interviene el rol del agua, nos permitió concluir que la presencia de NCA minimiza la afinidad de la matriz proteica por el agua. La explicación de este efecto, viene dada de acuerdo a la compatibilidad existente en la interface matriz proteica / nano-refuerzo. El carácter polar similar de ambos componentes (materiales hidrofílicos) conduce probablemente a una fuerte adhesión entre la proteína y el almidón, debido a fuertes interacciones presentes en las interfaces (enlaces puente hidrógeno, entre otras) dejando minimizadas las interacciones de la matriz con el solvente acuoso. Este efecto es más marcado a medida que mayor es el número de interacciones que ocurren entre la matriz y el nano-

refuerzo, es decir mientras mayor es la cantidad de nanorefuerzo presente.

Por otro lado, la gran magnitud de los cambios observados radica en el hecho de que la interface existente es extremadamente extensa, producto del pequeño tamaño del refuerzo agregado, por lo que las interacciones toman mayor protagonismo. El mismo efecto se encuentra descripto en bibliografía para películas de pululano (Kristo y Biliaderis, 2007). Debido a este efecto es que la aplicación de esta metodología de modificación a partir de la adición de NCA a las matrices proteicas, nos permite lograr la obtención de películas más resistentes al agua, menos hinchables y menos permeables al vapor de agua.

3.5. Caracterización mecánica de las películas SPI-NCA

Luego de la caracterización física, las películas fueron caracterizadas mecánicamente mediante ensavos de tracción siguiendo la metodología descripta por la norma ASTM (ASTM Standard (D882-02), 2002). Para ello, las diferentes películas recortadas en rectángulos de 25 x 100 mm fueron sometidas a estiramientos mediante la utilización de un Instrumento de Testeo Universal registrando la resistencia que ejerce la película y obteniendo finalmente el registro de las curvas tensióndeformación para cada muestra. A partir de estas curvas, se determinaron la resistencia a la tracción (TS), la elongación al quiebre (EB) y el módulo de Young (E). Los resultados obtenidos son mostrados en la Tabla 4 A partir de estos resultados, se puede deducir que a medida que se aumenta la cantidad de nano-refuerzo en las películas, el material toma características más rígidas ya que se observa un aumento en TS y E. Este hecho se explica del mismo modo que en el caso anterior. Las grandes

interacciones existentes entre la matriz proteica y el refuerzo, crean gran cohesión en la película, haciendo que presente mayor resistencia a la tracción, necesitando más energía para poder ser estiradas. De acuerdo a esto, es que en consecuencia se alcanza también una disminución en los valores de EB, tornando el material menos flexible.

Películas	TS (MPa)	EB (%)	E (Mpa)
SPI	1.10 ± 0.20 ^A	65.95 ± 17.76 ^A	26.89 ± 11.21
SPI-NCA 2%	1.42 ± 0.22 ^A	53.79 ± 4.02 ^{AB}	55.31 ± 4.78
SPI-NCA 5%	1.34 ± 0.07 ^A	58.67 ± 9.88 ^A	39.42 ± 9.93
SPI-NCA 10%	1.79 ± 0.27 ^A	32.17 ± 8.00 ^{BC}	71.05 ± 13.01
SPI-NCA 20%	2.61 ± 0.26 ^B	41.89 ± 8.61 ABC	102.23 ± 14.93 ^C
SPI-NCA 40%	5.08 ± 0.48 ^C	21.35 ± 10.54 ^C	310.34 ± 21.55 ^D

Tabla 4. Resistencia a la tracción (TS), elongación al quiebre (EB) y módulo de Young (E) de las películas

Datos seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P≥0.05) de acuerdo al test de Tukey

CONCLUSIONES

En este trabajo, se han sintetizado nanocristales a partir de la hidrólisis ácida de almidón de maíz. Los mismos fueron caracterizados y utilizados como material de refuerzo para películas de SPI. Se evaluaron propiedades físicas, estructurales y mecánicas de las películas de acuerdo a la cantidad del refuerzo agregado. Por otra parte, los distintos agregados de NCA fueron evidenciados mediante la caracterización superficial de las películas.

Respecto a la metodología empleada de optimización v mejoramiento de las propiedades deficientes de películas proteicas, parece brindar buenos resultados ya que las mejoras obtenidas mediante la utilización de NCA como nano-refuerzos de las películas de SPI en sus propiedades mecánicas (dadas por un incremento en la resistencia del material de un 462% en detrimento de una disminución de un 68% de la elongación), v físicas (dadas por una disminución del 50% en el hinchamiento y del 43% en la cantidad de materia soluble en agua), hacen posible la utilización de este material para variadas aplicaciones, las cuales resultan inviables a partir del material original (películas SPI). En particular, la utilización de estas películas como material de recubrimiento de alimentos parece ser la aplicación más apropiada ya que los requerimientos que se necesitan para la misma como ser inocuo, transparente, inodoro e insípido, resistente en estado húmedo, no hinchable, impermeable al vapor de agua y oxígeno, y resistente a la tracción pueden ser satisfechos completamente por estas películas, sumado al hecho de presentar características

amigables con el medio ambiente por poseer en su totalidad componentes biodegradables.

BIBLIOGRAFÍA

ASTM Standard (D882-02). 2002. "'Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting'". ASTM International West Conshohocken, PA.

ASTM Standard (E96-10). 2010. ASTM Standard. 2010. "Standard test methods for water vapor transmission of materials" (E96M-10). West Conshohocken, PA

Chen D, Lawton D, Thompson MR, Liu Q. 2012. Biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals derived from potato peel waste. Carbohydr. Polym., 90: 709–716.

Gao W, Dong H, Hou H, Zhang H. 2011. Effects of clays with various hydrophilicities on properties of starch–clay nanocomposites by film blowing. Carbohydr. Polym., 88: 321–328.

Jenkins PJ, Donald AM. 1997. The effect of acid hydrolyis on native starch granule structure. Starch 8: 262–267. Kristo E, Biliaderis CG. 2007. Physical properties of starch nanocrystal-reinforced pullulan films. Carbohydr. Polym., 68: 146–158.

Lin N, Huang J, Chang PR, Anderson DP, Yu J. 2011. Preparation, modification, and application of starch nanocrystals in nanomaterials: a review. J. Nanomater. 1–13.

Pires W, Neto F, Alves H, Oliveira N, Pasquini D. 2013. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agroindustrial residue – Soy hulls. Ind. Crop. Prod., 42: 480–488.

Rhim JW, Gennadios A, Weller CL, Cezeirat C, Hanna MA. 1998. Soy protein isolate-dialdehyde starch films. Ind. Crop. Prod., 8: 195–203.

Smith JS, Bedrov D, Smith GD. 2003. A molecular dynamics simulation study of nanoparticle interactions in a model polymer-nanoparticle composite. Compos. Sci. Technol., 63: 1599–1605.

Wang YJ, Truong VD, Wang L. 2003. Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. Carbohydr. Polym., 52: 327–333.

Agradecimientos

Los autores agradecen a CONICET, FONCyT and SECyT (UNC) por el soporte financiero suministrado. A. González agradece la beca proporcionada por CONICET.

UTILIZACIÓN DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES COMO RECUBRIMIENTO ACTIVO CAPAZ DE CAPTAR Y RETENER COLESTEROL

González A.⁽¹⁾, Alvarez Igarzabal C.I.⁽²⁾

(1) Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba (ICYTAC-CONICET). Juan Filloy s/n, Córdoba, Argentina.

⁽²⁾ Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. IMBIV-CONICET. Medina Allende y Haya de la Torre, Córdoba, Argentina.

agustingonzalez24@gmail.com

Resumen

En este trabajo se exhibe el desarrollo de un envase activo derivado de materiales provenientes de la naturaleza. Para esto, se prepararon películas de proteínas de soja reforzadas con nanocristales de almidón a las cuales se les agregó βciclodextrina (β-CD) como agente activo. Se logró demostrar que las películas preparadas fueron capaces de secuestrar colesterol cuando se las pone en contacto con alimentos ricos en este analito, tal como la leche. Este efecto fue más marcado a medida que aumentó la cantidad de β-CD en las películas. Este comportamiento demuestra la versatilidad que las películas de proteínas de soja modificadas pueden adquirir. Esta investigación establece un precedente importante a tener en cuenta para la sustitución de los plásticos tradicionales a base de petróleo por materiales amigables con el medio ambiente en aplicaciones tales como revestimiento o contenedores activos de alimentos.

Palabras clave: Proteínas de soja; nanocristales; películas, colesterol, empaque activo.

Abstract

The development of an active packaging derived from natural based-materials is presented in this research work. In this, β -cyclodextrins (β -CD)-containing soy protein-starch nanocrystals films (SPI-SNC) were prepared. It was demonstrated that the prepared films were able to sequester cholesterol when brought into contact with cholesterol rich food such as milk. This effect was more marked as the amount of β -CD into the films increased. This behavior demonstrated the versatility that modified SPI films can acquire. This research establishes an important precedent to consider the replacement of synthetic petroleum-based plastics by biodegradable and environmental friendly materials useful in applications such as active food coating or active packaging containers.

Keywords: Soy protein; nanocrystals; films, cholesterol, active packaging.

INTRODUCCIÓN

El "envasado activo de alimentos" representa una de lasprincipalesáreas de investigaciónenel envasado de alimentos. Esta rama se ha centrado enel desarrollo de nuevastécnicas capaces demejorar las propiedades deconservación y calidad de los alimentosen función de suinteraccióncon el empague. Un envase activo de alimentos representa el grupo de los materiales destinados a prolongar la vida útil o a mantener o mejorar el estado y la calidad del alimento envasado (Unión Europea, 2009). Estos envases se encuentran diseñados para incorporar intencionalmente componentes que puedan liberar sustancias en el alimento envasado o en su entorno o puedan absorber sustancias del alimento o de su entorno. Entre los sistemas de envasado activo absorvedores de sustancias de los alimentos o de su entorno, se encuentran los absorvedores de oxígeno, dióxido de carbono, etileno, agua, olores y sabores desagradables o sustancias indeseables. Dentro de este grupo, los más implementados a nivel comercial en la actualidad son los absorvedores de oxígeno, humedad y etileno, alcanzando el 35, 16 y 47%, respectivamente (Restuccia et al., 2010). Debido a que en bibliografía se presenta una amplia gama de materiales activos absorvedores de gases, es que en este trabajo se centró la atención en un sistema que sea capaz de absorber sustancias indeseables contenidas en los alimentos, en particular, el colesterol.

Una dieta baja en colesterol es recomendada para prevenir complicaciones médicas como arteroesclerosis, trombosis o enfermedades cardiovasculares, las cuales son la primera causa de muerte en el mundo según la Organización Mundial de la Salud.

Un sistema de envasado activo con la capacidad de captar y retener colesterol, reduciría la cantidad del mismo desde el momento del envasado hasta el consumo del producto. Este sistema elimina la necesidad de procesos de separación de colesterol o grasas, previo al envasado, lo cual representaría beneficios económicos y prácticos a nivel industrial.

En literatura existen reportes de sistemas capaces de retener colesterol, basados en la utilización de ciclodextrinas. A nivel de desarrollo científico se encuentran reportes de sistemas capaces de disminuir la concentración de colesterol en alimentos como leche (Alonso et al., 2009; López-de-dicastillo et al., 2011; Tahir et al., 2013), manteca(Jung et al., 2005; Kim et al., 2006), crema(Shim et al., 2003), yema de huevo(Chiu et al., 2004), y queso(Bae et al., 2008; Han et al., 2008), sin embargo, ninguno de estos sistemas se encuentra aún en proceso de desarrollo a nivel comercial. Estos sistemas pueden ser encontrados en forma de polvos (Alonso et al., 2009; Kim et al., 2006; Shim et al., 2003), esferas (Chiu et al., 2004) o inmovilizados sobre soportes sólidos insolubles (Tahir and Lee, 2013; Tahir et al., 2013). También se han desarrollado sistemas basados en películas (López-de-dicastillo et al., 2011), sin embargo, aún no han sido aplicados en películas biodegradables de base proteica.

Las ciclodextrinas (CD) son oligosacáridos cíclicos los cuales constan de seis (α -ciclodextrina), siete (β -ciclodextrina), ocho (γ -ciclodextrina) o más unidades de glucopiranosa unidas mediante enlaces alfa-(1,4). La β -CD muestra una estructura tridimensional de forma cónica de características hidrofílicas en su exterior y que posee una cavidad cilíndrica de 6 a 6,5 Å de diámetro de características hidrofóbicas. La cavidad hidrofóbica que la β -CD posee es capaz de formar complejos de inclusión

con una amplia gama de moléculas huésped orgánicas principalmente por medio de fuerzas débiles, tales como de Van der Waals, interacciones dipolo-dipolo, y enlaces puente hidrógeno, mientras que la superficie hidrofílica posibilita la disolución de la CD en agua lo que incrementa las posibilidades de utilización que la misma posee. El colesterol es una molécula apolar, la cual por su tamaño (cola de 5,42 Å de diámetro) es compatible con el tamaño de la cavidad de la β-CD. En la literatura es posible encontrar reportes de complejos de inclusión colesterol / β-CD en proporciones que van de 1:1 a 1:3 (Yamamoto et al., 2005). La principal fuerza impulsora para la formación del complejo es la liberación de moléculas de agua de la cavidad. Estas se ven reemplazadas por moléculas de colesterol presentes en la solución para alcanzar una asociación apolar-apolar entre el huésped y el receptor. Además, este reemplazo produce disminución de la tensión del anillo de la CD que resulta en un estado de energía más estable (López-dedicastillo et al., 2011).En general, en las aplicaciones en las cuales se utiliza CD en alimentos, se realiza el agregado directamente a soluciones acuosas para la posterior precipitación y separación de los complejos de inclusión, siendo estos pasos necesarios para la eliminación de los compuestos no deseados del alimento. La alternativa que se desarrolla en este trabajo contempla la incorporación de β-CD a una película para ser utilizada como capa interior en un envase contenedor de leche. De esta forma, este envase, tendría la capacidad de captar y retener el colesterol del alimento, reduciendo su concentración en el mismo. Utilizando esta estrategia, se elimina la necesidad de extraer los complejos de inclusión de la leche ya que los mismos quedarían soportados en el envase.

2. Parte experimental

2.1. Preparación de las películas SPI-NCA conteniendo β -CD

Para la preparación de las películas se procedió en un primer momento a la síntesis de los NCA mediante una hidrólisis ácida de almidón nativo de maíz. Para esto, se realizó una dispersión acuosa de 22 g de almidón en 150 mL de una solución 3,16 M de H₂SO₄. La reacción transcurrió durante 5 días a 40 °C y 100 rpm. Para la purificación los nanocristales, se procedió al lavado exhaustivo de los mismos con aqua hasta obtener pH neutro. Luego, se los sonicó en un volumen conocido de agua y se los almacenó en heladera con unas gotas de cloroformo para evitar el crecimiento bacteriano. Una vez obtenida la dispersión acuosa de NCA, se procedió a la preparación de las películas SPI-NCA. Estas fueron obtenidas por el método de "casting", para lo cual se dispersó 0,25 g de SPI en 30 mL de agua y se agregó 100 µL de glicerol (plastificante) (50 % m/m respecto de SPI). Esta dispersión se agitó por 30 min y se agregó la cantidad necesaria de la dispersión de NCA en agua. Se prepararon películas con 0, 5 y 20 % (masa de NCA con respecto a la masa de SPI) de NCA. Antes de realizar el agregado, se agitó la dispersión de NCA por 30 min y se sonicó por 30 min más. Una vez agregado el nanorefuerzo, se agitó la dispersión por 30 min para luegorealizar el agregado de las CD en polvo sobre la solución filmogénica. Se prepararon películas sin β-CD y con 0,05 g (14% respecto de la masa de SPI), 0,25 g (71,4% respecto de la masa de SPI) y 0,5 g (143% respecto de la masa de SPI) de β-CD. Posteriormente se agitó la solución por 30 min más y se colocó en cápsulas plásticas de petri de 9 cm de diámetro y puestas a secar en estufa a 50 °C por 8 horas. Una vez secas, las películas fueron retiradas del fondo de las cápsulas y almacenadas a 25°C y 50% HR para su posterior caracterización.

2.2 Ensayos de retención de colesterol de leche

Con el fin de disminuir la cantidad de colesterol de muestras de leche entera, se propuso poner en contacto 50 mL de leche con películas SPI-NCA que contenían β-ciclodextrinas (β-CD). En literatura existen referencias de sistemas similares de películas que contienen ciclodextrinas capaces de alojar en el interior de sus cavidades moléculas de colesterol y de esta forma producir la retención del mismo, disminuyendo la cantidad en el seno del alimento (Astray et al., 2009; López-de-dicastillo et al., 2011). Para esto, se procedió a la inmersión de las películas en agua destilada por 6 h con el objeto de retirar las CD que puedan no estar sujetas a la misma. Luego, las películas fueron secadas en estufa a 40 °C por 4 h y esterilizadas bajo lámpara UV por 20 min. Una vez realizado esto, se introdujo las películas de 32 cm² de superficie en un frasco de vidrio junto con 50 mL de leche entera "La Serenísima" con la precaución de que las mismas permanezcan completamente sumergidas en la leche. Estos ensayos fueron realizados con películas SPI-NCA conteniendo 5 y 20% de NCA. A su vez las cantidades de β-CD ensayadas fueron 0 g (película control); 0,05 g (14% m/m respecto a SPI); 0,25 g (72% m/m respecto a SPI) y 0,5 g (143% m/m respecto a SPI). Todas las películas fueron analizadas por duplicado. Los frascos fueron cerrados herméticamente, envueltos en papel aluminio para protegerlos de la luz y almacenados en heladera a 10 °C por 10 días. Este tiempo representa el mínimo período de interacción entre el envasado de la leche y su consumo. Luego de transcurrido este tiempo, se procedió a cuantificar las cantidades de colesterol de todas las muestras.

2.3. Ensayos de cuantificación de cantidad de colesterol en leche

La cuantificación de colesterol en leche se realizó siguiendo un procedimiento descripto en bibliografía (Rendón Marín y Pineda Orozco, 2010). Para esto, se realizó la saponificación de colesterol, una extracción y la posterior cuantificación por cromatografía gaseosa. Se pesaron 0,5 g de leche en un frasco de vidrio, posteriormente se adicionaron 14 mL de solución de KOH metanólica 1 M, se agitó durante 15 seg y se calentó a 60 °C por 15 min con agitación constante para favorecer la reacción de saponificación. Para la extracción, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se adicionaron 3 mL de aqua y 14 mL de hexano. Se aqitó nuevamente y se dejó reposar para posibilitar la separación de las fases. Se tomó la fase de interés en un vial para su invección en el cromatógrafo. Se utilizó un cromatógrafo de gases Varian 3900 CG con detector de ionización de llama con sistema autosampler. La columna utilizada fue una Varian Factor 4 VF-5 ms de 30 m de longitud por 0,32 mm de diámetro y 0,25 µm de espesor de film. La composición de la columna fue de 95/5 de metilsiloxano y fenil metil siloxano, respectivamente. El programa de temperatura utilizado partió de 150 °C, aumentando con una rampa de 8 °C / min hasta 280 °C por 5 min. Con este programa, el pico de colesterol se registra a los 20 min aproximadamente. La cuantificación se llevó a cabo por el método del estándar externo. Para esto, se realizó una curva de calibración con concentraciones conocidas de colesterol (0; 1,12; 2,24; 5,6; 16,8; 22,4; 33,6; 44,8 y 56 ppm) y se graficó el área correspondiente a los picos obtenidos en función de las concentraciones de las mismas.

Luego, a partir de la inyección de las muestras problema, se determinó el área del pico correspondiente al colesterol y se calculó su concentración a través de los datos obtenidos de la curva de calibración

3. Resultados y discusión

3.1. Preparación de las películas conteniendo β-CD

Para el desarrollo de las películas retenedoras de colesterol se utilizaron como base las películas SPI-NCA (proteína de soja nanocristales de almidón) desarrolladas previamente a este trabajo va que uno de los requerimientos consistía en que las películas tuvieran baja solubilidad en agua para mantener las CD soportadas sobre la misma y evitar de esta forma que las mismas sean liberadas a la leche. Debido a esto, se utilizaron las películas correspondientes con 5 y 20% de NCA (con respecto a la masa de SPI), siendo sus TSM 21,6% v 22,8%, respectivamente. Utilizando éstas como base, se prepararon películas sin β-CD y con 0,05 q (14% respecto de la masa de SPI), 0,25 g (71,4% respecto de la masa de SPI) y 0,5 g (143% respecto de la masa de SPI) de β-CD. El aspecto de las películas con β-CD fue similar al que no las contenía, aunque su opacidad fue aumentando a medida que mayor era el agregado de β-CD.

3.2. Ensayos de retención de colesterol de leche

Para los ensayos de retención de colesterol en leche, se procedió en un primer momento al acondicionamiento de las películas. Este acondicionamiento consistió en una inmersión en agua destilada y posterior secado en estufa con el objetivo de retirar las CD que puedan no estar sujetas a la misma. Trozos correspondientes a la mitad de las películas preparadas (de 32 cm²) fueron inmersos en leche entera la cual se encontraba contenida en frascos de vidrio esterilizados. Además de los frascos que contenían películas se dispusieron frascos con leche sin la presencia de películas. Los frascos fueron cerrados herméticamente, envueltos en papel aluminio para protegerlos de la luz y almacenados en heladera a 10 °C por 10 días. Un período de análisis de 10 días representa el tiempo mínimo de interacción que existe entre el alimento y el envase. En realidad, la leche comercial puede interaccionar hasta un mes con el envase, ya que este es el tiempo que transcurre por lo general entre el envasado y el vencimiento de la misma. Luego de los 10 días, se procedió a retirar las películas de los frascos de vidrio y a cuantificar el colesterol presente en cada muestra para determinar la disminución de colesterol en cada caso respecto a las muestras que no estuvieron en contacto con las películas.

Al momento de retirar las películas de los frascos se observó que las mismas se encontraban en perfecto estado de integridad estructural (figura 1).



Figura 1. Fotografía de las películas SPI-NCA conteniendo β -CD luego de permanecer en contacto con la leche por 10 días.

La cuantificación de colesterol en leche se realizó por el método del estándar externo mediante cromatografía gaseosa siguiendo un procedimiento descripto en bibliografía (Rendón Marín y Pineda Orozco, 2010). Para esto, se realizó una curva de calibración inyectando en el cromatógrafo de gases soluciones de concentración conocida de colesterol y graficando el área correspondiente a los pico obtenidos en función de las concentraciones de las mismas. La curva de calibración obtenida se muestra en la Figura 2.

Mediante el ajuste a una recta, se determinó la pendiente de 719,08 UÁrea/ppm y la ordenada al origen fue de -429,3161 UÁrea (unidades de Área).

Una vez realizado esto, se procedió a la determinación de colesterol en las muestras de leche. Para este propósito, se realizó la saponificación del colesterol, una extracción y la posterior cuantificación por inyección en un cromatógrafo de gases. El área del pico de colesterol de cada muestra fue determinada como un promedio de las áreas correspondientes de tres inyecciones. Esto fue realizado para evitar fluctuaciones producidas por el detector del equipo.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

No.	ation years' 2-50,4m 9.860		**********		
5.No.	er Programm	VML# -429,3161 719,0642	Standard Sirver 202,4274 V.21636		

Figura 2. Curva de calibración para soluciones de concentración conocidas de colesterol

Película	Volumen leche (mL)	Colesterol (ppm)	colesterol respecto a leche sin tratar (%)
-	50	$(4,7 \pm 0,1)$ ^A	-
SPI - NCA 5%	50	$(4,7 \pm 0,2)^{A}$	-0,50
SPI - NCA 20%	50	$(4,6 \pm 0,2)^{A}$	0,15
SPI - NCA 5% - β-CD 14%	50	$(4,6 \pm 0,4)^{A}$	1,31
SPI - NCA 20% - β-CD 14%	50	$(4,6 \pm 0,1)^{A}$	0,77
SPI - NCA 5% - β-CD 71%	50	$(3,7 \pm 0,2)^{B}$	20,10
SPI - NCA 20% - β-CD 71%	50	$(3,5 \pm 0,3)^{B}$	25,76
SPI - NCA 5% - β-CD 143%	50	$(2.8 \pm 0.1)^{\circ}$	40,52
SPI- NCA 20% - β-CD 143%	50	$(2,6 \pm 0,0)^{D}$	43,30

Disminución de

Los valores correspondientes a una columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P \ge 0.05$) de acuerdo al test de Tukey.

Tabla 1. Resultados obtenidos de los ensayos de retención de colesterol en muestras de leche.

De los resultados obtenidos puede observarse que las películas con 5 y 20% de NCA sin el agregado de β-CD (películas control), no produjeron disminución de colesterol en las muestras de leche, por lo que concluimos que ningún componente de las películas SPI-NCA, tiene la capacidad de retener colesterol. Para las películas que contienen β-CD en baja proporción (14 %) se observan pequeñas disminuciones, no significativas, mientras que películas con mayores cantidades de β-CD, producen disminuciones muy marcadas, siendo mayores a medida que mayor es la cantidad de β-CD presente en las películas. Esto, nos indica que la β-CD actúa eficazmente como receptor de colesterol formando un complejo de inclusión entre la cavidad de la misma y la cola hidrofóbica del colesterol. Por otro lado, la variación en la cantidad de NCA presente en las películas no afecta significativamente la retención de colesterol. Solo en el caso de mayor agregado de β-CD, se observa mayor capacidad de retención de colesterol de la película con 20% de NCA respecto de la de 5%.

El ensayo con películas conteniendo cantidades de β -CD mayores al 143% (que *a priori* brindaría mayores disminuciones de colesterol en las muestras de leche) no fue realizado ya que grandes cantidades de β -CD imposibilitaron la correcta dispersión de la misma en las películas y en algunos casos la misma formación de las películas.

Los resultados obtenidos se condicen con los consultados en literatura, donde para películas de poli (vinil alcohol) con 20 y 30% de β -CD, se obtiene 6,2 y 8,3% de disminución de colesterol en leche (López-de-dicastillo et al., 2011).

CONCLUSIONES

La preparación de películas proteicas biodegradables poco solubles en aqua posibilitó el desarrollo de películas capaces de captar y retener colesterol cuando se las puso en contacto con alimentos ricos en este compuesto. El agente actuante como secuestrador de colesterol es la β-CD, la cual fue agregada a las películas al momento de la preparación. Estas películas mostraron ser eficaces en lograr disminución de colesterol en muestras de leche entera por simple inmersión en el líquido por un período de 10 días. Disminuciones de entre el 20 y el 40% de la cantidad de colesterol fueron obtenidas variando las cantidades de β-CD presente en las películas. Estos resultados son promisorios para la implementación de este material, por ejemplo, como capa interior de un envase multilaminado contenedor de alimentos grasos como la leche. Además, estos resultados abren una gran posibilidad de aplicación de estas películas, no sólo como secuestrantes de colesterol, sino también de otras sustancias lipofílicas no deseadas presentes en alimentos como por ejemplo aldehídos producidos en procesos de pérdida de la calidad de los alimentos, siempre y cuando su estructura sea compatible con la de la cavidad hidrofóbica de la CD.

BIBLIOGRAFÍA

Alonso L, Cuesta P, Fontecha J, Juarez M, Gilliland SE. 2009. Use of β -cyclodextrin to decrease the level of cholesterol in milk fat. J. Dairy Sci., 92: 863–869.

Astray G, Gonzalez-Barreiro C, Mejuto JC, Rial-Otero R, Simal-Gándara J, 2009. A review on the use of cyclodextrins in foods. Food Hydrocoll., 23: 1631–1640.

Bae HY, Kim SY, Kwak HS. 2008. Comparison of cholesterol-reduced Camembert cheese using cross-linked b-cyclodextrin to regular Camembert cheese during storage. Milchwissenschaft, 63: 153–156.

Chiu SH, Chung TW, Giridhar R, Wu WT, 2004. Immobilization of β -cyclodextrin in chitosan beads for separation of cholesterol from egg yolk. Food Res. Int., 37: 217–223.

Han EM, Kim SH, Ahn J, Kwak HS, 2008. Comparison of cholesterol- reduced cream cheese manufactured using crosslinked b-cyclodextrin to regular cream cheese. Asian-Australasian J. Anim. Sci., 21: 131–137.

Jung TH, Kim JJ, Yu SH, Ahn J, Kwak HS, 2005. Properties of cholesterol-reduced butter and effect of gamma linolenic acid added butter on blood cholesterol. Asian-Australasian J. Anim. Sci., 18: 1646–1654.

Kim JJ, Jung TH, Ahn J, Kwak HS. 2006. Properties of cholesterol-reduced butter made with β -cyclodextrin and added evening primrose oil and phytosterols. J. Dairy Sci., 89: 4503–4510.

López-de-dicastillo C, Catalá R, Gavara R, Hernández-Muñoz P. 2011. Food applications of active packaging EVOH films containing cyclodextrins for the preferential scavenging of undesirable compounds. J. Food Eng., 104: 380–386.

Rendón Marín JM, Pineda Orozco LM. 2010. Estandarización y verificación de la determinación de colesterol en leche y sus derivados por cromatografía de gases-FID. Universidad Tecnológica de Pereira.

Restuccia D, Spizzirri UG, Parisi OI, Cirillo G, Curcio M, Iemma F, Puoci F, Vinci G, Picci, N. 2010. New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. Food Control. 21: 1425–1435.

Shim SY, Ahn J, Kwak HS, 2003. Functional Properties of Cholesterol-Removed Whipping Cream Treated by β -Cyclodextrin. J. Dairy Sci., 86: 2767–2772.

Tahir MN, Kwon C, Jeong D, Cho E, Paik SR, Jung S. 2013. Cholesterol reduction from milk using β -cyclodextrin immobilized on glass. J. Dairy Sci., 96: 4191–4196.

Tahir MN, Lee Y. 2013. Immobilisation of β -cyclodextrin on glass: Characterisation and application for cholesterol reduction from milk. Food Chem., 139: 475–481.

Yamamoto S, Kurihara H, Mutoh T, Xing X, Unno H. 2005. Cholesterol recovery from inclusion complex of beta-cyclodextin and cholesterol by aeration at elevated temperatures. Biochem. Eng. J., 22: 197–205.

Agradecimientos

Los autores agradecen a CONICET, FONCyT and SECyT (UNC) por el soporte financiero suministrado. A. González agradece la beca proporcionada por CONICET.

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS COMPUESTAS DE ALMIDÓN/ALCOHOL POLIVINÍLICO/POLIURETANO CON APLICACIÓN EN SUPERFICIE DE QUESOS SEMI-DUROS

González Forte L. 1, 2, Pardini O. 1,2,3, Amalvy J.I. 1,2,3,4,5

- 1: Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT, CIC-CCT La Plata CONICET), La Plata, Argentina.
- 2: Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA).
- 3: Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), (CCT La Plata CONICET- UNLP), La Plata, Argentina.
- 4: Cátedra de Materiales Poliméricos de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina 5: Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Materiales (CITEMA), Facultad Regional La Plata (Universidad Tecnológica Nacional), La Plata, Argentina. lucia.g.forte@gmail.com

Resumen: Se preparó una dispersión de poliuretano (PU) y luego se la utilizó para modificar una mezcla de almidón y alcohol polivinílico (PVA) con alto contenido de almidón (70% en peso). Las películas se prepararon por casting de las dispersiones acuosas. El efecto de la relación de cantidad PVA/PU en la morfología, la miscibilidad y las propiedades físicas de los materiales resultantes se investigó mediante espectroscopía infrarroja (FTIR), calorimetría diferencial de barrido modulada (DSCm), análisis termogravimétrico (TGA),

microscopía electrónica de barrido (SEM), rayos X (DRX), medición de propiedades mecánicas y permeabilidad al vapor de agua (WVP). Los resultados muestran que los componentes de la mezcla almidón/PVA/PU se relacionan a nivel molecular formando dispersiones sin separación de fases. También se estudió la incorporación de natamicina en pequeñas cantidades, un antifúngico natural que es usado actualmente como aditivo alimentario para el tratamiento de la superficie de quesos duros y semi-duros por su actividad contra hongos y levaduras; en este trabajo se presentan algunos resultados preliminares de su incorporación al material polimérico. Las películas compuestas resultantes se proponen como recubrimientos en alimentos y en particular de quesos semiduros durante su etapa de maduración.

Palabras clave: almidón, PVA, películas biodegradables, poliuretano, natamicina.

Abstract: A polyurethane (PU) dispersion from raw materials allowed in the food industry was prepared, and then used to modify a blend of starch and poly(vinyl alcohol) (PVA) with high starch content (70 wt. %). The blend films were prepared by casting the aqueous dispersions of gelatinized starch, PVA and PU. The effect of PVA/PU ratio content on the morphology, miscibility and physical properties of the resulting materials was investigated by infrared spectroscopy, modulated differential scanning calorimetry (MDSC), thermogravimetric analysis (TGA), scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction analysis (XRD), and measurements of mechanical properties and water vapor permeability (WVP). The results show that starch/PVA can be blended with polyurethane at molecular level forming blends without phase separation. The occurrence of hydrogen bonding

interaction between starch/PVA and PU plays a key role in the improvement of the material performance. The incorporation of PU into the starch/PVA matrix leads to an improvement of 100% in elongation at break. We also studied the incorporation of natamycin at 1 %, a natural antifungal agent used as a food additive for the surface treatment of hard and semi-hard cheeses because of its activity against yeasts and moulds; in this work we present some preliminary results.

Keywords: starch, PVA, biodegradable films, polyurethane, natamycin.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día existe una tendencia creciente de utilizar polímeros las características naturales por de ser renovables, biocompatibles, biodegradables y en muchos casos económicamente viables. En particular los almidones provenientes de diferentes fuentes han sido empleados para elaborar recubrimientos para alimentos. Sin embargo requieren de la adición de plastificantes para reducir la rigidez y tendencia al agrietado. Una práctica común es la incorporación de glicerol o alcohol polivinílico (PVA) o combinaciones de ellos (Javasekara et al. 2003, Khan et al. 2006). Sin embargo la plastificación por glicerol es temporaria y puede migrar hacia el alimento. El PVA, por su parte, es un polímero de amplio uso en la industria por ser no-tóxico, soluble en agua, biocompatible y biodegradable con resistencia química y propiedades físicas excelentes. La plastificación empleando PVA como único plastificante requiere de la incorporación de cantidades importantes, que supera en algunos casos el 50 % p/p.

Algunos polímeros de alto peso molecular pueden actuar también como plastificantes, ya que por su baja movilidad se reduce el proceso de migración (Pedersen *et al.* 2008).

La natamicina (también llamada pimaricina) es un antifúngico natural y es usado como aditivo alimentario para el tratamiento de la superficie de quesos duros, semi-duros y semi-blandos por su actividad contra hongos y levaduras (Delves-Broughton *et al.* 2005, Stark y Tan 2003).

En este trabajo se propone reemplazar parte del PVA, por un poliuretano de muy baja temperatura de transición vítrea, de tal manera que pueda actuar como plastificante en pequeñas cantidades o proporciones y lograr películas conteniendo como mínimo 70 % p/p de almidón, incluyendo natamicina para obtener películas con actividad antifúngica.

MATERIALES Y MÉTODOS Materiales

Se empleó almidón de maíz (Maizena, Unilever, Argentina), PVA (PM 13.000-23.000, 98% hidrolizado, Sigma-Aldrich, Argentina) y un poliuretano sintetizado a base de diisocianato de difenilmetano hidrogenado (H12MDI, Desmodur W, Bayer) y polipropilenglicol, Mn 2000 (PPG 2000, Voranol 2120, Dow). Se utilizó una preparación comercial de natamicina que contiene 50% p/p de NaCl (Delvocid®, DSM Food Specialties, Argentina).

Métodos

Preparación de las dispersiones acuosas

La dispersión de almidón gelatinizado se preparó a partir de almidón en polvo al 3% en agua a 90°C durante 1 hora con agitación magnética.

La dispersión acuosa de poliuretano se sintetizó siguiendo la técnica del prepolímero (Pardini y Amalvy 2008), empleando en este caso un poliol de peso molecular 2000 (PPG2000).

El PVA se disolvió en agua a 90 °C durante 24 horas con agitación magnética.

Preparación de las mezclas y películas

A la dispersión acuosa de poliuretano se le adicionó mediante goteo constante, la solución acuosa de PVA y la dispersión de almidón. La dispersión obtenida se dejó agitando por 30 minutos. Las dispersiones acuosas fueron depositadas en placas niveladas de Teflon® y se dejó evaporar el agua a 25 °C. La película así formada se retiró y cortó para los diferentes ensayos. Las películas fueron preparadas conteniendo 70 % p/p de almidón y 30 % p/p de los polímeros plastificantes PVA y PU en relaciones variables. En este trabajo se discuten los resultados de los sistemas (Almidón/PVA/PU): 70:25:05; 70:20:10 y 70:15:15.

Espectroscopia FTIR

Los espectros FTIR de transmisión y ATR fueron tomados con un espectrofotómetro Nicolet 380, entre 4000 y 650 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹ y 64 barridos. Los espectros de ATR fueron corregidos acordemente.

Calorimetría diferencial de barrido modulada

Las curvas MDSC se obtuvieron empleando un calorímetro DSC Q 200 con N₂ como gas de purga con un caudal de 30 ml.min⁻¹, una velocidad de calentamiento de 2,5°C.min⁻¹, una modulación sinusoidal con amplitud de 1°C y un período de 60 seg. El rango de temperatura fue de temperatura ambiente a 150°C. Las temperaturas de transición vítrea se determinaron empleando el punto de inflexión en la señal de flujo de calor reversible (RHF).

Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico de los materiales se llevó a cabo con un equipo Shimadzu TGA-50. Los estudios se realizaron en modo dinámico a una velocidad de calentamiento de 30°C.min⁻¹

desde 20°C hasta 550°C, bajo una atmósfera inerte de N_2 con un caudal de 30 ml.min⁻¹. Se determinó la temperatura inicial de descomposición (TDI) y el porcentaje de agua residual y masa remanente a 540 °C.

Propiedades mecánicas de tracción

Los perfiles mecánicos (curvas de tensión—deformación) se obtuvieron mediante el uso de un texturómetro TA.XT2i-Stable Micro Systems (Inglaterra). Se cortaron películas de 10 x 0,7 cm y se ensayaron al menos 10 películas para cada formulación. El módulo de elasticidad (módulo de Young, MPa) se calculó según ASTM D882-00 (2001), y también se calcularon las tensiones máximas y la elongación máxima.

Permeabilidad al vapor de agua

El coeficiente de permeabilidad al vapor de agua de las películas fue determinado gravimétricamente a 13°C según el método de ensayo ASTM E96-95 (Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials), utilizando celdas con una superficie libre para el pasaje del vapor de 18,85 cm². En el interior de las celdas se utilizó como desecante sílica gel granulado logrando un 10% de humedad relativa. Las celdas fueron colocadas dentro de un desecador mantenido una humedad relativa constante de aproximadamente 80%, obtenida con una solución saturada de cloruro de amonio. Se eligieron estas condiciones ya que son las que se utilizan para la maduración de quesos duros según el Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), Argentina. Las celdas, una vez alcanzado el equilibrio, fueron pesadas diariamente, con balanza analítica, durante siete días.

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se utilizó un microscopio FEI – Quanta 200 (Holanda), en el modo alto vacío (Hi-Vac). Las películas fueron previamente metalizadas, para evitar problemas de carga en las mismas. Las películas fueron observadas superficialmente y transversalmente. En este último caso se realizó la fractura de la película sumergiéndola previamente en nitrógeno líquido. El voltaje de trabajo fue de 20 KeV y la corriente de emisión de alrededor de 100 µA.

Análisis de difracción de rayos X (DRX)

El análisis de difracción de rayos X de las películas se realizó un equipo PANalytical, modelo X´Pert PRO. Las muestras fueron irradiadas con radiación Cu K α de 1.5403 Å usando 40 mA y 40 kV. Los difractogramas se obtuvieron en el rango de 3 – 40° / 20 con una velocidad de escaneo de 0.0044°/s.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Apariencia óptica

La apariencia óptica de las películas depende de su composición. Los films de almidón puro son opacos y frágiles. Las películas almidón/PVA 70/30 tienen buena transparencia y las que contienen PU presentan buena transparencia y flexibilidad.

Las películas con natamicina son translúcidas, indicando cierta segregación y causando dispersión de la luz. Los films con mayor contenido de PU no son totalmente homogéneos (Figura 1).

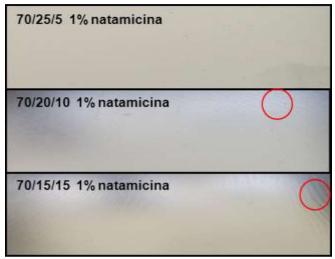


Figura 1: Fotografías ópticas de películas de almidón/PVA/PU con 1% de natamicina.

Espectroscopia FT-IR

El espectro del almidón muestra bandas típicas por debajo de los 1500 cm⁻¹, en donde las vibraciones de las moléculas de glucosa dominan (Kizil *et al.* 2002). Estas bandas se atribuyen a la contribución de tres modos de vibración principales: stretching C-O, deformación C-O-H y bending.

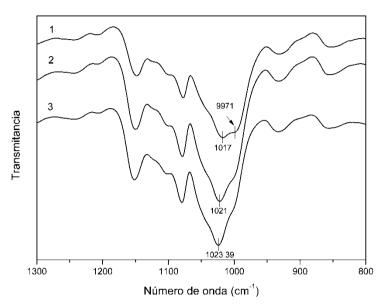


Figura 2: Espectros FTIR de películas almidón/PVA 70/30 (1), almidón/PVA/PU 70/25/5 (2) y almidón/PVA/PU 70/15/15 (3) en la región de la banda de C-O.

En la región C-O hay un incremento de la intensidad de la banda a 1022 cm⁻¹ lo que indica una zona de características más amorfas y evidencia la plastificación de las mezclas cuando se incluye PU (ver propiedades mecánicas), lo cual refuerza la teoría de que las cadenas de PU modifican las propiedades de los enlaces de hidrógeno (Figura 2).

Los cambios de intensidad y posición de las bandas de los espectros FTIR observados sugieren que existen interacciones de las cadenas de PU con los grupos –OH del almidón y del PVA, lo que contribuye a la miscibilidad de los 3 componentes de la mezcla (Benmerad *et al.* 2011). Al incluir natamicina, las bandas

características de este compuesto se observan a 1715 cm⁻¹ (stretching C=O) y a 1106 cm⁻¹ (vibración asimétrica C-OH) al mismo número de onda que para el compuesto puro. Sin embargo, también se observan nuevas bandas a 1534, 1452 y 1373 cm⁻¹, las cuales indican ciertas interacciones con la matriz polimérica. Cuando está presente una mayor proporción de PU, se favorece la migración de la natamicina hacia la cara aire durante la formación de la película, como se puede ver en los resultados de ATR-FTIR (datos no mostrados). Las interacciones competitivas entre las cadenas de PU con el almidón/PVA o la natamicina son las probables responsables.

Calorimetría diferencial de barrido modulada

En la Figura 3, la componente reversible del flujo de calor (RHF) obtenida de la curva MDSC de la mezcla almidón/PVA 70:30 muestra dos transiciones vítreas asociadas al PVA (55°C) y al almidón (79°C). Estos valores son los mismos que para los componentes puros, indicando que se obtiene una mezcla física (Hourston y Mo Song 2006). Al incorporar PU ambas transiciones dejan de observarse, lo que indica que el PU perturba las interacciones entre cadenas.

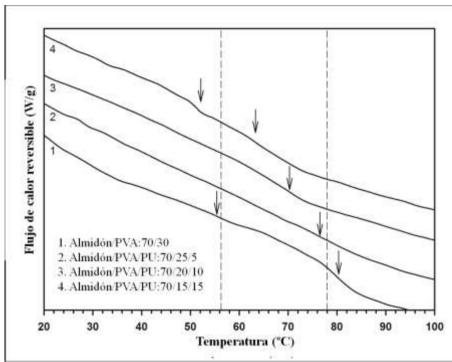


Figura 3: Flujo de calor reversible para las películas de -diferentes composiciones.

Análisis termogravimétrico (TGA)

En la Tabla 1 se presentan los valores de agua residual, de TID y el residuo a 540°C. Al reemplazar parte del PVA por PU, se observa una ligera disminución del agua residual, debido a la baja hidrofilicidad del PU. Un comportamiento similar fue observado por Lu *et al.* (2005). La TID y el residuo a 540 °C es prácticamente constante dentro del error experimental.

Tabla 1: Agua residual, temperatura inicial de descomposición (TID) y residuo a 540°C.

	Agua		
Composición de	residual (%		Residuo [#]
película	p/p)	TID(°C)*	(% p/p)
Almidón/PVA 70/30	10,1	235,5	14,5
Almidón/PVA/PU	9,8		
70/25/5		240,0	17,2
Almidón/PVA/PU	8,7		
70/20/10		236,0	15,3
Almidón/PVA/PU	8,5		
70/15/15		236,5	15,4

*TID: posterior a la pérdida de agua. #Residuo a 540 °C.

Propiedades mecánicas

La tensión máxima y el módulo elástico para almidón, almidón/PVA y almidón/PVA/PU con diferentes composiciones (70/25/5, 70/20/10 y 70/15/15) no mostraron cambios importantes. La mezcla con PVA/PU 20/10 mostró una tensión máxima más elevada que las demás (datos no mostrados). Los resultados de elongación máxima se muestran en la Figura 4; la relación PVA/PU 25/5 es la que muestra el mayor valor (2,4 %).

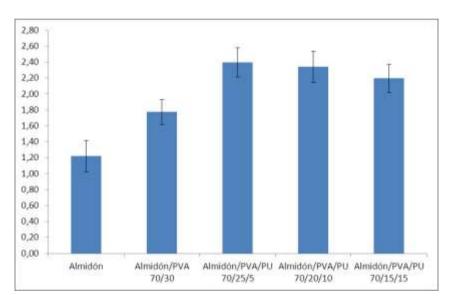


Figura 4: Elongación máxima de almidón puro, almidón/PVA y almidón/PVA/PU.

Al aumentar el contenido de PU, la elongación máxima disminuye ligeramente seguramente por el menor contenido de agua, pero los valores son de todas maneras mayores que para la formulación almidón/PVA 70/30, lo que indicaría que el PU es un plastificante efectivo.

Permeabilidad al vapor de agua (WVP)

La WVP de las películas de almidón/PVA 70/30 y almidón/PVA/PU con diferentes relaciones de PVA/PU fueron de alrededor de 0,08 (±0,02).10¹¹.g.s⁻¹.m⁻¹.Pa⁻¹. Este valor es mucho menor que para almidón puro (17,66 (± 2,97) .10¹¹ g.s⁻¹.m⁻¹.Pa⁻¹) (García *et al.* 2009).

Microscopía diferencial de barrido (SEM)

Las imágenes de SEM (Figura 5) de las secciones de crio-fractura muestran superficies lisas en general.

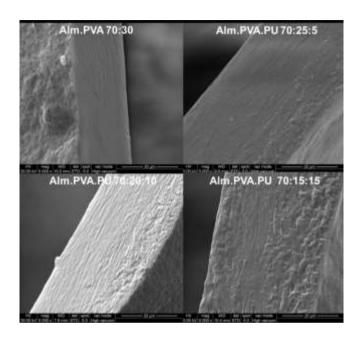


Figura 5. Microscopía electrónica de barrido a 5000x. Cortes transversales. Escala: 20 µm.

Análisis de difracción de rayos X

Los patrones de rayos X de las películas preparadas en este trabajo se muestran en la Figura 6.

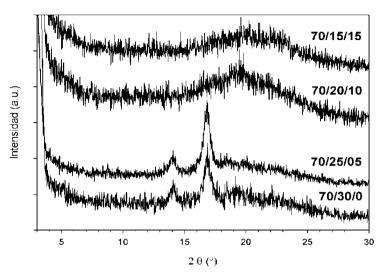


Figura 6: Patrones de difracción de rayos X de las películas.

En el almidón gelatinizado, las cadenas glucosídicas se encuentran mayormente en estado amorfo (baja cristalinidad) por lo que los espectros de rayos X del almidón son bastante ruidosos (Frost *et al.* 2009). Según lo establecido por Wu *et al.* (2004), los XRD del almidón de maíz presentan picos a 14.88, 17.08, 17.98, 19.98, and 22.78°. Los patrones de rayos X de las películas de almidón/PVA:70/30 y almidón/PVA/PU:70/25/5 muestran los picos del almidón a 14° and 17° aproximadamente, mientras que para las películas de almidón/PVA/PU:70/20/10 y almidón/PVA/PU:70/15/15 estos picos no fueron visibles, lo cual estaría indicando cambios en la cristalinidad y/o la estructura cristalina al incrementar la cantidad de PU.

CONCLUSIONES

El agregado de pequeñas cantidades de PU (menos de 15% en peso), cambia significativamente las propiedades de la mezcla de almidón gelatinizado y PVA debido a las interacciones de los tres componentes a través de enlaces puente de hidrógeno. Las mezclas resultantes dan películas con una fase continua y mejores propiedades físicas.

Cuando se incorpora natamicina a la matriz, los resultados preliminares obtenidos muestran una migración preferencial a la fase aire. Las películas se proponen como potenciales recubrimientos para la superficie de quesos durante el proceso de maduración.

BIBLIOGRAFÍA

Benmerad MF, Djadoun S, Alothman ZA, Aouak, T. 2011. Miscibility study of poly(vinyl chloride)/poly(methyl methacrylate-co-4-vinylpyridine) by viscosimetry, DSC, and FTIR. Journal of Applied Polymer Science, 119: 173-182.

Delves-Broughton J, Thomas LV, Doan CH, Davidson P M. 2005. Natamycin. En: Davidson MP, Sofos JN, Branen LA, editores. Antimicrobials in food. Boca Raton: CRC Press. Pag 276-289.

Frost K, Kaminski D, Kirwan G, Lascaris E, Shanks R. 2009. Crystallinity and structure of starch using wide angle X-ray scattering. Carbohydrate Polymers, 78: 543–548.

García MA, Pinotti A, Martino MN, Zaritzky NE. 2009. Characterization of starch and composite edible films and coatings. En: Embuscado ME, Huber KC, editores. Edible films and coatings for food applications. New York: Springer. Pag 169–209.

Hourston DJ, Mo Song M. 2006. Applications of modulated temperature differential scanning calorimetry to polymer blends and related systems. En: Reading M, Hourston DJ, editores. Modulated temperature differential scanning calorimetry. Theoretical and practical applications in polymer characterization. United Kingdom: Springer. Pag 161-215.

Jayasekara R, Harding I, Bowater I, Christie GBY, Lonergan GT. 2003. Preparation, surface modification and characterisation of solution cast starch PVA blended films. Polymer testing, 23: 17-27.

Khan MA, Bhattacharia SK, Kader MA, Bahari K. 2006. Preparation and characterization of ultra violet (UV) radiation cured bio-

degradable films of sago starch/PVA blend. Carbohydrate Polymers, 63: 500-506.

Kizil R, Irudayaraj J, Seetharaman K. 2002. Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 3912-3918.

Lu Y, Tighzert L, Berzin F, Rondot S. 2005. Innovative plasticized starch films modified with waterborne polyurethane from renewable resources. Carbohydrate Polymers, 61: 174-182.

Pardini OR, Amalvy JI. 2008. FTIR, 1H-NMR spectra, and thermal characterization of water-based polyurethane/acrylic hybrids. Journal of Applied Polymer Science, 107: 1207–1214.

Pedersen GA, Jensen LK, Fankhauser A, Biedermann S, Petersen JH, Fabech B. 2008. Migration of epoxidized soybean oil (ESBO) and phthalates from twist closures into food and enforcement of the overall migration limit. Food Aditives and Contaminants, 25: 503-510.

Stark J, Tan HS. 2003. Natamycin. En Russel NJ, Gould GW, editores. Food preservatives. New York: Springer. Pag 179–195. Wu YP, Ji MQ, Qi Q, Wang YQ, Zhang LQ. 2004. Preparation, structure, and properties of starch/rubber composites prepared by co-coagulating rubber latex and starch paste. Macromolecular Rapid Communications, 25: 565–570.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la CICPBA y a la ANPCyT (PICT 2011-0238) por el apoyo económico.

PROPIEDADES FÍSICAS DE PERAS SOMETIDAS A PRE-TRATAMIENTOS COMBINADOS DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA Y SECADO

Maidana S.B.⁽¹⁾, Vullioud M.B.⁽¹⁾, Schebor C.⁽²⁾ y Salvatori, D.M.⁽³⁾

(1)PROBIEN (CONICET-Universidad Nacional del Comahue), Facultad de Ciencias y Tecnología de los Alimentos. Villa Regina. Río Negro, Argentina.

silviabmaidana@hotmail.commabycateq@gmail.com

- (2) Depto. de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. C.A.B.A., Argentina. cschebor@gmail.com
- (3)PROBIEN (CONICET-Universidad Nacional del Comahue), Facultad de Ingeniería, Neuquén, Argentina. daniela.salvatori@probien.gob.ar

Resumen: Se analizó el efecto del escaldado y de la deshidratación osmótica, empleando diferentes azúcares, sobre las propiedades físicas en discos de pera deshidratados en corriente de aire. Se emplearon infusiones secas con sacarosa y glucosa, con o sin escaldado previo al proceso de secado, mezclados con agentes antimicrobianos y antioxidantes, a dos actividades de agua ($a_w = 0.83$ y $a_w = 0.93$). Luego se llevó a cabo la deshidratación final por secado convectivo ($T_{aire} = 60$ °C, HR= 10 %, tiempo = 4 h). Las peras deshidratadas se humidificaron luego entre 11 y 90% HR a 20°C para determinar

las isotermas de sorción. Después de la equilibración de las muestras, se determinó la temperatura de transición vítrea (T_g) por DSC y los tiempos de relajación T_2 asociadosa la movilidad molecular de los sólidos y del agua por RMN. De acuerdo a los resultados obtenidos se puede afirmar que la deshidratación osmótica utilizada como paso previo al proceso de secado convectivo permite reducir la capacidad de adsorción de agua y la movilidad molecular, lo que contribuye a una mayor estabilidad de los productos.

Palabras Clave: peras, deshidratación osmótica, propiedades físicas

Abstract: The effect of blanching and/or osmotic dehydration pretreatments on the physical properties of dehydrated pear discs was analyzed. Dry infusions were prepared using sucrose or glucose as humectants, mixed with antimicrobials and antioxidants to reach two different a_w values (0,83 and 0,93). Then, a traditional convective drying (T = 60 ° C, RH = 10%, t = 4 h) was carried out. Dried samples were then humidified from 11 to 90% RH at 20 °C for determination of sorption isotherms. After equilibration samples were analyzed for glass transition temperature (T_g) and relaxation times (T_z) related to molecular mobility of water and solids. According to the obtained results, the application of a sugar infusion treatment (osmotic dehydration) prior to convective drying allowed to reduce water sorption capacity and molecular mobility, which contributes to obtain more stable products.

Keywords: pears, osmotic dehydration, physical properties.

INTRODUCCIÓN

La utilización de tratamientos previos a los procesos de conservación de frutas permite la obtención de productos con características organolépticas más similares a la de los productos frescos originales. En métodos tradicionales de conservación como el secado convectivo, un escaldado previo tiene como función principal inactivar las enzimas responsables del pardeamiento enzimático. Una deshidratación osmótica (también llamada "infusión con azúcares" o "impregnación con solutos") puede afectar significativamente los intercambios de agua y solutos, permitiendo la depresión parcial de la actividad de agua de la fruta antes de pasar a la etapa final de deshidratación. Se consiguen así productos más dulces y con mejores atributos de calidad que los obtenidos sin pretratamientos (Alzamora et al. 1998, Torregiani y Bertolo 2002). Durante las últimas décadas estos pre-tratamientos han sido ampliamente utilizados dentro de tecnologías combinadas de procesamiento, en las que la aplicación de una serie de factores de conservación permiten lograr cambios controlados en las propiedades organolépticas, nutricionales y sensoriales de los productos. La búsqueda de alternativas de procesamiento de pera radica en la necesidad de nos sólo diversificar la producción industrial a partir de esta fruta, sino también de reducir las pérdidas postcosecha y de superar los picos estacionales de producción.

La comprensión de los datos de sorción de humedad es esencialpara muchos aspectos en relación con la tecnología de los alimentos, tales como la selección de los materiales de embalaje, el secado y el diseño de procesos de concentración, así como de opción de parámetros de almacenamiento

adecuados. La complejidad que involucran los sistemas de alimentos, requieren necesariamente de una determinación experimental de las isotermas de sorción cuya forma está afectada principalmente por la estructura y la composición del material alimenticio (Maftoonazad 2010). Varios autores han analizado los conceptos de actividad de agua conjuntamente con las temperaturas de transición vítrea (T_a) con el fin de evaluar la estabilidad de alimentos, proporcionando así un enfogue integrado del papel del agua en los mismos (Mard et al, 2013). Es sabido que un material no cristalino puede existir en el estado vítreo o en el estado líquido sobre-enfriado (gomoso) dependiendo de la temperatura y de la presencia de aqua. El cambio entre estos dos estados, se conoce como transición vítrea. Una interesante aplicación del estudio de la transición vítrea es el entendimiento de los cambios que pueden ocurrir durante el procesado y el almacenamiento de los alimentos y que dependen fundamentalmente de la movilidad del agua y de los biopolímeros que los constituyen (Nelson y Labuza 1994). Por ejemplo el fenómeno de colapso es la resultante de un cambio en la viscosidad, y provoca cambios estructurales, pegajosidad, apelmazamiento y pérdida de porosidad (White y Cakebread 1966, Bellows y King 1973, Tsourouflis et al. 1976, To y Flink 1978 a y b, Flink 1983, Levine y Slade 1988, Slade y Levine 1991).

Por su parte, la movilidad molecular se puede estimar mediante los tiempos de relajación de la magnetización nuclear (H¹ RMN). El experimento de RMN consiste en inducir la transición entre niveles de energía correspondientes a la magnetización de núcleos atómicos. Luego de la excitación, los espines de los núcleos retornan al estado de equilibro por procesos de transiciones no radiactivas, llamados en conjunto procesos de relajación (Colquhon y Goodfellow 1994). La relajación espín-

espín se realiza a través de núcleos vecinos. Esta relajación generalmente es un proceso de disminución exponencial de primer orden que se relaciona con un tiempo de relajación T_2 . Para sólidos cristalinos o líquidos muy viscosos el fenómeno de relajación espín espín es más eficiente y los tiempos son muy pequeños (10^{-4} s). Cuanto menor es la viscosidad de la muestra más largos son estos tiempos.

En frutas osmodeshidratadas, los cambios fisicoquímicos que pueden ocurrir durante las distintas etapas de procesamiento requiere necesariamente del análisis integrado de las propiedades de sorción de agua, de la movilidad del agua y de los sólidos presentes y del conocimiento del estado físico de la matriz vegetal. La evaluación de estas propiedades resulta de gran importancia no sólo para el control de calidad del producto, sino también como herramienta para el análisis de procesos con vistas a definir, ajustar u optimizar la tecnología adecuada a cada matriz vegetal.

El objetivo de este trabajo entonces analizar el efecto del escaldado y de la deshidratación osmótica, empleando diferentes azúcares, sobre las isotermas de sorción de agua, las temperaturas de transición vítrea (T_g) y la movilidad molecular (T_2) en discos de pera deshidratados por corriente de aire.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima: Se trabajó con peras frescas (var. Packham's Triumph) de humedad 85,14 % (p/p, b.h.), $a_w = 0,97$ y contenido de azúcares 14 °Brix, almacenadas a 4° C hasta el momento de su utilización. Las peras fueron lavadas y cortadas en discos de 3 cm de diámetro y 0,6 cm de espesor.

Pretratamientos:

Escaldado (E): por exposición a vapor de agua en ebullición (1,5 min) y posterior enfriamiento en agua a 4 °C (1,5 min) con el fin de inactivar las enzimas responsables del pardeamiento enzimático.

Infusión seca (IS): se realizaron tratamientos de deshidratación osmótica utilizando sacarosa (ISs) y glucosa (ISg) como humectantes a presión atmosférica. Para ello, los trozos de fruta fueron colocados en una mezcla del humectante seco, con agentes antioxidantes y antimicrobianos (sorbato de potasio, bisulfito de sodio). Los sistemas fueron preparados para alcanzar luego de la equilibración (igualdad de a_w entre la fruta y el jarabe) a distintas actividades de agua (0,83 y 0,93).

Tratamientos combinados (E+ISs, E+ISg): las frutas fueron sometidas a distintas combinaciones de IS (a_w , tipo de humectante) con y sin escaldado previo. A saber: a) ISs1: infusión con sacarosa ($a_w = 0.83$), b) E + ISs1: escaldado y posterior infusión con sacarosa ($a_w = 0.93$), c) ISs2: infusión con sacarosa ($a_w = 0.93$), d) E + ISs2: escaldado y posterior infusión con sacarosa ($a_w = 0.93$), e) ISg2: infusión con glucosa ($a_w = 0.93$), f) E + ISg2: escaldado y posterior infusión con glucosa ($a_w = 0.93$).

Secado: Todos los frutos, tanto el control (C) como pretratados, fueron deshidratados por convección durante 4 hs en un secadero piloto a una T = 65°C, con una velocidad de aire 4 m/s y a una humedad relativa de 6 %. Las curvas se obtuvieron por duplicado.

Humidificación: Luego del secado las muestras se humidificaron a 20°C a distintas humedades relativas en

presencia de soluciones salinas saturadas en un rango de 11 a 90 % HR (Greenspan 1977).

Determinación del contenido de agua: se realizó por diferencia de peso antes y después de secar las muestras en una estufa de vacío a 60°C en presencia de un agente desecante.

Determinación de transiciones térmicas: las transiciones vítreas se determinaron por calorimetría diferencial de barrido (valores onset) empleando un calorímetro DSC 822e Mettler Toledo (Schwerzenbach, Switzerland). El instrumento se calibró con indio (156,6°C), plomo (327,5°C) y zinc (419,6°C). Las mediciones se realizaron a 10°C/minuto en cápsulas de aluminio selladas (empleando como referencia una cápsula vacía y perforada). Los termogramas se evaluaron con el programa Mettler Star^e.

Estimación de la movilidad molecular: se utilizó la técnica de resonancia magnética nuclear (1 H-NMR) resuelta en el tiempo para estimar la movilidad molecular de los sólidos y del agua de las muestras. Se empleó un equipo Bruker Minispec mq20 (20 MHz) (Bruker Biospin GimbH, Rheinstetten, Alemania). Los tiempos de relajación espín-espín (T_2) se midieron utilizando el método de libre decaimiento de la inducción (FID) luego de aplicar un pulso de 90° . Las curvas de decaimiento se ajustaron con un modelo mono-exponencial según la siguiente ecuación: $I = A \exp(-t/T_2)$ Donde: I representa la señal de intensidad de los protones, T_2 corresponde a los protones de las cadenas poliméricas de la muestra y A es la señal de intensidad de los

protones en el estado T_2 . Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Figura 1** se muestran las isotermas de sorción de agua obtenidas a 20° C para peras control y pretratadas con infusión seca y tratamientos combinados. Las peras control (sin pretratamiento) presentaron una mayor retención de agua hasta una $a_w = 0.73$ en comparación con las peras pretratadas. Cuando el a_w supera el valor de 0.75, se observa un comportamiento similar en todos los casos. Las infusiones con glucosa adsorbieron una mayor cantidad de agua que aquellas con sacarosa hasta una $a_w = 0.56$. A partir de ese valor, la adsorción de agua fue similar en todas las muestras.

El escaldado usado habitualmente para prevenir la pérdida de sabores y cambios de color debido a la reacciones enzimáticas y para disminuir la carga inicial de microorganismos, no tuvo un efecto sobre la capacidad de adsorción de las muestras, tanto en la fruta control como en las pretratadas.

Los conceptos de actividad de agua (a_w) y de transición vítrea (T_g) que son complementarias tienen sus respectivos límites: la actividad de agua es una propiedad termodinámica ligada a la disponibilidad de agua y se define en el equilibrio. Los alimentos, por otra parte, son en su mayoría heterogéneos en su composición y pueden no estar en un estado de equilibrio, mientras que la temperatura de transición vítrea se refiere a la movilidad molecular relativa de agua entre los estados vítreos y gomosos. Por lo tanto, los científicos han relacionado ambos

conceptos para establecer criterios de estabilidad unificados para los alimentos. (Rahman, 2010).

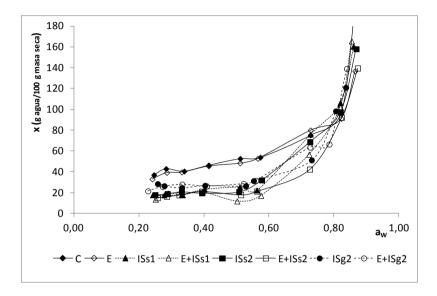


Figura 1. Isotermas de sorción a 20°C de peras control y pretratadas con infusión seca y tratamientos combinados

Cómo se aprecia en la **Tabla 1** las T_g , tuvieron un claro descenso con el aumento de a_w , llegando en todos los casos a valores cercanos a -75°C a una $a_w \cong 0,75$. Todas las muestras se encontraban en estado sobreenfriado a temperatura ambiente, lo cual se condice con el aspecto blando de las mismas. Los valores de T_g fueron más elevados en las muestras pretratadas, lo cual se condice con los valores de humedad menores que los observados en las muestras control (**Figura1**).

Con la finalidad de estimar la movilidad molecular de los sólidos y del agua presente en las muestras a diferentes actividades de agua, se determinó el tiempo de relajación transversal (espínespín) T₂ (Figura 2). Este estudio se realizó a valores de a_w a los que se podrían almacenar los productos estudiados. Los valores de T₂ calculados a partir del método FID se atribuyen a la relajación de los protones presentes en los sólidos y a las moléculas de agua asociadas fuertemente mediante puentes de hidrógeno a la matriz sólida (Kalichevsky et al. 1992, Ruan et al. 1999, Rugraff et al. 1996, Choi y Kerr 2003). Se observó un aumento de los valores de T₂ con el aumento de a_w, particularmente en las muestras control y escaldadas e infusiones con glucosa. Los pretratamientos con deshidratación osmótica redujeron significativamente los valores de T₂. Las muestras pretratadas con infusión seca con glucosa (ISg) presentaron valores de T₂ mayores que las pretratadas con sacarosa (ISs), posiblemente debido a que la glucosa, al ser una molécula de menor tamaño tenga mayor movilidad que la sacarosa y además, las infusiones con glucosa adsorbieron más agua que aquellas con sacarosa en el rango de a_w analizado.

	С		E	19	Ss1	E+	ISs1	15	s2	E+	ISs2	IS	g2	E+l	ISg2
aw	Tg	aw	Tg	aw	Tg	aw	Tg	aw	Tg	aw	Tg	aw	Tg	aw	Tg
0,25	-1,79	0,24	0,34	0,24	8,43	0,25	17,23	0,25	2,33	0,26	7,55	0,26	11,83	0,23	-1,4
0,28	- 11,48	0,29	- 12,13	0,28	-5,94	0,29	- 10,31	0,29	-4,58	0,29	-0,08	0,28	- 15,49	0,27	-9,42
0,34	- 19,18	0,33	- 17,98	0,33	- 11,59	0,33	- 10,15	0,33	- 14,74	0,32	-7,54	0,33	- 18,55	0,33	- 14,53
0,42	-29,2	0,41	- 32,51	0,4	- 26,26	0,4	- 20,55	0,39	-28,5	0,39	- 22,78	0,4	-6,77	0,41	- 25,15
0,51	- 41,98	0,51	- 41,36	0,51	- 37,54	0,5	- 34,32	0,51	- 40,39	0,51	- 18,19	0,53	- 39,73	0,52	- 40,08
0,57	- 46,39	0,57	- 45,44	0,56	- 43,18	0,58	-38,9	0,58	- 41,74	0,56	- 20,23	0,55	-47,3	0,56	- 46,41
0,73	- 64,49	0,73	- 71,67	0,73	-68	0,72	-61	0,73	- 62,38	0,73	-60,6	0,73	- 64,37	0,73	- 59,28
0,76	- 76,34	0,75	- 75,09	0,75	- 75,14	0,74	- 73,91	0,74	- 73,89	0,74	- 76,38	0,76	- 71,16	0,75	- 71,33

Tabla 1. T_g vs a_w para muestras de peras secadas en corriente de aire sometidas a diferentes pretratamientos. C: control, E: escaldada, IS: infusión seca.

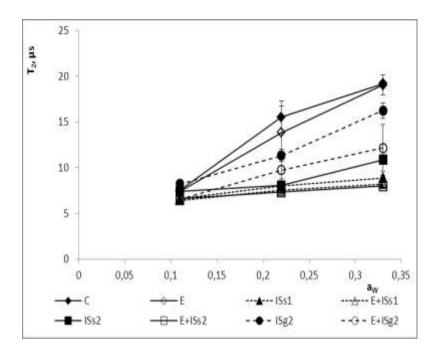


Figura 2: Tiempos de relajación T_2 obtenidos por 1H RMN en función de a_w para muestras de peras secadas en corriente de aire sometidas a diferentes pretratamientos: C: control, E: escaldada, IS: infusión seca.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, la aplicación de un tratamiento de infusión previo al proceso de secado permitió reducir la capacidad de sorción de agua y la movilidad molecular, contribuyendo posiblemente a obtener productos de mayor estabilidad frente a las reacciones de deterioro. La incorporación de azúcares además resultó beneficiosa desde el punto de vista organoléptico de los productos obtenidos.

BIBLIOGRAFIA

Alzamora SM, Tapia MS y Welti-Chanes J. 1998. New strategies for minimal processing of foods: the role of multi-target preservation. Food Science and Technology International, 4: 353-361.

Choi SG y Kerr WL. 2003. 1H NMR studies of molecular mobility in wheat starch. Food Research International, 36: 341-348.

Colquhon IJ, Goodfellow BJ. 1994. Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. En: Reginald W, editor. Spectroscopic techniques in food analysis, New York: VCH Publishing. pag 87-145.

Greenspan L. 1977. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. Journal of research, 8: 89-96.

Kalichevsky MT, Jaroszkiewicz EM, Ablett S, Blanshard JMV y Lillford PJ. 1992. The glass transition of amylopectin measured by DSC, DMTA and NMR. Carbohydrate Polymers, 18: 77-88.

Maftoonazad N. 2010. Use of Osmotic Dehydration to Improve Fruits and Vegetables Quality During Processing. Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture 2: 233-242

Mrad ND, Bonazzi C, Courtois F, Kechaou N, Mihoubi NB. 2013. Moisture desorption isotherms and glass transition temperatures of osmo-dehydrated apple and pear. Food and Bioproducts Processing 9I:121-128.

Nelson K y Labuza T. 1994. Water activity and food polymer science: implications of state on Arrhenius and WLF models in predicting shelf life. J. Food Eng., 22: 271-287.

Rahman, M.S., 2010. Food stability determination by macromicro region concept in the state diagram and by defining a critical temperature. J. Food Eng. 99 (4), 402-416.

Roos Y, Jouppila K y Zielasko B. 1996. Nonenzimatic browning-induced water plasticization: Glass transition temperature

depression and reaction kinetics determination using differential scanning calorimetry. J. Thermal Anal., 47: 1437-1450.

Ruan R, Wang X, Chen PL, Fulcher RG, Pescheck P y Chakrabarti S. 1999. Study of water in dough using nuclear magnetic resonance. Cereal Chemistry, 76: 231-235.

Rugraff YL, Desbois P y Le Botlan DJ. 1996. Quantitative analysis of wheat starch—water suspensions by pulsed NMR spectroscopy measurements. Carbohydrate Research, 295: 185-194.

Torreggiani D y Bertolo G. 2001. Osmotic pre-treatments in fruit processing: chemical, physical and structural effects. Journal of Food Engineering 49:247-25 3.

Torregiani 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: Welti-Chanes J, Barbosa Cánovas GV y Aguilera JM0, editores. Engineering and food for the 21st century. USA: Boca Raton. pág 651-670.

POTENCIAL USO DE SOPORTES DE QUITOSANO CARGADOS CON NANOPARTICULAS ACTIVAS PARA SU LIBERACIÓN CONTROLADA

Lamarra J (1), Rivero S (1), Pinotti A (1,2)

- (1) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), CONICET-La Plata, Facultad de Ciencias Exactas.
- (2) Facultad de Ingeniería, UNLP, La Plata (1900), Argentina E-mail: <u>jlamarra11@gmail.com</u>

Resumen

El quitosano (Q) es un polielectrolito catiónico capaz de interactuar con un anión multivalente como el tripolifosfato sódico (TPP) para formar redes entrecruzadas. Por gelificación ionotrópica es posible obtener nanopartículas que pueden funcionalizarse mediante la inclusión de ácido gálico (AG). Los objetivos fueron: desarrollar sistemas activos a base de Q con micro y nanopartículas cargadas con AG, caracterizar sus propiedades, estudiar y modelar el perfil de liberación del compuesto activo. El potencial zeta de las suspensiones fue de 43,5 y 25,5 mV mientras la eficiencia de encapsulación fue del 66,6 y 42,2%.

Las películas de Q conteniendo AG y con nanopartículas conteniendo AG, Q+AG resultaron ser coloreadas, con buena integridad estructural evidenciada por SEM. La solubilidad de los nanomateriales activos fue menor en relación al control. En los espectros FTIR de las muestras modificadas con AG y TPP se observó un corrimiento y una menor definición del pico a 1328 cm⁻¹, evidenciando la interacción de ambos compuestos con el

polímero. La velocidad de liberación del compuesto activo de las nanomatrices fue más lenta desde Q+AG. La funcionalización fue positiva desde el punto de vista de la regulación del procesoextendiendo los tiempos de liberación y permitiendo diseñar materiales para aplicaciones específicas.

Palabras claves: tripolifosfato sódico, ácido gálico, gelificación ionotrópica, perfil de liberación

Abstract

Chitosan (Q) is a cationic polyelectrolyte capable of interacting with a multivalent anion such as sodium tripolyphosphate (TPP) to form ionic cross-linked networks. Micro and nanoparticles, obtained by ionotropic gelation between Q and TPP can be functionalized by including gallic acid (GA). The objectives were: to develop active Q-based systems with AG-loaded nanoparticles, characterize matrix properties, study and model the release profile of the active compound. The zeta potential (ZP) of the formed suspension showed a value of 43,5 y 25,5 mV while the encapsulation efficiency turned out to be 66,6 y 42,2%. Q films with nanoparticles containing GA and control films O+GA were colored, with good structural integrity evidenced by SEM. The solubility of the active nanomaterials was lower than the control one. In the FTIR spectra of modified samples with TPP and GA, the peak at 1328 cm⁻¹ showed a shift and a minor definition, making clear the interaction of both compounds with the polymer. The release rate of the active compound from the matrices obtained by the inclusion of nanoparticles was slower than from control films Q+AG. The functionalization was positive from the point of view of the process control, extending the release period and allowing designing materials for specific applications.

Keywords: sodium tripolyphosphate, gallic acid, ionotropic gelation, release profile.

INTRODUCCION

El diseño y aplicación de matrices para la vehiculización, regulación y dosificación controlada de compuestos activos es uno de los aspectos de mayor relevancia en el desarrollo de materiales activos. Se han utilizado matrices con diferentes funcionalidades para la dosificación de diversos componentes activos; empleando polímeros de naturaleza sintética, como de origen natural (Hu et al. 2014). El quitosano (Q) es un polielectrolito catiónico obtenido por desacetilación de la quitina, la cual es el segundo biopolímero más abundante del planeta (Friedman et al. 2010). El tripolifosfato sódico (TPP) es un anión multivalente capaz de interactuar con el Q para formar redes iónicas entrecruzadas a través de un método denominado gelificación ionotrópica, el cual permite obtener micro y nanopartículas activas a base de Q (Calvo et al. 1997). Estas interacciones son posibles ya que el Q posee en su estructura grupos amino libres los cuales son altamente reactivos, permitiendo modificar la funcionalidad del polímero (Bodnar et al. 2010). Las partículas formadas han sido funcionalizadas para ser utilizadas como vehículos de distintos componentes activos (Gopalakrishnan et al. 2014) y (Honary et al. 2014).

En este trabajo se desarrollarán materiales activos aprovechando las propiedades antes mencionadas para encapsular ácido gálico (AG) por tratarse de un compuesto con demostrada capacidad antioxidante. Esta actividad se atribuye a la presencia de grupos OH unidos al anillo bencénico de la estructura del AG, que poseen una muy baja entalpia de unión con el anillo, lo que les confiere la capacidad de ser considerablemente reactivos ante compuestos radicalarios (Pasanphan *et al.* 2008).

Schreiber (2012) estudió la capacidad antioxidante de matrices de Q modificada con AG, materiales que presentaron óptimas propiedades bactericidas y antioxidantes para ser aplicados en alimentos.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

- desarrollar sistemas activos a base de Q con micro y nanopartículas cargadas con AG incluidas en dicho soporte;
- ii) caracterizarlas propiedades de las matrices obtenidas desde el punto de vista estructural y físico-químico;
- iii) estudiar y modelar matemáticamente el perfil de liberación del compuesto activo incorporado.

MATERIALES Y METODOS

Reactivos:

El Q utilizado fue proporcionado por *Polymar Ciência e Nutrição* (Fortaleza, Brazil). También se utilizaron ácido gálico (AG) de grado analítico, tripolifosfato de sodio y ácido acético proporcionados por Anedra (Buenos Aires, Argentina).

Síntesis de partículas

La síntesis de las partículas fue realizada siguiendo una modificación del método propuesto por Calvo *et al.* (1997). Las partículas se obtuvieron, por goteo desde bureta, de una solución acuosa de TPP al 2% (p/v) a una solución polimérica conteniendo Q (2% p/p en ácido acético al 2% v/v) y AG. Una vez terminado este proceso, las suspensiones se homogeneizaron durante 10 minutos a 13.500 rpm mediante un equipo Ultraturrax T-25 (Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik, Alemania).

Las formulaciones elegidas para realizar la síntesis de las partículas fueron previamente seleccionadas a través del uso de un diseño central compuesto empleado para optimizar los valores de distintos parámetros característicos de las partículas (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros de las formulaciones elegidas para formular las suspensiones.

Muestra	Q(%)	Q:TPP	AG(mg de AG/g	
			de Q)	
Q:A	0,75	5	50	
Q:B	0,75	3	50	

Caracterización de las nanopartículas

Eficiencia de encapsulación (EE)

Se monitoreó la eficiencia de encapsulación (EE) de las partículas sintetizadas. Para ello se centrifugaron las suspensiones a 20.000 rpm durante 15 min y luego se cuantificó la concentración de AG remanente en el sobrenadante por el método de Folin-Ciocalteau. Se tomaron 0,2 ml del sobrenadante y se colocaron en un tubo de ensayo conteniendo 2ml de Na₂CO₃ 2% (p/v), se dejó en reposo durante 2 min y a continuación se agregaron 0,2 ml del reactivo de Folin-Ciocalteau (1:1). Se agitó mediante vórtex y, luego de un tiempo de reacción de 30 min, se procedió a la medida de absorbancia a 725 nm. Todas las medidas se efectuaron por triplicado.

Para determinar la EE porcentual se utilizó la siguiente ecuación:

(1)

donde: *mAGi* es la masa inicial de AG pesada para encapsular y *mAGsob* es la masa de AG monitoreada en el sobrenadante.

Potencial Zeta (PZ)

El potencial zeta (PZ) de las suspensiones de partículas obtenidas se determinó mediante un equipo Malvern Zetasizer. Previo al análisis, en cada suspensión se evaluó el índice de refracción y el valor de conductividad.

Distribución del tamaño de partículas

La distribución y el tamaño de partículas de las suspensiones se determinaron mediante el uso de un equipo de dispersión estática de luz Master Sizer 2000E (Malvern). Se tomaron alícuotas de cada suspensión y se colocaron en un recipiente con agua destilada con agitación a 2000 rpm. Un haz de radiación láser incide sobre una celda interna transparente, donde recircula la suspensión diluida. Un software incorporado en el equipo permite traducir este patrón con la correspondiente distribución de tamaño de partículas.

Formulación de películas activas

Las películas a base de quitosano se prepararon por solubilización del Q al 1,5% (p/p) en una solución de ácido acético al 1,5 % (v/v).

Se formularon dos tipos de matrices dependiendo de la forma de inclusión del compuesto activo en la matriz soporte de quitosano. Por un lado se prepararon películas de Q con la incorporación directa del compuesto activo en la solución filmogénica, las cuales se llamarán películas control Q+AG. Por otro lado, se formularon películas conteniendo una suspensión de partículas (A o B) que encapsulan el compuesto activo. En todos los casos las películas se obtuvieron por moldeo en placas de acrílico y secado en estufa a 37°C de las soluciones filmogénicas.

Caracterización de las películas formadas

Espesor

Las medidas de los espesores de las películas se realizaron utilizando un micrómetro digital (Microprocessor digital meter. CM-8822) para materiales no conductores y sustratos no ferrosos.

Propiedades mecánicas

Los ensayos fueron realizados en un equipo de análisis dinámico-mecánico Q800 (TA Instruments, New Castle, EEUU) usando pinzas de tensión con un sistema de enfriamiento con N_2 liquido. Las películas se cortaron con una geometría rectangular (30 mm de largo, 6 mm de ancho y espesores entre 90 y 150 μ m). Los gráficos obtenidos de esfuerzo-deformación fueron analizados utilizando el software Universal Análisis 2000.

Propiedades térmicas

Se empleó la técnica de análisis dinámico mecánico (DMA) para determinar las temperaturas de relajación asociadas a la transición vítrea (T_g) de los materiales. Se llevaron a cabo ensayos de barrido de frecuencias a 1, 3, 5, 10 y 15 Hz dentro del rango de viscoelasticidad lineal. La temperatura se varió desde -90 a 200°C a una velocidad de calentamiento de 5°C

min⁻¹. Las películas se cortaron con una geometría rectangular (30 mm de largo, 6 mm de ancho y espesores entre 90 y 150 μm de espesor).

Tanto los parámetros evaluados por MDSC como por DMA se analizaron con el universal Analysis V1.7F software (TA Instrument).

Las muestras también fueron analizadas por calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC Q100, TA Instruments, EEUU). Para el ensayo, se cortaron muestras de las películas formadas y se colocaron en cápsulas de aluminio herméticamente cerradas. Los parámetros vinculados al proceso se determinaron con el Universal Analysis V1.7F software (TA Instruments).

Los análisis de MDSC se realizaron a una velocidad de calentamiento de 10°C min⁻¹ en un intervalo de temperaturas de -80 a 200°C. Luego de que el primer barrido fue completado, se procedió al enfriamiento de la muestra hasta alcanzar una temperatura de -100°C donde se programó una isoterma durante 5 min para estabilizar el sistema. Posteriormente se registro una segunda corrida en el rango de temperaturas de -100° hasta 350°C con el objeto de alcanzar la temperatura de descomposición del polímero.

Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) se determino de acuerdo una modificación de la norma ASTM E96 (Mali *et al.*, 2002). Previo al ensayo las muestras se almacenaron durante 48 h a 75% de HR. Para realizar las determinaciones, las películas se colocaron en celdas de acrílico, las que se dispusieron en contenedores herméticos. El gradiente de 75% de HR a través de las películas se obtuvo colocando sílica gel anhidra en la celda

(0% HR) y una solución saturada de NaCl en el contenedor (75% HR). La diferencia de presión parcial de vapor de agua existente a ambos lados del film proporciona la fuerza impulsora para el flujo de vapor a través de la película. Este gradiente corresponde a 1753,55 Pa, expresado como presión parcial de vapor de agua a 20°C. Se registró el cambio en el peso de la celda en función del tiempo (h). Los datos se regresionaron linealmente y, considerando el espesor, se calculó la PVA (g s⁻¹ m⁻¹ Pa⁻¹) a 20 °C.

Medidas colorimétricas

El color de las películas se midió usando un colorímetro Minolta Serie CR 300 (Osaka, Japón) calibrado con un estándar (Y = 93.2, x = 0.3133, y = 0.3192). Se utilizo la escala CIELab, y se midió L, que describe la luminosidad (100 para el blanco y 0 para el negro) y los parámetros a* (rojo – verde) y b* (amarillo – azul) que describen las coordenadas de cromaticidad. Los ensayos se realizaron colocando las películas sobre el estándar. Se registraron 5 medidas para cada película medida.

Humedad

El contenido de humedad se determinó registrando el peso de la matriz a tiempo inicial y luego de ser secada en estufa a 105°C hasta peso constante.

Solubilidad

Se cortaron muestras de 4×4 cm² de cada película, se pesaron con precisión de 0,0001 g y se colocaron en vasos de precipitados con 100 ml de agua destilada. Las muestras se mantuvieron bajo agitación constante durante una hora a temperatura ambiente. Las piezas remanentes de las películas se

secaron en estufa a 105 ± 1°C hasta peso constante. El porcentaje de solubilidad de las muestras se calculó a partir de la siguiente ecuación:

Solubilidad%=((Peso seco inicial-Peso seco final)/Peso seco inicial)*100 (2)

Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

Hinchamiento

Las medidas de esta propiedad se realizaron cortando muestras de 3×3 cm², las que fueron introducidas en un recipiente a humedad controlada (HR 100%). Este recipiente se acondicionó en una cámara a una temperatura controlada (20°C). El peso de las películas se registró (precisión 0,0001 g) a intervalos regulares de tiempo y se graficó el % de hinchamiento de las matrices en función del tiempo. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

Análisis por SEM

Los estudios de la morfología de las películas se realizaron por microscopía electrónica de barrido con un SEM FEI QUANTA 200 (Japón), sobre muestras criofracturadas por inmersión en N_2 líquido.

Espectroscopía de infrarrojo (FTIR)

Los espectros de FTIR de las películas de Q se registraron en la región 4000 a 400 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹ realizando 60 escaneos por ensayo, con un espectrofotómetro FTIR Nicolet, iS10 Thermo Scientific, (USA). Los datos se analizaron utilizando el software Omnic 8 (Thermo Scientific).

Ensayos de liberación del compuesto activo

Para evaluar la liberación del compuesto activo incorporado (ácido gálico) en las películas previamente formadas, se pesó una masa aproximada de 1 g de cada matriz, para luego introducirlas en una malla para protegerlas de pérdidas por solubilidad. Las muestras se sumergieron en 75 ml de agua destilada y se comenzó a registrar el tiempo de la liberación. Se tomaron 200 µl de solución a intervalos de tiempo programados. El contenido de AG de las muestra se cuantificó por el método de Folin-Ciocalteau.

Análisis estadístico

Para seleccionar las formulaciones que se utilizaron para sintetizar las partículas se uso un Diseño Central compuesto a través del manejo de el programa Design Expert 9^R.Para el análisis de los resultados obtenidos se empleó el test de comparación de medias de Fisher (LSD) y análisis de varianza (ANOVA), utilizando el paquete estadístico Systat (versión 10, USA), con un nivel de significación de 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización de las partículas formadas

Según la teoría DLVO la agregación de partículas puede ser prevenida por repulsiones electrostáticas (Derjaguin y Landau, 1993; Verwey Overbeek, 1948). El valor de potencial zeta depende de la repulsión electrostática entre partículas; cuanto más alto es el valor, más fuerte la repulsión, obteniéndose un sistema más estable.

El valor de PZ para la solución de Q fue de +58 mV, este valor se correlaciona con las características estructurales del polímero, es

decir, con la presencia de grupos amino cargados positivamente (NH3+) al pH en el cual se solubiliza el mismo (pH=4).

Las partículas formuladas presentaron menores valores de PZ, los cuales disminuyeron con el aumento de la concentración de TPP, producto de la neutralización de las cargas positivas del Q (Tabla 2). Lorevicel *et al.* (2012) explicaron que valores de PZ positivos sobre la superficie de las partículas se atribuyen a las características catiónicas de las cadenas de quitosano. En el mismo sentido, Dudhani y Kosaraju (2010) y Liu *et al.* (2011), también informaron resultados similares para partículas de Q preparadas con TPP. Lorevicel *et al.* (2012) destacaron que el potencial zeta de las nanopartículas de quitosano puede variar entre 14,5 y 37,6.

Por otra parte, no se evidenció un efecto significativo del AG sobre los valores de PZ, hecho que puede explicarse teniendo en cuenta que el AG tiene un pKa de 4,33 (Losada Barreiro *et al.* 2005), indicando que en el intervalo de pH de trabajo (3,88-4,21) el compuesto activo no se encuentra en su forma ionizada. A partir de estos resultados, se puede inferir que a este pH,no es capazde neutralizar las cargas positivas del Q ni presentar cargas superficiales sobre las partículas.

La EE se vio significativamente afectada por el contenido de Q y la relación Q:TPP, debido a que el proceso de encapsulación aumenta al aumentar las cargas positivas del material encapsulante.

Las medidas de tamaño de partícula evidenciaron distribuciones centradas en valores cercanos a los 180 nm, como puede observarse en la Figura 1.

La muestra con menor concentración de TPP exhibió una distribución más "aguda" (esta magnitud puede cuantificarse a través del registro de la intensidad de pico de la distribución) lo cual da un claro indicio de que al aumentar el concentración de

TPP la cantidad de partículas se redujo considerablemente. Esta disminución de la intensidad del pico centrado alrededor de 180 nm está relacionada con el menor grado de encapsulación obtenido (Tabla 2). Considerando el valor de PZ de la suspensión B podría inferirse que si bien el contenido de TPP es mayor sólo una parte está disponible para encapsular y es resto sólo neutraliza las cargas positivas del Q dando valores de PZ menores.

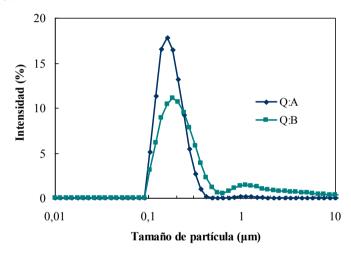


Figura 1. Distribución de tamaño de partícula de las muestras Q:A y Q:B.

Tabla 2: Caracterización de las partículas formadas

Suspensión	PZ(mV)	EE (%)	Intensidad (%)
Q:A	43,5	66,64	17,80
Q:B	25,5	42,2	11,07

Caracterización de las películas formadas

Propiedades fisicoquímicas de las películas

Se examinaron distintas propiedades de las películas formuladas, como la solubilidad (en medio acuoso a 20°C), porcentaje de humedad e hinchamiento. En la Tabla 3 se muestran los datos obtenidos de las propiedades mencionadas.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de las películas formuladas

Muestra	Solubilidad	Hinchamiento	Humedad	Luminosidad
	(%)	(%) [*]	(%)	L*
Q	53,5 (1,5)	n.d.	17,1 (0,8)	87,81
Q+AG	29,4 (2,2)	100 (10)	19,6 (0,2)	39,53
Q:A	32,3 (0,5)	92 (10)	21,60	37,60
			(0,01)	
Q:B	39,4 (1,4)	95(14)	21,6 (0,7)	44,29

*Los valores de hinchamiento corresponden a muestras almacenadas en una atmósfera al 100% HR durante 72 h.

La solubilidad es una propiedad fundamental en los casos en que las matrices desarrolladas van a ser usadas para la liberación controlada de principios activos. Esta propiedad fue significativamente menor (p<0,05) para las muestra con incorporación de AG que el valor obtenido para el control Q. El valor no presentó diferencias significativas (p>0,05) entre las matrices formuladas con partículas y las películas preparadas por inclusión directa del compuesto activo Q+AG.La disminución de la solubilidad puede ser atribuida a la formación

de fuertes puentes de hidrógeno entre las nanopartículas y la matriz de Q (Tabla 3). Los valores de hinchamiento de la matriz no presentaron diferencias significativas (p>0,05) entre las distintas muestras, en tanto que el contenido de humedad aumentó con el agregado de AG y con la incorporación de la suspensión coloidal dentro de la matriz polimérica.

Color de las películas

Las películas de Q conteniendolas nanopartículas y las películas control Q+AG resultaron ser intensamente coloreadas. Esta coloración podría atribuirse a las interacciones establecidas entre el Q y el compuesto activo (AG) incorporado en la matriz. Como puede observarse en la Figura 2a y b la película Q:A presenta una coloración mayor que Q:B. Esto podría explicarse teniendo en cuenta que la matriz Q:A posee una mayor relación Q/TPP, evidenciando que a menor concentración de TPP hay más grupos amino libres capaces de interactuar con el AG. Los resultados de los valores de luminosidad (L*)se resumen en la Tabla 3, siendo esteparámetro el más afectado.

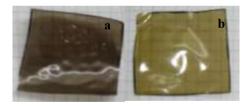


Figura 2. Fotografías de: a) película Q:A y b) película Q:B.

Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas estudiadas se evaluaron a través de ensayos de esfuerzo-deformación. Los resultados obtenidos pueden visualizarse en la Figura 3.

El patrón de comportamiento de Q correspondió al de un material rígido. Como se puede ver en la Figura 3 tanto el agregado de partículas como de AG produjo un aumento en la elongación de las películas, manteniendo constante los valores de esfuerzo.

Este efecto fue observado en trabajos previos por otros autores (de Moura *et al.*2008, 2009), quienes hallaron que nanopartículas de Q favorecieron fuertemente la elongación de películas de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

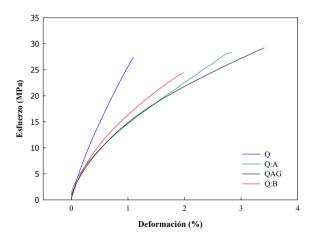


Figura 3: Ensayo de esfuerzo-deformación de películas a base de quitosano.

Permeabilidad al valor de agua (PVA)

Los resultados obtenidos concuerdan con lo encontrado por de Moura *et al.* (2008) quienes afirman que el agregado de nanopartículas a un film de HPMC disminuyó la PVA ya que la difusión del agua dentro de la matriz polimérica depende de los espacios libres que hay en la misma, viéndose reducidos por la presencia de estas partículas. De acuerdo a Chang *et al.* (2010), la inclusión de nanopartículas produce un camino tortuoso que dificulta el pasaje de las moléculas de agua a través de la matriz. Por otra parte Hossemi *et al.* (2015) explica que durante la evaporación del solvente se produce la difusión de las nanopartículas de Q y el llenado de los espacios libres de la matriz.

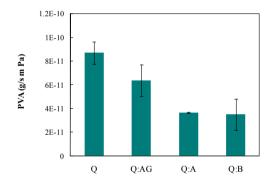


Figura 4. PVA de distintas películas a base de quitosano.

Solubilidad

La solubilidad es una propiedad fundamental en los casos en que las matrices desarrolladas van a ser usadas para la liberación controlada de principios activos.

La disminución de la solubilidad puede ser atribuida a la formación de fuertes puentes de hidrógeno entre las nanopartículas y la matriz de Q (Tabla 3).

Propiedades térmicas

La temperatura de transición vítrea fue analizada por dos técnicas, una de ellas es el análisis dinámico mecánico (DMA). En la Figura 5 se observan el barrido de tan δ en función de la temperatura.

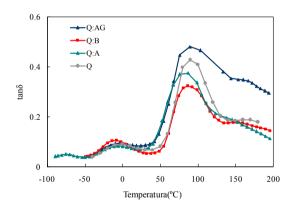


Figura 5: Patrones mecánico-dinámico de películas formuladas a base dequitosano.

A partir de las curvas de tan δ se pueden obtener los valores de las T_q de las películas, encontrándose los valores de T_q de Q y Q+AG cercanos a 100°C, en tanto que las películasconteniendo partículas evidenciaron una ligera disminución de la misma (Figura 5).

Las curvas obtenidas por MDSC evidenciaron la aparición de un evento endotérmico asociado a la remoción de agua presente en la matriz. Como se puede ver en la Figura 6 los valores de la temperatura del pico (T_p) de Q, Q:A y Q:B no presentaron diferencias significativas (p>0,05). Mientras tanto la temperatura T_p de las matrices Q:AG se observó a valores más altos.

La Tabla inserta en la Figura 6, muestra los parámetros obtenidos a partir de los termogramas. Los picos endotérmicos de las muestras que contienen AG presentaron una mayor área evidenciada en los valores de ΔH . De los resultados obtenidos, se observó una correlación entre los valores de humedad de las películas y la entalpía asociada a la transición térmica observada por MDSC (Tabla 3), indicando que un mayor valor de ΔH implica una cantidad de energía mayor para vaporizar el agua contenida en la matriz.

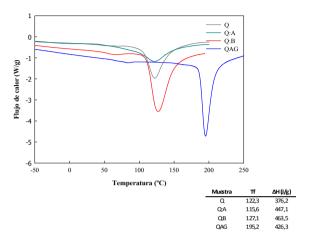


Figura 6: Termogramas obtenidos mediante ensayos de MDSC de las distintas películas a base de Q.

Microestructura de las películas

SEM

Las micrografías obtenidas evidenciaron superficies lisas y homogéneas, sin poros y con buena la integridad estructural (Figura 7 a y b). Sin embargo la morfología del corte transversal de las películas de Q y de las matrices conteniendo las nanopartículas fue diferente. Es claro que la incorporación de nanopartículas produjo cambios en la microestructura de las películas, ya que condujo a la formación de rugosidades (Figura 7 b) y a la falta de homogeneidad en la matriz. Esta estructura

podría explicar la disminución en los valores de permeabilidad al vapor de agua obtenidos. Chang *et al.* (2010) trabajando con materiales nanocompuestos a base de almidón-chitosan observó efectos similares.

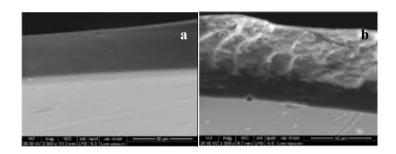


Figura 7. Micrografías obtenidas por SEM de a) Q y b) Q:B

Análisis por FTIR

Los picos característicos del quitosano se pueden observar en la Figura 9, donde la vibración de tensión del grupo carbonilo (-C=O, amida I) aparece a 1650 cm⁻¹ y la vibración de torsión para el enlace –CH₃- se observa a 1380 cm⁻¹. Los espectros de las películas con la adición de TPP o TPP y AG revelaron un corrimiento de la primera banda a 1640 cm⁻¹ y la atenuación de la segunda.

Los análisis de FTIR también indicaron una menor definición del pico a 1328 cm⁻¹, el cual es producto de la amida terciaria del Q (Escobar Sierra *et al.* 2013). Este fenómeno fue observado en todas las muestras que fueron modificadas con TPP, indicando una posible interacción entre este anión y el grupo funcional del polisacárido (Figura 8) Este efecto también pudo observarse en

muestras conteniendo sólo AG (Q+G), indicando que la amida terciaria interactúa con el componente activo de una manera similar.

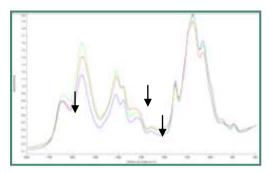


Figura 8. Espectro de FTIR de las películas () Q+AG, () (Q:TPP), ()

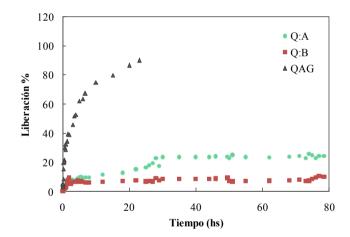
Ensavos de liberación

Los ensavos de liberación fueron realizados bajo agitación en extrajeron muestras a tiempos medio acuoso. Se preestablecidos, que se cuantificaron por Folin-Ciocalteau obteniéndose los porcentajes de liberación del compuesto activo. Como puede verse en la Figura 9 la liberación desde la película Q+AG se produjo en los primeros 30 min del experimento, en tanto que los materiales que contienen el compuesto activo encapsulado en las partículas mostraron una liberación considerablemente más lenta, lo cual podría deberse a un entrecruzamiento efectivo que no permite la liberación de AG a la solución incluso después deun tiempo de 72 h. El máximoporcentaje de liberación delcompuesto activo para la muestra Q:A fue del 25% en tanto que para la muestra Q:B el porcentaje fue solo de un 10%.

CONCLUSIONES

Se observó que al aumentar el contenido de nanopartículas aumentó el valor de PZ, en concordancia con un posible aumento en la estabilidad de las suspensiones. El contenido de AG en las soluciones filmogénicas produjo una disminución clara en la luminosidad de las mismas, expresado mediante el parámetro L*. La inclusión de las suspensiones de nanopartículas en las matrices de Q generó una disminución de la permeabilidad al agua, lo que implica que estos materiales podrían presentar una ventaja en aplicaciones de conservación.La liberación de AG se vio retardada en las películas que incluyeron nanopartículas, evidenciando una posible aplicación de estos materiales para sistemas de liberación controlada.

Figura 9. Cinética de liberación de AG de las muestras conteniendo el principio activo encapsulado y sin encapsular. Los ensayos fueron realizados en medio acuoso.



BIBLIOGRAFIA

Bodnar M, Hartmann JF, Borbely J. 2006. Synthesis and study of cross-linked chitosan-npoly(ethyleneglycol) nanoparticles. Biomacromolecules, 7: 3030–3036.

Calvo P, Remuñán C, López JL, Vila-Jato, Alonso MJ.1997. Novel hydrophilic chitosan—polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. Journal of Applied Polymer Science, 63: 125–132.

Chang P R, Jian R, Yu J, Ma X, 2010. Fabrication and characterisation of chitosan nanoparticles/plasticised-starch composites. Food Chemistry, 120: 736-740.

Dudhani AR, Kosaraju S L. 2010. Bioadhesive chitosan nanoparticles: preparation and characterization. Carbohydrate Polymers, 81: 243-251.

Escobar Sierra DM, Ossa Orozco CP, Quintana MA, Ospina WA. 2013. Optimización de un protocolo de extracción de quitina y quitosano desde caparazones de crustáceos. Scientia et Technica Año XVIII, 18, 1, Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN 0122-1701

de Moura MR, Avena-Bustillos RJ, Mc Hugh TH, Krochta JM, Mattoso LHC. (2008). Properties of novel hydroxypropyl methylcellulose films containing chitosan nanoparticles. Journal of Food Science, 73: 31-37.

de Moura MR, Aouada FA, Avena-Bustillos RJ, Mc Hugh TH, Krochta JM, Mattoso LHC. 2009. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. Journal of Food Engineering, 92:448–453.

Friedman M, Juneja VK. 2010. Review of antimicrobial and antioxidative ctivities of chitosans in food. Journal of Food Protection, 73(9): 1737-1761.

Gopalakrishnan L, Ramana LN, Sethuraman S, Krishnan UM. 2014. Ellagic acid encapsulated chitosan nanoparticles as anti-hemorrhagicagent. Carbohydrate Polymers, 111: 215–221.

Honary S, Ebrahimi P, Hadianamrei R. 2014. Optimization of particle size and encapsulation efficiency of vancomycin nanoparticles by response surface methodology. Pharmaceutical Development and Technoogy, 19(8): 987–998.

Hosseini SF, Rezaei M, Zandi M, Farahmandghavi F. 2015. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. Food Hydrocolloids, 44: 172-182.

Hu X, Zhou G, Huang Y, Xie Z, Jing X. 2014. Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. Journal of Controlled Release, 185: 12–21.

Liu Y, Sun Y, Li Y, Xu S, Tang J, Ding J, et al. 2011. Preparation and characterization of a-galactosidase-loaded chitosan nanoparticles for use in foods. Carbohydrate Polymers, 83: 1162-1168.

Lorevicel M V, de Moura MR, Aouada FA, Mattoso LHC. 2012. Development of novel guava puree films containing chitosan nanoparticles. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 12: 2711-2717.

Losada Barreiro S, Gonzalez Romero E, Bravo Diaz C. 2005. Reactividad de los iones arendiazonio con el ácido gálico: efectos micelares. Coloides e interfases. Ediciones Universidad de Salamanca ISBN: 84-7800-524-2.

Pasanphan W, Chirachanchai S. 2008. Conjugation of gallic acid onto chitosan: An approach for green and water-based antioxidant. Carbohydrate Polymers, 72(1): 169-177.

Schreiber SB. 2012. Chitosan-gallic acid films as multifunctional food packaging. Master's Thesis, University of Tennessee. Schlesier K, Harwat M, Böhm V, Bitsch R. 2002. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. Free Radical Research, 36(2): 177-187.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado en el marco del Proyecto PICT 2012-0415, de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva.

MULTIVARIATE ANALYSIS OF PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF COFFEE SUBJECTED TO DIFFERENT POST-HARVEST PROCEDURES DURING STORAGE

Oliveira A.P.L.R.¹, Corrêa P.C.², Reis E.L.², Oliveira G.H.H.¹, Araújo A.C.G.¹

1: Instituto Federal de Brasília— *Campus* Gama, Brasília, Distrito Federal, Brazil.

2: Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil. ana.rodrigues@ifb.edu.br

Resumen: El objetivo de este trabajo fue evaluar las características físicas y químicas de café sometido a diferentes procedimientos postcosecha para relacionarlos con análisis sensorial hasta un año de almacenamiento. Los frutos de café fueron cosechados y parte fue descascarada y llevada a la Universidad Federal de Vicosa. Muestras de café descascarados fueran secadas a temperaturas de 40, 50 y 60 °C. Muestras de café cereza fueran secadas a las mismas temperaturas, todavía cuando sometida a 40 °C, se agregaran 0, 10, 20 y 30 % de granos de café crudo. Después, las muestras fueran analizadas por color, conductividad eléctrica, densidad aparente, mil masa de granos, cromatografía gaseosa y análisis sensorial. Fue concluido que las características físicas y químicas de café sometidos a diferentes procedimientos postcosecha tienden a diferenciarse entre sí, y la clasificación de la muestra por el PCA es posible. Hasta doce meses de almacenamiento, muestras que contenían diferentes porcentajes de grano crudo podrían diferenciarse por este método. Se puede concluir que la variación de las propiedades físicas y químicas de café sometido a diferentes procedimientos postcosecha puede estar relacionado con el análisis sensorial por su PCA y que después de doce meses de almacenamiento, esta diferenciación es explícita.

Palabras clave: análisis sensorial, PCA, calidad de taza, postcosecha, las propiedades físicas.

Abstract: The aim of this work was to evaluate the physical and chemical characteristics of coffee submitted to different postharvest procedures in order to relate them with sensorial analysis, previously and after one year of storage. To do so, coffee fruits were harvested and part was dehulled and led to the Federal University of Vicosa. Dehulled coffee samples were dried at temperatures of 40, 50 and 60 °C. Cherry coffee samples were dried at the same temperatures, however when submitted to 40 °C, they were added by 0, 10, 20 and 30 % of crude coffee grain. After drying, samples were analyzed by color, electrical conductivity, bulk density, one thousand grain mass, gaseous chromatography and sensorial analysis. It could be concluded that, physical and chemical characteristics of coffee submitted to different post-harvest procedures tended to differentiate among themselves, and sample classification by PCA is possible. After twelve months of storage, even samples containing different percentages of crude grain could be differentiated. Thus, it can be concluded that variation of physical and chemical properties of coffee submitted to different post-harvest procedures may be related to sensorial analysis by its PCAs and that after twelve months of storage, this differentiation becomes explicit.

Keywords: sensorial analysis, PCA, cup quality, post-harvest, physical properties

INTRODUCTION

The marketing of coffee in the domestic and mainly in the external markets depends upon the physical and chemical characteristics of the product. According to Silva et al. (2005), the characteristic flavor of coffee comes from the beans and is related to the post-harvest system that the coffee is submitted to. Drying, for example, may alter the color, the aspect, the aroma, and taste of the beverage. These changes are evidenced when the product is stored for long periods, reducing the quality of the beverage (Afonso Junior 2001). The current classification of coffee for sensorial analysis is based in empirical and subjective variables. To assist the cup testing with more objective tests, few studies have been developed attempting to relate physical and chemical components of the grain and the quality of coffee (Pimenta 2001, Silva 2003). However, a study evolving both characterizations (color, mass loss, cell membrane permeability, and chemical composition gas chromatography) has not been performed. This fact may be related to the complexity of a few tests or the high number of response variables, making it difficult to interpret the results using conventional statistics. Thus, this work aimed to assess the possibility to implement procedures for classifying coffee beans subjected to different postharvest procedures, with scientific bases, covering both physical and chemical analyses of coffee beans using principal component analysis (PCA), to assist the traditional sensory analysis.

MATERIALS AND METHODS

Green coffee beans and coffee fruits in the cherry stage were used (Coffee arabica L.), cv. Catucai, harvested in Brauna farm, located in the municipality of Araponga, MG, Brazil. After harvest, a portion of the cherry product (mature) was dehulled and remaining coffee were added with different percentages of green beans (0, 10, 20, and 30 %). Then, samples were brought to the Laboratory of Physical Properties and Quality Evaluation, located in CENTREINAR (National Training and Storage Center), at the Federal University of Viçosa, where they were prepared for testing and quality analyses. Cherry coffee beans and parchment coffee without addition of green coffee beans were immediately dried at temperatures of 40, 50, and 60 °C in ovens with forced air circulation until they reached the moisture content of about 11 % w.b. These originated samples C40, C50, C60, P40, P50, and P60. The mixtures of cherry and green coffee were dried at 40 °C, originating samples C10, C20, and C30. By observing the desired moisture content, samples were homogenized and stored at room temperature in jute bags and, after processing, were forwarded for physical and chemical characterizations every three months during one year.

Moisture Content

Measurements of the coffee moisture content were performed using the oven method at 105 ± 3 °C for 24 h, as recommended by Brasil (1992), using an analytical balance with a resolution of 0.001 g. Samples were homogenized, and a portion of 100 g was removed in triplicate for this determination.

Bulk Density

Bulk density (ρ_{ap}), in kilogram per cubic meter, was determined, using a hectoliter weight balance with resolution of 0.01 g, in five repetitions.

Integrity of Cell Membranes

Damage level in the coffee cell walls was evaluated by extravasation of cellular solutes. Five samples of 50 dehulled coffee beans had their mass determined and then immersed in 75 mL of deionized water for 24 h at a temperature of 25 \pm 1 °C in a BOD chamber. After this period, the electrical conductivity of the imbibition solution was measured by a conductivity meter (Digimed DM3) after calibration with KCl solution (potassium chloride) standard conductivity 1.412 μ S cm⁻¹.

Color Index Determination

The quantification of coffee bean color was performed using a tristimulus colorimeter with direct reading of coordinates L (lightness) and a (red/green shades) and b (yellow/blue shades) reflectance, using the HunterLab scale and employing the illuminating 10°/D60 (Afonso Júnior 2001).

Volatile Constituents Analysis

All samples were ground in a mortar with the aid of liquid nitrogen. Then, 2 g of each sample was placed in a flask with a capacity of 5 mL, hermetically closed. For the extraction of volatile compounds of coffee, a technique of solid-phase microextraction (SPME) for "headspace" was used and

performed aid of with the а fiber Carboxen/poly(dimethylsiloxane) (CAR/PDMS) of 75 mm in the oven at 40 °C for 15 min (Gonzales-Rios et al. 2007). Analyses of the volatile constituents were carried out in triplicate. Quantitative analysis of coffee volatile compounds was performed by GC/flame ionization detector (FID). Desorption of the fibber was carried out during 4 min in a chromatograph SIMADZU GC-17 equipped with a capillary column DBWAX (J&W Scientific, 30 m×0.332 mm×0.25 µm). The injection was performed in splitless mode with injector at 250 °C. Nitrogen was used as carrier gas at a flow rate of 1.5 mL min⁻¹. The column temperature was programmed from 44 to 170 °C at a heating rate of 3 °C min⁻¹ and, then, from 170 to 250 °C at 8 °C min⁻¹. The detector temperature (FID) was kept at 250 °C (Gonzales-Rios et al. 2007).

The analysis of coffee volatile compounds was performed by GC/MS. For fibber desorption, in this case, a Shimadzu GC-174 gas chromatograph coupled to a mass spectrometer QP-5050A GC with a DB-WAX column (J&W Scientific, 30 m \times 0.32 mm \times 0.25 µm) has been used. Temperature in the column and in the injector was the same as described in the GC/FID analysis. Heliumwas used as carrier gas at a flow rate of 1.5 mL min⁻¹. The ionization energy was 70 eV (Gonzales- Rios *et al.* 2007). Volatile compounds were identified by Kovats index calculation and compared with the literature (Amstalden *et al.* 2001, Nebesny *et al.* 2007, Gonzales-Rios *et al.* 2007). Quantification was obtained in proportional percentage concentration by determining the area under each peak in the chromatogram.

Sensorial Analysis

Tasters associated with Illy Cafe in Trieste, Italy, conducted sensorial analyses, by cup testing. Each sample was classified accordingly to the body, aroma, acidity, sweetness, overall aroma, astringency, and characteristic taste and rancidity and received grades 0–9 for each sensorial attribute.

Statistical Analysis

Given the high number of variables to be evaluated in order to cluster samples of the same physical, chemical, and sensorial characteristics, the PCA technique was used. For the analysis of physical and chemical features, a 27×12 (nine samples with three replicates and 12 variables) matrix was used, and for sensorial analysis, a 9×13 (nine samples and 13 variables) matrix was used.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The results obtained by physical and chemical analyses (proportional concentration of volatile constituents), as well as the sensorial attributes, were analyzed by PCA, and part of the samples had significant differences after being represented in the new coordinate axes, being classified in groups or individually. After the auto-scaling of the original data sets, curves (**Figures 1 e 2**) of results described in three principal components (PC1, PC2, and PC3) were drawn, for the variables in each storage time.

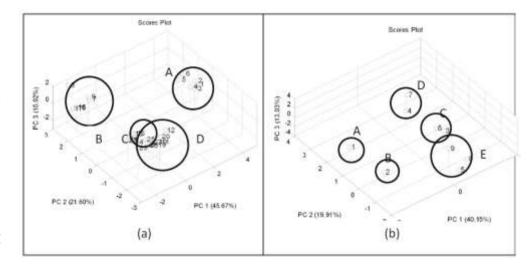


Figure 1: Analysis of principal components generated from the following: a physical and chemical characteristics of coffee bean samples and b sensorial analysis of coffee samples at the beginning of storage

It is possible to observe, in **Figure 1a**, that the behavior of the variables is explained by 78.19 % of data variance, and the principal component 1 (PC1) explained 45.67 %, the principal component 2 (PC2) explained 21.60 %, and the principal component 3 (PC3) explained 10.92 % of this variance. Thus, as in **Figure 1b**, the principal components explained 73.09 % of the data variance. PC1 explained 40.15 %, PC2 explained 19.91 %, and PC3 explained 13.03 % of the data variance.

It can be seen, in **Figure 1a**, that a distinction was possible by projecting components of the new coordinate axes in four groups of coffee grains (A, B, C, and D) at the beginning of storage. It is possible to note that the interaction between PC1 and PC3 was responsible for separating the sample dried in

coconut at a temperature of 50 °C (group D). The distinction of this sample characteristic with regard to others is related to the drying temperature and the processing that the sample was submitted to. It is known that the persistence of the bean peel accompanied by an increase in drying temperature causes further damage to the grains (Reinato 2003; Coradi et al. 2008). The remaining samples were grouped into A, B, and C by the interaction between the PC1 and PC2. Group A is characterized by samples dried in parchment at 40 and 50 °C. This distinction shows, as well as group D, the influence of the interaction between the drying temperature and the type of processing on the physical and chemical characteristics of the sample. By peeling the coffee fruit, a higher quality is reached, by decreasing the fermentation process and preventing further cellular disorganization in the grain. Oliveira et al. (2001) concluded that the temperature of 45 °C had the best results in all treatments in sensorial analysis. Vilela et al. (2002) observed superior characteristics of the beverage made of coffees that are peeled and pulped and with their mucilage removed over natural coffee. Group B is composed by samples dried at 60 °C. In this case, the high drying temperature used was the determining factor for the physical and chemical characteristics of the coffee, independently of the process at which the coffee was submitted. According to Amorim et al. (1977), the high drying temperatures are related with the disruption of cell membranes, whose structural modification enhances oxidation reactions affecting the coffee quality.

Similarly to the groups A and D, the physical and chemical characteristics of group C in the beginning of storage had influence from the interaction between the processing and drying temperatures at which the samples were submitted. Samples dried in coconut at a temperature of 40 °C had similar

characteristics. It is noteworthy that, in this group, samples of cherry coffee dried at 40 °C with percentages of 10, 20, and 30% of green grains were included, showing that the addition of green beans did not influence the coffees' physical and chemical characteristics, when compared with the coffee dried in coconut near the temperature considered to be ideal. According to Borém *et al.* (2006), the addition of green beans provides progressive loss of quality; however, the addition of 30 % green beans was not significant to perceive physical or chemical differences, regarding the analyzed parameters, among the samples in the beginning of the storage.

It can be seen, in **Figure 1b**, that the samples were distinguished into five groups: A, B, C, D, and E. The PC1 versus the PC3 is responsible for grouping C, in which the samples dried at 60 °C are separated from the other ones. Compared to **Figure 1b**, there is compatibility between sensorial evaluation and physical and the chemical characteristics evaluated, since the same separation was noticed. It can be seen that the PC1 versus the PC2 is responsible for groupings A, B, and D, in **Figure 1b**.

When making a parallel between the principal components of physical and chemical characteristics and the principal components of sensorial analysis, it appears that there is a similarity between the group A of **Figure 1b** and groups A and B of **Figure 1b**, in which the samples dried in parchment, at 40 and 50 °C, remained distinct from the other ones despite showing to be distinct among them in the sensorial analysis. Samples grouped in D in **Figure 1b** appear in two separated groups D and E (explained by the interaction between PC2 and PC3) in **Figure 1b**. In this case, the sensorial analysis is more detailed and distinguishes cherry coffee dried at 40 °C and coffee with 10 % of green from the other samples. The use of techniques for determining the tannins, which are responsible

for the astringent characteristic of green coffee, would be one more chemical characteristic to be added to the analysis, in order to have a differentiation between these samples. Thus, compatibility among physical and chemical analyses and sensorial analysis could be improved.

Figure 2 represents the analysis of the principal components physical, chemical, and sensorial characteristics of coffee grains after 12 months of storage. The principal components observed in **Figure 2a** explain 73.30 % of the total data variance. The PC1 explains 35.16 %, PC2 explains 25.57 %, and PC3 explains 14.57 % of the data variance. These distinguished the coffee into eight groups (A, B, C, D, E, F, G, and H). The principal components in **Figure 2b** explain 78.98 % of the total data variance. PC1 explained 47.30 %, PC2 explained 19.16 %, and PC3 explained 12.52 % of the data variance. These distinguished the samples into eight groups (A to H). It has been noted that the interaction between PC1 and PC3 explains the separation of groups A, B, G, and H from the others.

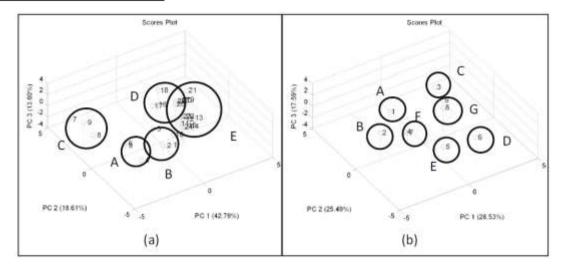


Figure 2: Analysis of principal components generated after 12 months of storage from the following: a physical and chemical characterizations and b sensorial analysis of coffee beans

After 12 months of storage, it is possible to observe, in **Figure 2a**, the differentiation between the samples in which green grains have been added, in groups G and H. This fact can be related to the presence of immature grains that influence physical and chemical characteristics of the coffee, being evidenced in storage (Afonso Júnior 2001).

It is verified that the interaction between PC2 and PC3 was responsible for the separation of groups E and F. In group E, the sample of coffee dried in coconut at 50 °C that had already been presented is separated from the others. Group F (cherry coffee samples dried in coconut at 40 °C and coffee with 10 % of green fruits) shows a similarity between physical and chemical characteristics of these samples after 12 months of storage, showing that, possibly, the presence of a small amount of green

fruit does not influence the quality of the coffee. It is observed in Figure 2b that the interaction between PC1 and PC3 was responsible for the separation of samples A, B, C, and D from the others. As well as, the PC1 versus PC2 was responsible for the separation of groups C, D, E, G, and H. It can be noted in Figure 2b, as well as in Figure 2a, that only the coffee dried in coconut at 40 °C and the one in which 10 % of green fruits has been added remained in the same group, being possible to emphasize that their physical and chemical characteristics as well as the sensorial analysis did not differentiate these samples, which suggests that when in small proportions, the immature fruits do not interfere in their quality. It is possible to verify that, after 12 months of storage, all existing groups in PCA of physical and chemical analyses can also be found in the PCA of sensorial analysis, showing consistency between the two analyses. It is seen that, in the course of storage time, the samples dried and stored in distinct conditions tend to differentiate themselves, thereby facilitating the separation into groups when performing PCA.

CONCLUSIONS

The drying temperature, the process, and the storage time at which these coffees were subjected were determinants to physical, chemical, and sensorial characteristics. In the course of storage time, samples subjected to several post-harvest processing tend to differ, thus facilitating the separation into groups when the analysis of principal components is performed. The samples containing high percentage of green grains differed from the others by principal components analysis, in the final months of storage. It appears that after 12 months of storage, all existing groups in PCA of physical and chemical analyses can also be found in the PCA sensorial analysis, showing compatibility between the two analyses.

BIBLIOGRAPHY

Afonso Júnior PC. 2001. Aspectos físicos, fisiológicos e da qualidade do café em função da secagem e do armazenamento. Thesis (Doctor in Agricultural Engineering), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Amstalden LC, Leite F, Menezes HC. 2001. Identificação de quantificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução/espectrofotometria de massas empregando um amostrador automático de "headspace. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 21(1):123–128

Borém FM, Reinato CHR, Silva PJ, Faria LF. 2006. Processamento e secagem dos frutos verdes do cafeeiro. Revista Brasileira de Armazenamento, Especial Café(9):19–24.

Brasil. 1992. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regra para Análise de Sementes, Brasília, 155p.

Coradi PC, Borém FM, Oliveira JA. 2008. Qualidade do café natural após diferentes tipos de secagem e armazenamento. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 12(2):181–188.

Gonzales-Rios O, Suarez-Quiros ML, Boulanger R, Barel M, Guyot B, Guiraud JP, Schorr-Galindo S. 2007. Impact of "ecological" postharvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. Journal of Food Composition Analysis 20:289–296. Nebesny E, Budryn G, Kula J. 2007. The effect of roasted method on headspace composition of robusta coffee bean aroma. European Food Research Tecnology, 225(1):9–19.

Oliveira GA, Vilela ER, Borém FM, Pereira RGFA, Andrade ET. 2001. Efeito de diferentes graus de maturação do café (*Coffea arabica* L.) e diferentes temperaturas de secagem na qualidade. In: Simpósio de pesquisas dos cafés do brasil. 864–871.

Pimenta CJ. 2001. Época de colheita e tempo de permanência do fruto ä espera da secagem, na qualidade do café. Thesis (Doctor in Chemistry, Physical-Chemistry and Food Biochemistry), Universidade Federal de Lavras, 145p.

Reinato CHR. 2003. Avaliação técnica, econômica e qualitativa do uso de lenha e GLP na secagem de café. Revista Brasileira de Armazenamento, 7:3–13.

Silva RF. 2003. Qualidade do café cereja descascado produzido na região Sul de Minas Gerais. Dissertation (Master in Agricultural Engineering), Universidade Federal de Lavras, 78p.

Silva AF, Minim VPR, Chaves JBP, Stringheta PC, Ribeiro MM. 2005. Avaliação do gosto amargo da bebida de café (*Coffea arabica* L.) orgânico por meio da análise tempo-intensidade. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 25(4):772–780.

Vilela ER, Chandra PK, Oliveira GA. 2002. Efeito da temperatura e umidade relativa no branqueamento de grãos de café. Revista Brasileira de Armazenamento, 1:31–37.

ACKNOWLEDGEMENTS

Instituto Federal de Brasília – *Campus* Gama, Brasília, Distrito Federal, Brazil.

Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

EVALUATION OF COLOR AND SOLUBLE SOLIDS CONTENT OF PERSIAN LIME SUBJECTED TO DIFFERENT STORAGE CONDITIONS

Oliveira A.P.L.R.¹, Corrêa P.C.², Oliveira G.H.H.¹, Aragão D.M.S.¹, Costa M.R.¹

1: Instituto Federal de Brasília— *Campus* Gama, Brasília, Distrito Federal, Brazil.

2: Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil. ana.rodrigues@ifb.edu.br

Resumen: Este trabajo objetivó evaluar el color y contenido de sólidos solubles de lima persa sometido a diferentes condiciones de almacenamiento. Las frutas de lima persa fueron adquiridas en el comercio local. Posteriormente, se analizaron el color, el contenido de humedad y el azúcar. Evaluación del color fue ejecutada con el uso de un colorímetro de color delta. Determinación del contenido de humedad se hizo por el método delaestufa (24 horas a 105 °C) hasta masa constante. Contenido de sólidos solubles se realizó por medio de ^oBrix. Después de la evaluación inicial, las frutas fueron divididas en cuatro lotes, sometidas a diferentes condiciones de almacenamiento (10/25 ° C y 95/60%). Según los resultados obtenidos, frutos almacenados a 10 °C y 60% de humedad relativa obtuvieron la menor variación de coordenadas "b". El menor incremento de color amarillo de las limas está relacionada con su proceso de senescencia. Comportamiento contradictorio se observó a 25 °C/95%. Se puede observar que el contenido de sólidos solubles, detectado por los valores ^oBrix, sufrió una disminución para las frutas almacenadas a 10 °C/95%. Es importante señalar que la variación de contenido sólido soluble sometido a 10 °C y 60% permaneció prácticamente inalterada.

Palabras clave: vida útil, cromo, contenido de sólidos solubles, almacenamiento.

Abstract: The aim of this work was to evaluate color and soluble solids content alterations of persian lime submitted to different storage condition. To do so, persian lime fruits were acquired at the local commerce. Afterwards, color and moisture content and sugar were analyzed. Color evaluation were accomplished with the aid of a delta color colorimeter. Moisture content determination was made by the oven method during 24 hours at 105 °C until constant mass. Soluble solids content was realized by means of oBrix. After initial evaluation, limes were divided into four lots, submitted to the different storage conditions (10 and 25 °C e 95 and 60 % of RH). According to the obtained results, fruits that remained under 10 °C and 60 % of RH obtained the lower variation of "b" coordinate. The lower yellow color increment of persian lime is related to its senescence process. Contradictory behavior was observed at 25 °C and 95 %. It can be noticed that soluble solids content, detected by °Brix values, suffered a decrease under 10 °C and 95 %. It is important to point out that soluble solid content variation submitted to 10 °C and 60 % remained practically unaltered.

Keywords: shelf life, chrome, soluble solids content, storage

INTRODUCTION

Citrus fruits are widely consumed and appreciatedworldwide, which in 2012 about 131 million tons were produced. Brazil is the number one of citrus producers, generatingabout 21 million tons of citrus annually, being oranges (around 90.2 %) the main product produced (FAO 2012). Lemons and limes trade represents a small amount of this share, about 5.7 % (FAO 2012). Even though this small market share, according to data from IBGE – Brazilian Institute of Statistics Family Budget Surveys (IBGE 2010), the citrus purchase accounted for 25% of total fruits acquired by households.

Oranges, lemons, tangerines and limes are from the botanical genus Citrus and Rutaceaefamily. Citrus fruits are widely consumed and appreciated, not only due to its pleasant taste but also to the nutritional value of them. Brazil is the largest producer and exporter of oranges, frozen orange juice and pasteurized orange juice (NFC - Not From Concentrated), being the state of São Paulo the largest producer. Other citrus fruits, such as Sicilianolemon, Grapefruit and Persian Lime, has a small national production and most part of the internal consumption is imported (Medina 2010). Because it is little known in Brazil, studies on the quality and storability of persian Lime (*Citrus limettioides*) are scarce.

Among the physical characteristics evaluated on the quality of citrus fruits, it can be highlighted the color and total soluble solids. According to CEAGESP (2011), the color test ensures visual consistency, determines the maturity stage of citrus products and classify the fruit into three different quality classes. In *extra* category solely one color subclass may exist; in *category*

/ it is allowed the occurrence of up to 30% of fruits from subclasses immediately superior or inferior; and the *category Il*s permitted the mixture of subclasses.

The fruit coloris one of the main physical property which interferes at the consumer choice and market value of the product. It can also indicate the ripening and estimate postharvest life, which can be objectively analyzed by different systems. The CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) system, manufactured in 1931 and perfected in 1976, which uses the coordinates L*, a* and b*, is the most widespread in scientific work, being measured by means of a colorimeter. The color degree can also be assessed visually, though this method is controversial because of its subjectivity and direct dependence of the evaluatorcriteria, as well as different grading standards between states and countries.

The soluble solids content, measured by °Brix performs an essential role for its quality, due to the influence on the thermophysical, chemical and biological properties of the fruit. High amounts of soluble solids leads to a larger acceptability of the product *in natura* or lower will be the amount of sugar to be added to fruits, when industrially processed (Araújo 2001).

Regarding to the storability of these products, several studies and trials have been conducted in order to optimize and extend the shelf life of fresh fruit. Storage temperature and air relative humidity are considered of great importance in preserving factors, not only because of the influence on the respiratory activity and/ortranspiration, but also because of its influence on the rate of microbial growth and deteriorating biota determination (Rosa *et al.* 2000). One of the processes that bring benefits in fruits conservation, in general, is cooling and in the case of Brazil, which has a tropical climate, the benefits are even higher. Storage effect at low temperatures is beneficial for,

among others, maintain respiratory rate of fruits at low levels, assuring the fruit quality (Rodrigues *et al.* 2009).

Thus, the aim of this work was to evaluate the colorand soluble solids content alterations of persian lime in different storage conditions, in order to verify the condition that provides lower losses in the fruitquality.

MATERIALS AND METHODS

This work was developed in the Laboratory of Physical Properties and Quality of Agricultural Products sited at the National Training Center of Storage (CENTREINAR), located at the Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

Persian lime fruits, at same maturation stage, were acquired at the local commerce located at Viçosa, state of Minas Gerais, Brazil. Afterwards, persian lime fruits were transported to the laboratory, which took 5 minutes without any mechanical damage due to transport. The fruits were subjected to a rigorous selection procedure regarding the maturity level, size and shape, eliminating those with mechanical damage or pest infestation, in order to prevent these influences over the obtained data.

Initially part of the fruits were used in order to obtain its initial moisture content. The oven method of 105 \pm 3 °C for 24 h, in triplicate, as recommended by Brasil (1992) was used. The results stated that initial moisture content pf persian limes was 8.09 % d.b.

At the same day that moisture content procedure started, color and soluble solids content analysis was accomplished, acquiring data from day 0. After this initial evaluation, limes were divided into four lots of four fruits each, submitted to the different storage conditions (10 °C of temperature and 95 % of relative

humidity; 10 °C of temperature and 60 % of relative humidity; 25 °C of temperature and 95 % of relative humidity; 25 °C of temperature and 60 % of relative humidity).

These lots were stored in a climate chamber unit with automatic control of relative humidity and temperature. In order to assess the storage conditions influence over the studied characteristics, tests were accomplished after 24 hours (day 1). Prior to the tests, persian limes retrieved from the lots were left at room temperature for 2 hours in order to prevent the temperature effect on the parameters response.

Color Index Determination

The quantification of lime fruit color was performed using a tristimulus colorimeter with direct reading of coordinates L (lightness) and a (red/green shades) and b (yellow/blue shades) reflectance, using the HunterLab scale and employing the illuminating 10°/D60 (Afonso Júnior 2001). Determinations were performed daily in three equidistant points at the equatorial zone of each fruit. Graphical representation of color coordinates is shown at **Figure 1**.

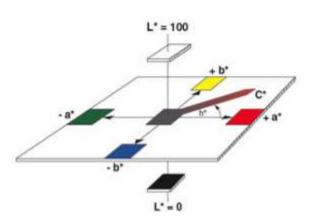


Figure 1: CIE L*a*b system, hue angle (h*) and chrome index (C*)

By means of a* and b* values, colorimetric index were calculated: chrome (C*) (Equation 1), which defines the intensity and purity of a color; hue angle (h*) (Equation 2), which defines color tonality: 0° (red), 90° (yellow), 180° (green) and 270° (blue).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$h^* = tan^{-1} \frac{b^*}{a^*}$$
(1)

In order to obtain a better color analysis of the product, the differences at each storage period (Equations 3, 4 and 5) in each storage condition, were calculated.

$$\Delta L^* = L_t^* - L_{0(3)}^*$$

$$\Delta a^* = a_t^* - a_{0(4)}^*$$

 $\Delta b^* = b_t^* - b_{0(5)}^*$

Total color difference (ΔE) was calculated by means of Equation 6.

$$\Delta E = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$
(6)

Sub-indexes t and 0 of each equation refers to values of each variable at time t and time 0, respectively.

Soluble solids content determination

Determination of total soluble solids content (TSS), before and after storage of persian limes, expressed in %, was accomplished using a portable digital refractometer (Nova brand, model 113) with 0.2 of resolution, at constant temperature of 20 °C, according to procedure indicated by Zenebon *et al.* (2008). Five repetitions were accomplished.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Table 1 represents the color coordinates, hue angle and total color alterations after 24 hours of storage as a function of temperature and relative humidity conditions.

Table 1: Variation of color coordinates L, a and b, chrome (C^*) , hue angle (h^*) and total color (ΔE) in function of temperature (T) and relative humidity (RH) during 24 hours of storage

Storage condition		ΔL	Δa	Δb	C *	h*	ΔΕ
T (°C)	RH (%)						
10	60	0.220	0.450	- 0.060	- 0.018	- 0.408	0.504
10	95	0.860	0.153	0.353	0.356	- 0.151	1.121
25	60	0.058	0.747	0.672	0.707	- 0.711	1.592
25	95	0.073	0.943	1.243	1.312	- 0.770	2.246

According to the obtained results, fruits that remained under 10 °C and relative humidity of 60 % obtained the lower variation of b coordinate (-0.060) in comparison to the remaining analyzed conditions (0.353; 0.672; 1.243). According to Oliveira (2010), fruit color is characterized by the carotenoid pigment content and this property may be related to the presence of certain pigment or constituent, and linked, respectively, to the ripening stage and flavor. Thus, lower variation of coordinate b, at this storage condition, may indicate a lower ripening stage of limes stored, due to the negative variation of this coordinate point to a yellow color decrease. The values of coordinate b* ranged from 58.27 to 63.89.

Along with the same scope, it is possible to highlight a lower total color variation (0.504) of the fruits stored at lower temperatures and relative humidity in comparison to others. These results indicate that among the storage conditions

studied, the temperature of 10 °C and 60% relative humidity was the condition that better conserved the persian lime color, during 24 hours. The same observation can be made when observed the values of chroma and hue angle.

Contradictory behavior was observed at $25\,^{\circ}\text{C}$ and $95\,\%$. At this condition (high values of coordinate b and ΔE), in comparison to the remaining lots, elevated respiration and transpiration rates are encountered for persian lime fruits, which accelerates their senescence process. This result confirms to the values of total difference color and chrome, which means that storage at elevated temperature and relative humidity enabled higher total color variation, becoming more intense and pure, respectively.

However, it is noteworthy that these observations are valid for the first 24 hours of storage, and if storage is prolonged, there may be an alteration in the ideal conditions of temperature and relative humidity. Campos *et al.* (2011) cited this trend in research with guavas. The authors reported that after 24 hours of storage, when the fruits were kept in a condition of relative humidity around 60%, shriveling of the fruit was noticed, causing changes, especially at the product color, compromising their visual aspects.

Values of coordinates a* and L* ranged from 1.54 to 6.37 and 72.80 to 76.46, respectively. Furthermore, chroma ranged from 58.29 to 64.17 and hue angle from 84.70 to 88.48.

Table 2 reports the total soluble solids variation in function of temperature and relative humidity during 24 hours of storage.

Table 2: Soluble solids content variation (Δ °Brix) in function of temperature (T) and relative humidity (RH) during 24 hours of storage

Storage	A ODmine	
T (°C)	UR (%)	– Δ °Brix
10	60	0.35
10	95	1.17
25	60	1.50
25	95	-0.13

It can be noticed from **Table 2** that the storage at 25 °C and relative humidity of 95%, between the remaining conditions, was the only one in which there was a decrease of Brix. This decrease may reflect the fruit senescence, which is not desirable. On the other hand, persian limes stored under the condition of 10 °C and 60% of relative humidity, reported the lower increment in °Brix (0.35), indicating a deceleration of the ripening process and consequently a greater maintenance of quality in persian limes after 24 hours.

This increase at the remaining storage conditions may be due to the transformation of the starch present at the persian limes fruits into sugars (Beaulieu and Lea 2003), arising from the ripening process of the product (Getinet *et al.* 2008). This behavior was found in different researches, with different fruits, including guava (Oliveira *et al.* 2010), kiwi (Burdon *et al.* 2007) and papaya (Reis Neto, 2006).

According to Ditchfield and Tadini (2002), values of °Brix increases rapidly according to the stage of bananas ripeness. Thus, according to the data presented in **Tables 1 and 2**, it can be verified that the storage of persian limes under the temperature of 10 °C and 60% of relative humidityis more efficient compared to the remaining conditions, during the period of 24 hours. Its effectiveness is based mainly on the low values of total color and °Brix variation, which represented lower initial loss of fruit quality.

CONCLUSIONS

Variations of color coordinates and soluble solids content of Persian limes, in function of temperature and relative humidity after 24 hours of storage was determined. It was able to conclude that Persian limes stored under low temperatures and relative humidity presented lower variation of color and soluble solids content. Thus, this condition is more adequate in order to store Persian limes during the studied period. On the other hand, lime fruits stored at high levels of temperature and relative humidity presented higher quality loss reported by the variablesanalyzed.

BIBLIOGRAFY

Afonso Júnior PC. 2001. Aspectos físicos, fisiológicos e da qualidade do café em função da secagem e do armazenamento. Thesis (Doctor in Agricultural Engineering), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Araújo JL. 2001. Propriedades termofísicas da polpa do cupuaçu. Dissertation (Master in Agricultural Engineering): Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande.

Beaulieu JC, LEA JM. 2003. Volatile and quality changes in freshcut mangos preparedfrom firm-ripe and soft-ripe fruit, stored in clamshell containers and passive MAP.Postharvest Biology and Technology, 30: 15-28.

Burdon J, Lallu N, Francis K, Boldingh H. 2007. The susceptibility ofkiwifruit to low temperature breakdown is associated with preharvest temperatures and at-harvest soluble solids content. Postharvest Biology and Technology, 43: 283-290.

Brasil. 1992. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regra para Análise de Sementes, Brasília, 155p.

Campos SC, Corrêa PC, Rodrigues APL, Nogueira BL, Botelho FM, Oliveira GHH. 2011. Perda de água e coeficiente de transpiração de goiabas em relação à superfície-volume. Revista Brasileira de Armazenamento, Viçosa, 36(2): 195-202.

CEAGESP. 2011. Citrus de mesa. Programa brasileiro para modernização da agricultura. Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo — CEAGESP. Normas de Classificação de Citros de Mesa, São Paulo:12p.

Ditchfield C, Tadini CC.2002. Acompanhamento do processo de amadurecimento da banana nanicão (*Musa cavendishii* Lamb.).

In: XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de **ACKNOWLEDGEMENTS** Alimentos, Porto Alegre.

FAO.2012. Production. **FAOSTAT:** .Accessed 10.11.14.

Getinet H, Seyoum T, Woldetsadik K. 2008. The effect of cultivar, maturitystage and storage environment on quality of tomatoes. Journal of Food Engineering, 87: 467-478.

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. Pesquisa de orçamentos familiares 2008–2009: Despesas, rendimentos e condições de vida. Rio de Janeiro, RJ, Brazil: IBGE. Medina LM. 2010. Compostos bioativos em Frutas cítricas: Quantificação, avaliação da Atividade antioxidante, Parâmetros de cor e efeito da pasteurização. Thesis, Universidade Estadual Paulista, Araraguara.

Oliveira GHH. 2010. Características físico-químicas do tomate submetido a Esforço controlado de compressão. Dissertation (Master in Agricultural Engineering), Universidade Federal de Vicosa, Vicosa.

Reis Neto SA. 2006. Qualidade pós-colheita do mamão (Carica papaya) cv. Goldenarmazenado sob atmosferas modificadas. 89 p. Dissertação (Mestrado em EngenhariaAgrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Rodrigues APL, Corrêa PC, Campos SC, Nogueira BL. 2009. Guava transpiration coefficient in function of surface-volume ratio. Frutic, 2009. Anais. Concepcion, Chile, 431-439.

Rosa OO, Carvalho EP, Dionizio F, Dionizio F, Ribeiro AC. 2000. Presença de Staphylococus aureus em vegetais minimamente processados. In: Anais do II Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortalicas. Viçosa, p. 50.

Zenebon O, Pascuet NS, Tiglea P. 2008. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 1020 p.

Laboratório de Qualidade e Propriedades Físicas e Químicas de Produtos Vegetais - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília – Campus Gama, Brasília, Distrito Federal, Brazil.

Laboratório de Propriedades Físicas e Qualidade de Grãos Armazenados - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

NATAMICINA Y NISINA SOPORTADAS EN PELÍCULAS COMESTIBLES DE ALMIDÓN DE MANDIOCA PARA CONTROLAR UN CULTIVO MIXTO SOBRE QUESO POR SALUT

Ollé Resa C.P. (1,3), Gerschenson L.N. (2), Jagus R.J. (3)

- (1) Becaria CONICET.
- (2) Departamento de Industrias, FCEN, UBA. Miembro de la Carrera del Investigador (CONICET).
- (3) Laboratorio de Microbiología Industrial: Tecnología de Alimentos, Departamento de Ingeniería Química, FIUBA. Ciudad Universitaria, (1428) Buenos Aires, Argentina. E-mail carolinaolle@gmail.com

Palabras clave: película comestible, natamicina, nisina, cultivo mixto, queso.

Resumen: Las películas comestibles constituyen un medio para soportar antimicrobianos naturales, permitiendo una liberación controlada y aumentando su concentración en superficie, contribuyendo de esta forma a la protección microbiológica de alimentos. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de natamicina y nisina soportadas en películas a base de almidón de mandioca, frente a *Saccharomyces cerevisiae* y *Listeria innocua* presentes en un cultivo mixto. El estudio se realizó sobre la superficie de un queso Por Salut, almacenado a distintas temperaturas. Se observó que los antimicrobianos

naturales se encontraban biodisponibles, pudiendo controlar la población de ambos microorganismos evaluados

Abstract: Edible films are able to support natural antimicrobials, contributing to its surface concentration and/or controlled release being useful for microbiological food protection. The aim of this study was to evaluate the efficacy of natamycin and nisin supported on cassava starch based films faced to *Saccharomyces cerevisiae* and *Listeria innocua* present in a mixed culture. The study was performed on the surface of Por Salut cheese, stored at different temperatures. It was observed that natural antimicrobials were bioavailable, controlling the population of both tested microorganisms.

INTRODUCCION

El queso es un alimento listo para el consumo, susceptible al deterioro físico, químico y microbiológico durante el almacenamiento y la distribución (Cha y Chinnan 2004). Durante el procesamiento, se reduce el riesgo de contaminación con bacterias patógenas aplicando buenas prácticas de manufactura. A su vez, la pasteurización de la leche cruda, el control de las condiciones de maduración y la temperatura almacenamiento del queso contribuyen a su control. Estas estrategias junto con algunas propiedades intrínsecas y la presencia de compuestos antimicrobianos producidos por los cultivos iniciadores, constituyen un sistema de "barrera". Sin embargo, la colonización de la superficie del gueso por microorganismos constituye un riesgo significativo (Kousta et al. 2010) debido al alto contenido de agua de algunos guesos y el pH favorable para el crecimiento microbiano (Conte et al. 2013). Varios autores han informado que Saccharomyces cerevisiae es una de las levaduras de deterioro aisladas más frecuentemente de quesos. Su presencia produce una apariencia visual indeseable y disminución de la vida útil de los alimentos(Deak y Beuchat 1996, Welthagen y Viljoen 1998).

Listeria monocytogenes es una bacteria patógena y se ha asociado con la listeriosis producida por el consumo de queso (Mc Lauchlin et al. 2004). Listeria innocua se ha utilizado como microorganismo subrogante de L. monocytogenes, debido a que es fisiológicamente cercana a ella y carece de patogenicidad (Soares Pinto et al. 2009). Además, ambos microorganismos pueden aislarse de quesos.

La adición de agentes antimicrobianos puede prevenir o reducir el crecimiento de microorganismos patógenos y de deterioro (Franssen et al. 2004). En los últimos años, se ha incrementado la demanda del consumidor de ingredientes naturales y, como consecuencia, se comenzó a explotar el uso de antimicrobianos a partir de una amplia variedad de fuentes naturales (Gould 1997, Tiwari et al. 2009). La natamicina (piramicina), es un antifúngico producido por Streptomyces natalensis. Es aceptado como aditivo alimentario (FAO/WHO, 1968, 1976, 2001), autorizado como conservante por la Unión Europea (E235) y calificado como GRAS por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos(Koontz et al. 2003). Este antimicrobiano natural es habitualmente utilizado en distintos tipos de alimentos como jugos, embutidos y lácteos con el objetivo de prevenir, retardar y controlar el crecimiento de hongos y levaduras y, por lo tanto, evitar la producción de micotoxinas (Gallo yJagus 2006, Hondrodimou et al. 2011). No migra dentro del alimento cuando se lo aplica en superficie y no afecta a las bacterias presentes (te Welscher et al. 2008); adicionalmente, no modifica las propiedades organolépticas del alimento (El-Diasty et al. 2008). La nisina es un péptido antimicrobiano producido por cepas de Lactococus lactis sub sp. Lactis, calificado como GRAS para su aplicación en alimentos por el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios de la Food Agriculture Organization y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS). La nisina es activa contra un amplio rango de bacterias Gram positivas (Hill, 1998), y esporas resistentes a altas temperaturas (Delves-Broughton et al. 1996). Varios autores han demostrado su actividad en productos lácteos, como quesos untables, ricota, leche y suero líquido (Gallo y Jagus 2006, Sobrino-Lòpez y Martín-Belloso 2008, Arques et al. 2008, Fernández et al. 2014) e incluso ha sido incorporada en recubrimientos y películas comestibles (Cao-Hoang et al. 2010, Martins et al. 2010, Ollé Resa et al. 2014).

Para controlar el crecimiento microbiano sobre la superficie sólida de los alimentos se pueden aplicar antimicrobianos por diferentes técnicas: pulverización, inmersión o rastrillado. Sin embargo, estas técnicas de aplicación directa tienen beneficios limitados (Ture et al. 2011) y los antimicrobianos generalmente exhiben una rápida pérdida de actividad. Recientemente, la comunidad científica y la industria de alimentos mostraron un creciente interés en las películas comestibles portadoras de antimicrobianos con el fin de mejorar la seguridad alimentaria y aumentar la vida útil de los alimentos debido a su potencialidad para liberar lentamente los antimicrobianos soportados, avudando de esta forma a mantener altas concentraciones del ingrediente activo en el lugar que se requiere (Kristo et al. 2008). Dentro de las propiedades funcionales que desempeñan las películas comestibles aplicadas a los alimentos se pueden mencionar algunas como el control de migración de gases como CO₂ y O₂, grasas y aceites, y solutos. También pueden mejorar las propiedades mecánicas y el manejo de los alimentos, proveer integridad estructural a los mismos, retener los componentes volátiles y contener aditivos (Minet al. 2005). Las películas comestibles no pretenden reemplazar al material de empaquetamiento tradicional, sino proveer un factor adicional de estrés a favor de la preservación de los alimentos. Dichas películas podrían reducir la cantidad de material tradicional utilizado y por lo tanto el costo (Camposet al. 2011). Ello, además, contribuiría a la protección del ambiente. Debido a que las películas comestibles son una parte integral del alimento deben cumplir algunos requisitos tales como ser neutras respecto al alimento, es decir, no afectar sus características sensoriales, poseer estabilidad bioquímica, físico-química y microbiana, estar libres de sustancias tóxicas y ser seguras para la salud (Debeaufortet al. 1998). La seguridad en relación a la

salud es una característica diferencial relevante de estas películas frente a las biodegradables no comestibles y a los materiales de empaquetamiento tradicionales.

A nuestro entender, no se han reportado investigacionesprevias que informen sobre la actividad denatamicina y nisina incorporados juntos en películas comestibles de almidón de mandioca para controlar un cultivo mixto sobre queso a distintas temperatura de almacenamiento.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de natamicina y nisina soportadas conjuntamente en una película a base de almidón de mandioca, frente a *Saccharomyces cerevisiae* y *Listeria innocua* presentes en un cultivo mixto sobre la superficie de un gueso Por Salut.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Para la fabricación de las películas se utilizó almidón de mandioca (Industrias del Maíz S.A., Argentina), glicerol (Mallickrodt, Argentina), natamicina comercial (Delvocid® Salt,DSM, Países Bajos) conteniendo 50% p/p de NaCl y 50% p/p de natamicina y nisina comercial (DelvoPlus®, DSM, Países Bajos) conteniendo 97,5% p/p de NaCl y 2,5% p/p de nisina.

Se utilizó una película comercial constituida por copolímero de cloruro de polivinilo/cloruro de polivinilideno (Cryovac ®, Sealed Air Argentina S.A.) y denominada "COMERCIAL" en este trabajo.

Los estudios se desarrollaron sobre queso Por Salut (La Serenísima, Argentina).

Preparación de las películas

Las películas fueron constituidas mediante la técnica de casteo, conteniendo almidón de mandioca, glicerol, agua, natamicina y nisina (NANI) y, almidón de mandioca, glicerol y agua (CNANI). La formulación para la preparación de CNANI presentó una relación almidón:glicerol:agua de 5:2:93 (p/p). La formulación para la preparación de NANI fue similar a la usada para CNANI pero sobre un volumen de mezcla de 300 ml, se sustituyeron 20 ml de agua, por 10 ml de una solución de natamicina y 10 ml de una solución de nisina de concentración adecuada para obtener en la película 9,25mg de natamicina/dm² y 2,31mg de nisina/dm².

La gelatinización del almidón se realizó a velocidad constante de 1,5°C/min, aproximadamente, hasta alcanzar una temperatura final de 82°C. Se centrifugó a 2000 rpm durante 20 min para eliminar el aire ocluido en el gel. La suspensión se dispensó en alícuotas de 12 g en placas de 7cm de diámetro. El secado de las películas se realizó a 37°C durante 24 horas en una cámara con convección. Una vez constituidas, las películas se separaron de las placas y se equilibraron a 28°C sobre solución saturada de NaBr (actividad de agua, $a_w \cong 0.575$) durante aproximadamente 7 días.

Cepas y condiciones de crecimiento

Saccharomyces cerevisiae (CBS 1171, colección de cepas SC) se cultivó en 150 ml de caldo Sabouraud (Biokar diagnóstico, Francia) en agitación constante a temperatura controlada de 28°C hasta alcanzar la fase estacionaria temprana determinada por densidad óptica.

Listeria innocua (CIP 80.11) se cultivó en 150 ml de caldo triptona de soja con extracto de levadura (caldo TSYE, Biokar Diagnostics, Francia) en agitación constante a temperatura controlada de 28°C durante 18 horas. Luego, se añadieron 2 ml del cultivo en caldo TSYE fresco y se agitó hasta alcanzar la concentración celular deseada determinada por densidad óptica. Para la preparación del cultivo mixto, cada uno de los microorganismos se cultivó en su caldo correspondiente hasta lograr la concentración celular deseada. A partir de entonces, alícuotas de 30 ml de cada uno de los cultivos se centrifugaron a 10000 rpm; luego, cada pellet se resuspendió en 15 ml de caldo TSYE y ambas suspensiones se mezclaron entre sí.

Humedad de queso Por Salut

El porcentaje inicial de la materia seca se determinó mediante el secado de piezas de queso (2 gramos, aproximadamente) a 100°C durante 24 horas y al vacío (Bradley y Vanderwarn 2001). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

Actividad acuosa de queso Por Salut

Se evaluó la actividad acuosa (a_w) de queso Por Salututilizando un Aqualab Serie 3 (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, EE.UU.). Se colocó una muestra de queso (1,5 gramos aproximadamente) en el interior de una cápsula de Aqualab y se cerróinmediatamente con la tapa de la misma. Se almacenó a 20°C durante no más de 2 horas. A continuación, se midió la a_wcon una precisión de 0,010.

Método de difusión en queso Por Salut

Se aplicó la prueba de difusión en queso para determinar el efecto antimicrobiano de las películas en un sistema alimentario real (queso Por Salut). Brevemente, piezas de queso (2,5x2,5x0,5cm; 5 \pm 0,3g) se cortaron con un cuchillo estéril y se colocaron en placas de Petri estériles. A continuación, 20 μ l del cultivo mixto de *S. cerevisiae* y *L. innocua* conteniendo ~ 1x10⁶UFC/ml de cada uno, se extendieron sobre la superficie del queso.

Se colocaron sobre el queso previamente inoculado cuadrados de película de 5 cm de lado (CNANI, NANI y COMERCIAL), se mantuvieron muestras de queso sin película (SP) y otras muestras de queso se cubrieron con pulverización de una solución de natamicina y nisina (PNANI), en concentración similar al de la película NANI. Todas las muestras fueron incubadas a 7°C durante 10 días y a 25°C durante 8 díasy, periódicamente, se tomaron muestras para evaluar la viabilidad de los microorganismos inoculados. Para esto, las muestras de queso se homogeneizaron en agua peptona (1:10) y gotas de las distintas diluciones fueron sembradas usando la técnica de la gota en agar YGC para la levadura y en agar Oxford con vial selectivo para la bacteria; luego las placas se incubaron a 28°C, durante 72 horas y a 37°C, durante 24 horas, respectivamente. Los resultados se expresaron como log UFC/ml. La experiencia se realizó en dos corridas independientes y en cada una se evaluó cada muestra por duplicado.

Análisis estadístico de los datos

Los datos fueron analizados a través de análisis de varianza de dos factores (nivel de confianza, a: 0,05) y se aplicó la prueba

post-hoc de Tukey. Los resultados se expresan en función de la media y la desviación estándar (Sokal y Rohlf 2000). Se utilizó el software GraphPad Prism®, versión 5.01 (GraphPad Software, Inc., una corporación privada de California) para el tratamiento y análisis de datos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las características del medio donde se encuentran los microorganismos tienen mucha influencia sobre su desarrollo y prevalencia. Uno de los factores más importantes que limitan y que influyen fuertemente en su crecimiento es la presencia y disponibilidad de agua, que se expresan por la humedad relativa (HR) y la actividad de agua (a_w). Un bajo nivel de a_w caracterizado por un bajo contenido de agua y un aumento de la concentración de sustancias osmóticamente activas, limita el crecimiento de los microorganismos(Gunde-Cimerman *et al.* 2003).

Se estudió el contenido de humedad y la a_w a 25°C y 7°C en queso Por Salut. En la **Tabla 1**se informan los valores iniciales de dichos parámetros.

Tabla 1: Contenido de humedad (%) y actividad de agua (a_w) iniciales de queso Por Salut, almacenado a distintas temperaturas

	25°C	7°C	
Humedad	49,76 ± 1,02	50,42 ± 1,68a	
inicial	a	30,42 ± 1,00a	
aw inicial	0,917 ± 0,010	0,918 ± 0,010a	
avv tillClat	a	0,310 ± 0,010a	

Distintas letras en una misma fila indican diferencias significativas (a: 0.05).

Adicionalmente, se evaluaron estos parámetros en los guesos cubiertos con distintas películas (CNANI, NANI y COMERCIAL) y quesos sin cubrir (SP), luego de 8 días de almacenamiento a 7°C v 25°C (**Tabla 2**). En todos los sistemas estudiados se observó una reducción en la humedad de los guesos al final del almacenamiento, presentando una mayor pérdida a mayor temperatura. Los sistemas conteniendo películas comestibles (CNANI y NANI) generaron mayores reducciones de la humedad mostrando diferencias significativas con los guesos cubiertos con película comercial y sin cubrir (Tabla 2). Se han reportado en la literatura numerosos artículos informando que distintas coberturas comestibles generaron una menor pérdida de humedaden comparación con quesos sin recubrir, como es el caso de películas a base de alginato, k-carragenina o galactomanano(Cerqueira et al. 2009, Fajardo et al. 2010, Mei et al. 2013, Ramos et al. 2012). En la presente investigación se observó el fenómeno contrario, verificándose una mayor pérdida de humedad en los guesos cubiertos con películas comestibles (CNANI y NANI). Las películas elaboradas fueron estabilizadas en un desecador en presencia de una solución saturada de NaBr (a_w= 0,579). Dado que los guesos presentan una alta actividad acuosa ($a_w \approx 0.918$), al colocar esta película sobre el gueso se generaría una gran fuerza impulsora, que favorecería la migración del agua desde el gueso hacia la película comestible, determinando de esta forma una mayor pérdida de humedad en el tiempo

Tabla 2:Pérdida de humedad (%) de queso Por Salut a 8 días de almacenamiento a 7°C y 25°C, cubiertos con distintas películas y sin cubrir.

	25°C	7°C	
CNANI	31,16 ± 3,02 a	13,75 ± 1,02 a,b	
NANI	34,41 ± 1,68 a	15,68 ± 1,72 a	
COMERCIAL	17,71 ± 2,15 b	11,54 ± 1,52 b	
SP	21,55 ± 3,26 b	12,31 ± 1,82 b	

Distintas letras en una misma columna indican diferencias significativas (α: 0.05).

La **Tabla 3** muestra la actividad acuosa (a_w) del queso con las distintas coberturas y sin cubrir al finalizar el almacenamiento y a cada una de las temperaturas evaluadas. A 25°C la actividad acuosa disminuyó respecto a los valores iniciales de los quesos cubiertos con películas comestibles (CNANI y NANI). Por el contrario, no se observaron diferencias significativas en el caso de los quesos cubiertos con película comercial o sin cubrir.

A 7°C no se observó modificación en los valores de actividad de agua con la variación del tipo de cobertura, dado que la reducción en el contenido de humedad de los quesos a esta temperatura de refrigeración no fue suficiente para provocar una disminución en la actividad de agua.

Tabla 3: Actividad de agua(a_w) de queso Por Salut a 8 días de almacenamiento a 7°C y 25°C, cubiertos con distintas películas y sin cubrir.

	25°C	7°C
CNANI	0,869 ± 0,010 a	0,911 ± 0,010
CIVAINI	0,005 ± 0,010 a	a
NANI	0,886 ± 0,010 a	0,918 ± 0,010
IVAINI	0,000 ± 0,010 a	a
COMEDCIAL	0,915 ± 0,010 b	0,922 ± 0,010
COMERCIAL	0,913 ± 0,010 b	a
SP	0,914 ± 0,010 b	0,929 ± 0,010
35	0,914 ± 0,010 b	a

Distintas letras en una misma columna indican diferencias significativas (α: 0.05)

Con el objetivo de evaluar adecuadamente la influencia de la pérdida de humedad de los quesos sobre su calidad organoléptica, es importante considerar futuros estudios que involucren ensayos organolépticos de los quesos con las distintas coberturas y en porciones de mayor tamaño.

Para determinar el comportamiento antimicrobiano de la película conteniendo natamicina y nisina (NANI), se estudió la liberación de los antimicrobianos desde la película hacia queso Por Salut almacenado a 7°C y 25°C durante 8 días.

En la **Figura 1** se puede observar el comportamiento de *S. cerevisiae* presente en un cultivo mixto sobre la superficie de queso Por Salut, evaluado sin cobertura y cubierto con distintas películas.En el almacenamiento a 25°C (**Figura 1**, Panel **a**) la película NANI y la pulverización PNANI produjeron una disminución en el recuento de la levadura de 2 ciclos log en las primeras 24 horas, reasumiendo posteriormente su crecimiento.

Al final del almacenamiento (8 días) la presencia de natamicina (NANI y PNANI) mantuvo el recuento de *S. cereviseae* 2 ciclos log por debajo de los sistemas COMERCIAL, CNANI y SP.

Al disminuir la temperatura a 7°C (**Figura 1**, Panel **b**), los sistemas conteniendo natamicina(NANI y PNANI) presentaron un efecto antimicrobiano menor que a 25°C. En este caso, se observa un efecto fungistático en los primeros 3 días de almacenamiento. Luego, *S. cerevisiae* reasumió su crecimiento, presentando a los 8 días, un recuento 1,5 ciclos log inferior al obtenido en los sistemas CNANI, COMERCIAL y SP.

Si se compara la respuesta microbiológica del queso cubierto con la película conteniendo natamicina y nisina (NANI) respecto ala del queso pulverizado con natamicina y nisina (PNANI), se observa que no presentan diferencias entre ellas. Por lo tanto, es posible concluir que la natamicina incorporada en la película NANI está totalmente biodisponible.

Cuando se evaluó el crecimiento de *L. innocua* a 25°C, se pudo observar que la película NANI y la pulverización PNANI produjeron una disminución instantánea del recuento de la bacteria, presentando un valor inferior a 10 CFU/ml a las primeras 24 horas, manteniendo este recuento hasta el final del almacenamiento (**Figura 2**, Panel **a**). Por lo tanto estos sistemas (película y pulverización conteniendo natamicina y nisina) representan una buena alternativa para el control de *L. innocua* presente en un cultivo mixto sobre la superficie de queso Por Salut almacenado a 25°C.

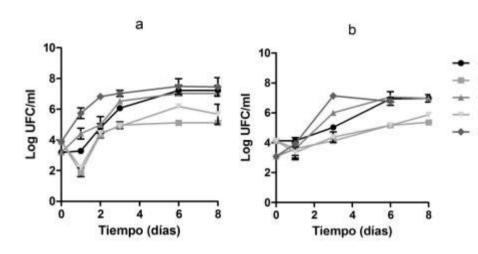


Figura 1: Comportamiento de *Saccharomyces cerevisiae* presente en un cultivo mixto sobre queso Por Salut sin cobertura y cubierto con distintas películas, Panel **a**: 25°C y Panel **b**: 7°C.

Sin embargo, al realizar el ensayo a 7°C (**Figura 2**, Panel**b**) *L. innocua* presentó una respuesta diferente frente a la película y la pulverización con antimicrobianos. La película NANI provocó un efecto bactericida hasta los primeros 6 días, reasumiendo posteriormente el crecimiento de la bacteria y llegando a 4 ciclos log aproximadamente inferior alos sistemas CNANI, COMERCIAL y SP. La pulverización (PNANI) tuvo un efecto bacteriostático a lo largo de todo el ensayo manteniendo el valor inicial de 4 ciclos log.Resulta interesante comparar a esta temperatura la diferencia de comportamiento entre la película NANI y la pulverización (PNANI). En este último caso, el antimicrobiano pudo entrar en contacto inmediato con la matriz alimentaria. Las proteínas y lípidos presentes en el queso

podrían interactuar con la nisina disminuyendo su efectividad. Por el contrario, la película estaría liberando lentamente a la nisina, reduciendo esta interacción y estando más biodisponible.

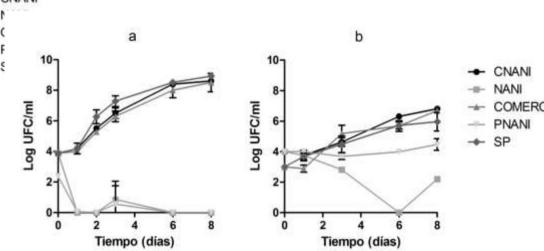


Figura 2: Comportamiento de *Listeria innocua* presente en un cultivo mixto sobre queso Por Salut sin cobertura y cubierto con distintas películas, Panel **a**: 25°C y Panel **b**: 7°C.

La bacteria *L. innocua* presente en el cultivo mixto evaluado, mostró diferencias de comportamiento frente a la variación de temperatura de almacenamiento y disponibilidad de agua. Es sabido que *S. cereviseae* responde al incremento de osmolaridad externa aumentandola síntesis de glicerol intracelular, contrarrestando de esta manera el estrés generado por la falta de agua (Blomberg y Adler 1992, Mager y Varela 1993). Como metabolito secundario de la síntesis de glicerol se produce etanol (Michnick *et al.* 1997), que podría actuar como barrera adicional al desarrollo microbiológico en los quesos tratados con nisina (NANI y PNANI) inhibiendo de esta manera

el crecimiento de *L. innocua* presente en el cultivo mixto estudiado. Otros autores también demostraron la sensibilidad de bacteria del género *Listeria* al etanol (Oh y Marshall 1993).A 25°C el metabolismo de la levadura se encuentra más activo que a 7°C, generando una concentración superior de etanol en la superficie del queso, condicionando en mayor medida el comportamiento de la bacteria a esta temperatura.

La temperatura de almacenamiento del queso inoculado con un cultivo mixto cubierto con película o pulverizado, influye de distintas formas en su desarrollo. Probablemente, la velocidad de difusión del antimicrobiano desde la película hacia el queso disminuya con la disminución de la temperatura, permitiendo un mayor crecimiento a 7°C. Como contrapartida, la temperatura de refrigeración se encuentra muy lejos de las temperaturas óptimas de crecimiento de cada microorganismo evaluado (28°C y 37°C para levaduras y bacterias respectivamente), por lo que estos crecerán mejor a 25°C. Finalmente, atemperatura reducida (7°C) el queso presenta una menor pérdida de humedad y mayor a_w, lo que permitiría alos microorganismos desarrollarse con menor dificultad. La combinación de estos factores determinaría la respuesta observada.

CONCLUSIONES

Se puede concluir que la natamicina y la nisina soportados conjuntamente en la película a base de almidón de mandioca, se encuentran biodisponibles para controlar el crecimiento de *Saccharomyces cereviseae* y *Listeria innocua* presentes en un cultivo mixto sobre la superficie de queso.

La efectividad de la película conteniendo ambos antimicrobianos (NANI) fue mayor que la presentada por la pulverización (PNANI), con relación a la actividad de *L. innocua* a 7°C, temperatura a la que habitualmente se almacena el queso Por Salut.

BIBLIOGRAFIA

Arques, J., Rodriguez, E., Nunez, M., & Medina, M. (2008). Inactivation of gramnegative pathogens in refrigerated milk by reuterin in combination with nisin or the lactoperoxidase system. *European Food Research and Technology*, *227*(1), 77–82.

Blomberg, A., & Adler, L. (1992). Physiology of osmotolerance in fungi. *Advances in Microbial Physiology*, *33*, 145–212.

Bradley, R., & Vanderwarn, M. (2001). Determination of moisture in cheese and cheese products. *Journal of AOAC International*, *84*(2), 570–92.

Campos, C., Gerschenson, L., & Silvia, S. (2011). Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. *Journal of Food and Bioprocess Technology, 4*(6), 849–875.

Cao-Hoang, L., Chaine, A., Grégoire, L., & Waché, Y. (2010). Potential of nisin-incorporated sodium caseinate films to control Listeria in artificially contaminated cheese. *Food Microbiology*, *27*(7), 940–4.

Cerqueira, M., Lima, A., Souza, B., Teixeira, J., Moreira, R., & Vicente, A. (2009). Functional polysaccharides as edible coatings for cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(4), 1456–1462.

Cha, D., & Chinnan, M. (2004). Biopolymer-based antimicrobial packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *44*, 223–237.

Conte, A., Angiolillo, L., Mastromatteo, M., & Del Nobile, A. (2013). Technological Options of Packaging to Control Food Quality. In *Food Industry* (pp. 354–379).

Deak, T., & Beuchat, L. (1996). *Handbook of food spoilage Yeasts* (CRC Press.). New York.

Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J., & Voilley, A. (1998). Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *38*(4), 299–313.

Delves-Broughton, J., Blackburn, P., Evans, R., & Hugenholtz, J. (1996). Applications of the bacteriocin, nisin. *Antonie van Leeuwenhoek, 69,* 193–202.

El-Diasty, E., El-Kaseh, R., & Salem, R. (2008). The effect of natamycin on keeping quality and organoleptic characters of yoghurt. *Arab Journal of Biotechnology*, *12*(1), 41–48.

Fajardo, P., Martins, J., Fuciños, C., Pastrana, L., Teixeira, J., & Vicente, A. (2010). Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of natamycin to improve the storability of Saloio cheese. *Journal of Food Engineering, 101*, 349–356.

Fernández, M., Jagus, R., & Mugliaroli, S. (2014). Effect of combined natural antimicrobials on spoilage microorganisms and Listeria innocua in a whey cheese "ricotta." *Food and Bioprocess Technology*, 1–10.

Franssen, L., Rumsey, T., & Krochta, J. (2004). Whey protein film composition effects on potassium sorbate and natamycin diffusion. *Journal of Food Science*, *69*(5), 347–350.

Gallo, L., & Jagus, R. (2006). Modelling Saccharomyces cerevisiae inactivation by natamycin in liquid cheese whey. *Brazilian Journal of Food Technology*, *9*(4), 311–316.

Gould, G. (1997). Methods of preservation and extension of shelf life. *International Journal of Food Microbiology*, *33*(1), 51–64.

Gunde-Cimerman, N., Sonjak, S., Zalar, P., Frisvad, J., Diderichsen, B., & Plemenitaš, A. (2003). Extremophilic fungi in arctic ice: a relationship between adaptation to low temperature and water activity. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C, 28*, 1273–1278.

Hill, C. (1998). *Bacteriocins: natural antimicrobials from microorganisms*. (G. W. Gould, Ed.) *New Methods of Food Preservation* (pp. 22–39). London: Gould, G.W.

Hondrodimou, O., Kourkoutas, Y., & Panagou, E. (2011). Efficacy of natamycin to control fungal growth in natural black olive fermentation. *Food Microbiology*, *28*(3), 621–627.

Koontz, J., Marcy, J., Barbeau, W., & Duncan, S. (2003). Stability of natamycin and its cyclodextrin inclusion complexes in aqueous solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(24), 7111–7114.

Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P., & Drosinos, E. (2010). Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*, *21*(6), 805–815.

Kristo, E., Koutsoumanis, K., & Biliaderis, C. (2008). Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on Listeria monocytogenes. *Food Hidrocolloids*, *22*, 373–386.

Mager, W., & Varela, J. (1993). MicroReview Osmostress response of the yeast Saccharomyces. *Molecular Microbiology*, *10*(2), 253–258.

Martins, J., Cerqueira, M., Souza, B., Carmo Avides, M., & Vicente, A. (2010). Shelf life extension of ricotta cheese using coatings of galactomannans from nonconventional sources incorporating nisin against Listeria monocytogenes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(3), 1884–1891.

Mc Lauchlin, J., Mitchell, R., Smerdon, W., & Jewell, K. (2004). Listeria monocytogenes and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *International Journal of Food Microbiology, 92*(1), 15–33. Mei, J., Yuan, Y., Wu, Y., & Li, Y. (2013). Characterization of edible starch-chitosan film and its application in the storage of

Mongolian cheese. International Journal of Biological Sokal, R., & Rohlf, J. (2000). Biometry. The principles and practice Macromolecules, 57, 17–21.

Michnick, S., Roustan, J., Remize, F., Barre, P., & Dequin, S. (1997). Modulation of glycerol and ethanol yields during alcoholic fermentation in Saccharomyces cerevisiae strains overexpressed or disrupted for GPD1 encoding glycerol 3-phosphate dehydrogenase. Yeast (Chichester, England), 13(9), 783-93.

Min, L., Harris, J., & Krochta, J. (2005). Antimicrobial effects of lactoferrin, lysozyme, and the lactoperoxidase system and edible whey protein films incorporating the lactoperoxidase system against Salmonalla enterica and Escherichia coli O157:H7. Journal of Food Science, 70, 332–338.

Oh, D., & Marshall, D. (1993). Antimicrobial activity of ethanol, glycerol monolaurate or lactic acid against Listeria monocytogenes. International Journal of Food Microbiology, *20*(4), 239–246.

Ollé Resa, C., Gerschenson, L., & Jagus, R. (2014). Natamycin and nisin supported on starch edible films for controlling mixed culture growth on model systems and Port Salut cheese. Food Control, 44, 146–151.

Ramos, O., Fernandes, J., Silva, S., Pintado, M., & Malcata, F. (2012). Edible films and coatings from whey proteins: a review on formulation, and on mechanical and bioactive properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 52(6), 533–552.

Soares Pinto, M., Fernandez de Carvalho, A., Dos Santos Pires, A., de Paula, J., Sobral, D., & Resplande Magalhães, F. (2009). Survival of Listeria innocua in Minas Traditional Serro cheese during ripening. *Food Control*, *20*(12), 1167–1170.

Sobrino-Lòpez, A., & Martín-Belloso, O. (2008). Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. International Dairy Journal, 18, 329–343.

of statistics in biological research. San Francisco, California: W. H. Freeman and Company.

Te Welscher, Y., Ten Napel, H., Balaqué, M., Souza, C., Riezman, H., De Kruijff, B., & Breukink, E. (2008). Natamycin blocks fungal growth by binding specifically to ergosterol without permeabilizing the membrane. The Journal of Biological Chemistry, 283(10), 6393-6401.

Tiwari, B., Valdramidis, V., O'Donnell, C., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(14), 5987–6000.

Ture, H., Eroglu, E., Ozen, B., & Sover, F. (2011). Effect of biopolymers containing natamycin against Aspergillus niger and Penicillium roquefortii on fresh kashar cheese. International Journal of Food Science Technology, 46(1), 154–160.

Welthagen, J., & Viljoen, B. (1998). Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. International Journal of Food Microbiology, 41(3), 185-194.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo económico de: Universidad de Buenos Aires (UBACyT 726 y 531), ANPCYT-FONCYT (PICT 1172 y 2131) y CONICET (PIP 531).

EVALUACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS SEMILLAS DE ARAUCARIA ARAUCANA Y SU RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS DE COCCIÓN Y DESHIDRATACIÓN.

Pirone B.⁽¹⁾; Aguilera F.⁽¹⁾; Diez S.⁽¹⁾; Lujan M.⁽¹⁾; Schamme L.⁽¹⁾; De Michelis A.⁽²⁾

(1) Facultad de Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Universidad Nacional del Comahue, 25 de Mayo y Reconquista (8336) Villa Regina — Río Negro - FAX (0298-4463200), bpirone@hotmail.com

(2) INTA AER El Bolsón – CONICET, Mármol 1950 (8430) El Bolsón- Río Negro, FAX (02944 – 492422).

Palabras Clave: Semillas, Araucaria Araucana, cocción, deshidratación

RESUMEN

En este trabajo se estudiaron las características físico-químicas del piñón y los cambios que se producen durante los procesos de cocción y deshidratación de las semillas. Se evaluaron cambios de peso, volumen y color. Las muestras analizadas fueron semillas enteras, peladas, escaldadas y deshidratadas de tres formas diferentes (enteras, trozadas y aplastadas). Las muestras se deshidrataron en una estufa de secado convectivo a una temperatura de 70° C, midiendo pérdida de peso. De los resultados obtenidos se observó que el piñón crudo y pelado tuvo una pérdida de peso del 15% y una disminución del 26% en su volumen. El color de la cáscara presentó diferencias significativas ($\alpha = 0,05$) de los parámetros Hunter L y a. El

escaldado aumentó un 10% el volumen del piñón pelado y disminuyeron los parámetros Hunter L y b, aumentando el Hunter a, pero hacia los tonos pardos. En el secado, el piñón entero mostró mayor encogimiento volumétrico (18,3%) que el piñón aplastado y el cortado, 12,4 y 12,6% respectivamente. Los cambios de color tuvieron la misma tendencia que en el escaldado.

ABSTRACT

In this paper, were studied the physicochemical characteristics of piñon seeds and changes that occur during the cooking process and dehydration. Changes in weight, volume and color were evaluated. The samples analyzed were whole, peeled, blanched and dehydrated seeds in three different forms (whole, crushed and pieces). The samples were dehydrated in a convection drying oven at a temperature of 70 °C by measuring weight loss. From the results obtained it was observed that the raw and peeled piñon seeds had a loss of 15% of its total weight and a 26% decrease in volume. The shell color had significant differences ($\alpha = 0.05$) of the L and a values (Hunter system). In the blanching, the stripped piñon increased 10% the volume and decreased L and b values, increasing the a value, but to the brown tones. In drying, the entire piñon showed higher volumetric shrinkage (18.3%) than the crushed and piece piñon, 12.4 and 12.6% respectively. Color changes had the same tendency than blanching.

INTRODUCCIÓN

La Araucaria araucana, también llamada Pehuén, es un pino endémico de una zona muy restringida del sur de Argentina y Chile. Esta especie está protegida en Parques Nacionales de la Cordillera de los Andes y la Cordillera de la Costa, en Chile y en el Parque Nacional Lanín en Argentina, provincia de Neuguén, entre los paralelos 37° S y 40° S. El fruto es la semilla que se denomina piñón y su formación completa demora 16 a 18 meses, desde la fertilización. Debido a este largo período de crecimiento del cono frutal, al momento de cosecha se pueden observar en el mismo árbol, conos maduros y conos en desarrollo. Un árbol puede producir entre 20 a 40 conos y cada cono frutal puede contener un promedio de 100 a 200 piñones (Taha, 2010). Las semillas de esta conífera, son un elemento trascendental de la cultura indígena, no solo por la utilidad que tienen, sino también por el significado religioso. Los pueblos originarios han utilizado el piñón de la Araucaria araucana desde tiempos remotos pero la información sobre los usos y beneficios de la misma ha sido transmitida oralmente de generación en generación hasta la actualidad, por esta razón, no se cuenta con documentación concreta, certera y escrita. Esta semilla es muy dúctil, porque permite diferentes formas de uso y procesamiento, además del consumo en fresco, que aún no han sido aprovechadas ni explotadas. Comúnmente se la utiliza pelada en crudo o previamente hervida, tostada y procesada para obtener la harina de piñón muy utilizada en sopas, masas o relleno de empanadas, masas para alfajores, café y licores. Por otro lado, la tendencia actual hacia una gastronomía étnica o natural con alto valor nutricional hace que el desarrollo de nuevos productos a base de esta materia prima originaria de zonas turísticas, como la Patagonia, tengan mucha importancia. Por ello, este trabajo tiene como objetivo estudiar los cambios físicos que se producen en las semillas frente a diferentes tratamientos, con el propósito de aportar nuevos productos a las canastas regionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Se trabajó con piñones de *Araucaria Araucana* provenientes de la localidad de Villa Pehuenia, provincia de Neuquén, Patagonia Argentina.

Caracterización del piñón de Araucaria araucana:

*Propiedades químicas: s*e caracterizó la materia prima de acuerdo con las técnicas de AOAC (1990) determinando humedad, proteínas, lípidos, hidratos de carbono, cenizas y fibras.

Propiedades físicas: se determinaron las medidas geométricas del piñón (diámetro mayor, diámetro menor y longitud) utilizando un calibre vernier de doble escala. Para la determinación del peso se utilizó una balanza analítica marca Ohaus Analitycal Standard AS200. La determinación de volumen se realizó por picnometría. Para el color superficial se midió los parámetros Hunter Lab, siendo **L** la luminosidad (0: negro; 100: blanco); **a** la proporción de componente rojo-verde en el color medido, para valores positivo y negativo respectivamente y **b** la proporción de componente amarillo-azul. Las lecturas se realizaron en un equipo Minolta CR 400 estandarizado con una placa cerámica blanca (L= 95,55; a= - 0,10 y b = + 2,69). Se hicieron

determinaciones en 20 piñones con dos lecturas en la zona RESULTADOS Y DISCUSIÓN ecuatorial y esos valores numéricos fueron convertidos en diferencia de color (ΔE_{ab}), "chroma" (C_{ab}) y "ángulo hue" (h_{ab}) Caracterización del piñón de Araucaria Araucana usando las ecuaciones (Hunter, 1987)

$$\Delta E_{ab} = \sqrt{\left(\Delta a^2 + \Delta b^2 + \Delta L^2\right)}$$

Donde $\Delta a = a - a_0$: $\Delta b = b - b_0$; $\Delta L = L - L_0$ El subíndice "o" indica color inicial

$$C_{ab} = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

 $h_{ab} = arctg (b/a)$

Pretratamientos

Los piñones utilizados fueron pretratados mediante escaldado (1h a 100°C) y pelado en caliente. Se procesaron enteros, aplastados y trozados en cubos.

Deshidratación

Los piñones escaldados, pelados, enteros, aplastados y trozados en cubos fueron secados a 70°C en estufa de convección forzada con una velocidad de aire de 0,02m/s y una humedad relativa de 10%, hasta humedades residuales de 15%.

Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) y un test de comparaciones múltiples para analizar las diferencias entre los distintos tratamientos, usando el software Statgraphics[®] Plus 5.1.

En la Tabla 1 se presenta la composición química del piñón en base húmeda (bh). Se puede observar que presenta alto contenido de humedad (47,5 ± 0,1%), valores coincidentes con los encontrados por Conforti (2009).

Tabla 1. Composición química del piñón de Araucaria Araucana

2 22 22		
Parámetros	(%bh)	
Humedad	47,50	
Lípidos	0,36	
Proteínas	3,71	
	4	
	5	
Carbohidratos Totales Almidón Azúcares simples	6 7 4 3	
•	7	
	9	
	1,88	
Fibra Cruda	1,09	
Cenizas Totales	1,25	

Los principales componentes de los piñones, exceptuando el agua, fueron los carbohidratos, lo que indica que los piñones son una importante fuente de calorías. De los carbohidratos totales obtenidos, un alto porcentaje son almidones (43,79%), de los cuales un 93% son almidones resistentes. Por estudios previos realizados (Henriquez, 2008) en piñón de Araucaria Araucana se comprobó que el almidón es el compuesto principal de esta semilla representando un 65 a 87% del peso seco total, dependiendo de las condiciones ambientales. El almidón resistente se define como la suma de almidón y productos de degradación del almidón que no se absorben en el intestino delgado de individuos sanos. Conforti (2009) expresa que el almidón resistente actúa como prebiótico sobra la flora intestinal y puede alterar el metabolismo de los lípidos y el colesterol, reduciendo el riesgo de colitis ulcerosas y de cáncer de colon. Se puede dividir en cuatro tipos, de acuerdo al mecanismo que previene su digestión enzimática: almidón físicamente inaccesible, atrapado en la matriz celular, como el presente en las legumbres (tipo 1); almidón nativo o sin gelatinizar, que al estar en forma cristalina es inaccesible a la hidrólisis, como por ejemplo en papas crudas o bananas verdes

condiciones de crecimiento, etapa de madurez o condición post-cosecha de *A. araucana* (Henriquez, 2008). Del contenido de cenizas totales, un alto porcentaje (84,2%), son solubles en agua.

Influencia del escaldado en las propiedades físicas del piñón de Araucaria araucana

En la Tabla 2 se presentan los parámetros físicos del piñón fresco entero, pelado y escaldado.

Teniendo en cuenta que los piñones de *Araucaria araucana* son semillas cuneiformes que presentan una cobertura leñosa, se puede observar que, en el caso de las muestras analizadas, la cáscara del piñón representó un 16% del peso total, valor que concuerda con el hallado por Conforti y col. (2009). Por otro lado, las dimensiones del piñón con cáscara y el piñón pelado, presentaron diferencias significativas (α : 0,05) siendo el diámetro mayor de la semilla un 25% superior al diámetro menor.

(tipo 2); almidón retrogradado, que se forma al dejar alimentos	Tabla 2. Propiedades físicas del piñón				
cocidos a bajas temperaturas o temperatura ambiente (tipo 3) yMuestra	Peso	Diámetro	Diámetro	Largo	Volumen
almidón químicamente modificado (tipo 4). El término		mayor	menor		
retrogradación se refiere a los cambios que sufre el almidánón entero	4,3 ±	1,6 ± 0,1 ^a	$1,2 \pm 0,1^{a}$	4,7 ±	3,8±0,8 ^a
gelatinizado durante el enfriamiento, que implican una	0,8 ^a			0.3^{a}	
recristalización reversible de la amilopectina y priñón pelado	$3,6 \pm$	1,3 ± 0,2 ^b	1,0 ± 0,1 ^b	$3.7 \pm$	2,8±0,7 ^b
recristalización parcialmente irrevesible de la amilosa.	0,8 ^a			0,3 ^b	
Por otro lado, los valores de proteínas y cenizas son similaræiñón	$3.9 \pm$	1,4 ± 0,1 ^b	1,1 ± 0,1 ^{ab}	$3.7 \pm$	3,1±0,5 ^{ab}
los informados por Conforti (2009), pero el contenido de lípiesaldado	0,6 ^a			0,2 ^b	
fue manor on un 22 6% y al de fibres mayor en un 50% Les					

fue menor en un 33,6% y el de fibras, mayor en un 50%. Las diferencias podrían explicarse por diferentes ecotipos,

*Las medias y desvío estándar con letra minúscula diferente son las que presentaron diferencias significativas (p < 0,05).

El escaldado previo al pelado, no afecto significativamente el peso en el piñón sin cáscara, pero hubo un aumento del 10% en los diámetros (mayor y menor) que se reflejó en el volumen, con un aumento del 10%.

En la Fig. 1 se presentan los valores de color superficial medidos por el sistema Hunter Lab del piñón entero, pelado y escaldado. En estos parámetros también se observaron diferencias significativas (α : 0,05), entre el piñón entero y el pelado, principalmente, en los valores del Hunter L (58,6 \pm 6,6 - 77,8 \pm 3,1) y el Hunter a (16,1 \pm 2,9 - 2,3 \pm 1,1). Esto se debió a que el color de la cubierta externa del piñón era marrón oscuro poco luminoso y el piñón pelado era de color amarillo claro brillante, teniendo en cuenta que se evaluó el color superficial de la semilla sin el endopleura o tegumento ovular que la recubre y que es de color rojizo.

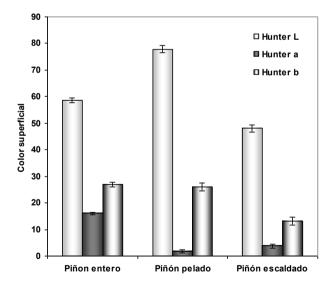


Fig. 1. Color superficial del piñón de Araucaria Araucana

En el escaldado, aumentó el Hunter a $(3,8\pm0,7)$ y disminuyeron los parámetros Hunter L y b $(48,0\pm1,4$ y $13,2\pm1,4$ respectivamente) en un 50%. Esto indica que cambió el color amarillo claro luminoso del piñón a un pardo menos brillante.

Influencia del deshidratado sobre las características físicas del piñón

Deshidratación de los piñones

Los piñones pelados enteros, aplastados y trozados en cubos se secaron en estufa convectiva a una temperatura de 70°C, con una velocidad de aire de 0,02m/s y una humedad relativa de 10%. Se determinó la pérdida de peso a diferentes tiempos de secado y se graficó el contenido de agua residual relativa (X/Xo, siendo Xo el contenido de agua del piñón fresco y X el contenido de agua al tiempo t) vs el tiempo de secado, como lo muestra la Fig.2.

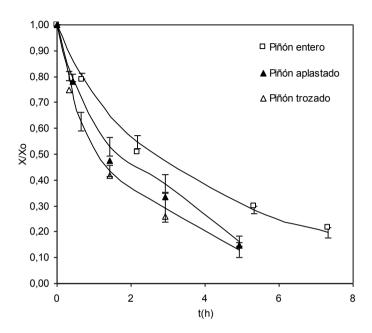


Fig. 2. Curvas de secado a 70°C de piñón pelado

Se pudo observar que todas las curvas tenían la misma tendencia, una caída muy rápida en la primera fase del secado, donde se extrajo la fracción de agua libre del piñón y la segunda fase, más lenta por tratarse de la difusión del agua retenida en capilares, débilmente ligada, y que resultó más dificultosa extraerla de la semilla. Este último comportamiento se dio para valores de X/Xo cercanos a 0,10 coincidente con resultados obtenidos por otros investigadores en productos vegetales (Doymaz, 2007; Mabellini, 2009). En el piñón, partiendo de humedades similares, los tiempos de secado de las semillas pretratadas disminuyeron considerablemente (40%

menos) en comparación con las muestras de piñones enteros, alcanzando valores de X/Xo menores a 0,15 a las 4,5 h de secado. Probablemente esto se debe a la disrupción de las paredes celulares, lo que se traduciría en una mayor pérdida de peso por unidad de tiempo (Pirone, 2009). Lo que indica que los pretratamientos fueron beneficiosos para acelerar el proceso.

Evolución del color superficial

Para comparar la evolución del color superficial de las semillas deshidratadas en las diferentes condiciones se calculó ΔE (cambio global del color) a lo largo del proceso y se graficó en función del tiempo de secado (Fig. 3). Se pudo comprobar que el comportamiento de los piñones pretratados fue similar al de las semillas enteras, hubo un aumento brusco del parámetro en la primera hora del secado y luego una tendencia a aplanarse. Al final del secado, los valores de ΔE no presentaron diferencias significativas entre las muestras, variando entre 13,22 a 13,31. Para verificar cuales eran los parámetros comprometidos en el comportamiento del ΔE , se calcularon los valores de hue ($h_{ab:}$ ángulo de tono) y del croma ($C_{ab:}$ intensidad del tono) de las semillas frescas y las deshidratadas en las diferentes condiciones, con un X/Xo menor a 0,15, para comparar los resultados

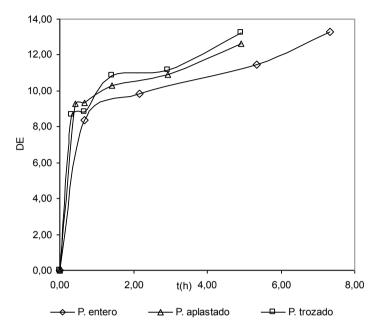


Fig. 3. Curvas de secado a 70°C de piñón entero, aplastado y trozado en cubos

En la Tabla 3 se muestran los valores iniciales y finales de los parámetros h_{ab} y C_{ab} del piñón antes y después del deshidratado. Se puede observar que el h_{ab} (tono) de los piñones deshidratados enteros y trozados no presentaron diferencias muy marcadas respecto de la muestra inicial, en cambio el piñón secado aplastado tuvo un aumento del 9% hacia los tonos pardos. En el caso del C_{ab} hubo un aumento marcado en todos los piñones pretratados (Tabla 3).

Tabla 3. Comparación de los valores de h_{ab} y C_{ab} de lospiñones deshidratados (0,14 < X/Xo < 0,19)

Mue	estra	h _{ab}	C _{ab}
Piñón	escaldado	63,5±1,5 ^a	14,3±5,8 ^a
pelado			
Piñón secad	do entero	66,7±0,9 ^{ab}	20,6±0,7 ^b
Piñón secado		69,5±0,9 ^b	23,4±0,7 ^b
aplastado			
Piñón secad	do trozado	66,9±1,0 ^{ab}	25,3±0,8 ^b

*Las medias y desvío estándar con letra minúscula diferente son las que presentaron diferencias significativas (p < 0,05).

Se puede inferir que el daño estructural de los tejidos en los piñones pretratados trozados no afectó demasiado la coloración del producto.

Encogimiento volumétrico

La tabla 4 muestra los valores de volumen de las semillas deshidratadas en las diferentes condiciones y el encogimiento volumétrico que tuvieron al finalizar el proceso.

Tabla 4. Encogimiento volumétrico de los piñones deshidratados (0,14 < X/Xo < 0,19)

Muestra	Volumen	Encogimiento volumétrico
	(cc)	(%)
Piñón secado entero	$2,57\pm0,06^{a}$	18,3±1,3 ^a

Piñón	secado	2,76±0,05 ^b	12,4±1,1 ^b
aplastado			
Piñón secado	trozado	2,75±0,05 ^b	12,6±1,1 ^b

*Las medias y desvío estándar con letra minúscula diferente son las que presentaron diferencias significativas (p < 0,05).

Se puede observar que el volumen final del piñón secado entero fue menor (7%) que el secado aplastado o trozado, siendo el encogimiento volumétrico un 30% mayor en los piñones deshidratados enteros respecto de los pretratados. En el proceso de secado, una menor reducción del volumen permitiría reducir el encogimiento volumétrico, originando productos deshidratados con mayor porosidad y mejor humectabilidad que pueden rehidratarse más rápidamente y mostrar las mismas características estructurales y químicas del alimento fresco, como también sus propiedades nutricionales y sensoriales.

CONCLUSIÓNES

El piñón de *Araucaria Araucana* posee un alto contenido de carbohidratos, de los cuales un porcentaje importante son almidones resistentes que, probablemente, actúen como prebióticos sobre la flora intestinal.

El piñón tuvo una merma del 15% de su peso en la extracción de la cobertura castaño rojiza, quedando al descubierto la semilla de color amarillo luminoso.

El escaldado, aumentó el volumen de la semilla pelada en un 10% y disminuyeron los parámetros Hunter **L** y **b**, aumentando el Hunter **a**, pero hacia los tonos pardos.

En la deshidratación de las semillas, el pretratamiento más efectivo fue el trozado en cubos, porque disminuyó el tiempo de secado en un 40%, conservó el color de la semilla inicial y tuvo menor encogimiento volumétrico.

BIBLIOGRAFÍA

Association of Official Analytical Chemits (AOAC, 1990) Official Methods of Analysis.

Casani M. (2012) La incorporación de la semilla del Pehuen en el turismo gastronómico: ¿Desarrollo sustentable local o estrategia de marketing? Tesis de grado presentada ante FCE – UNLP

Conforti P. (2009) Obtención y caracterización de productos de panadería con componentes regionales y de alo valor nutricional. Tesis doctoral presentada ante UNLP

Henríquez C., Escobar B. Figuerola F., Chiffelle I., Speisky H., Estevez A. (2008) Characterization of piñón seed (Araucaria araucana (Mol) K. Koch) and the isolated starch from the seed Food Chemistry 107: 592–601.

Hunter, R; Harold, R. (1987). The measurement of appearance. Second Ed. John Wiley & Sons, Inc., New York. ISBN 0-471-83006-2.

Mabellini A.; Vullioud M.; Márquez C.; De Michelis A. (2009) Kinetic Drying Experimental Data And Mathematical Model For Sweet Cherries (*Prunus Avium*) Journal of Food Process Engineering

Marín E., Lemus R., Flores V., Vega A. (2006) La rehidratación de alimentos deshidratados. Rev Chil Nutr Vol. 33, N°3, Diciembre 2006

Pirone B.N.; Salvatori D.M.; Lezcano M.E.; Marquez N.; De Michelis A. (2009) "Evaluación del color durante la deshidratacion de cereza (var. Rainier) sometida a pretratamientos" Proceeding Cytal 2009. Concordia. Entre ríos. Argentina

Taha E., Casanova G. y Navarro R. (2010) Producción, técnicas de poscosecha y desarrollo de productos a partir del piñón.

Proyecto de Innovación en la VIII Región del Biobío y IX Región de La AraucaníaISBN Nº 978-956-328-093-7

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional del Comahue y a CONICET

MICROENCAPSULADOS DE TOMATE DE ÁRBOL MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN CON AIRE CALIENTE Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Revelo Vargas D.¹, Nazareno M.² y Osorio Roa C.³

- (1) Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia.
- (2) Centro de Investigación y Transferencia de Santiago del Estero (CITSE)- Universidad Nacional de Santiago del Estero-CONICET, Argentina.
- (3) Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia Bogotá, Colombia.

Email: (darevelova@unal.edu.co)

Palabras clave: Tamarillo, antocianinas, biofuncional, conservación, capacidad antioxidante.

RESUMEN

El tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav.*) variedad roja es una fruta con un contenido significativo de de compuestos polifenólicos en el mesocarpio y de antocianinas en el endocarpio, que la convierten en candidata para nuevas formulaciones alimenticias si se logra su correcta preservación. Para tal fin, se utilizó la microencapsulación mediante secado por aspersión como método para obtener solidos enriquecidos en antocianinas a partir de esta fruta. En el diseño experimental se determinó estudiar el proceso variando la temperatura de secado entre 125 y 225°C en intervalos de 25°C, y utilizandodos clases de muestra, solo endocarpio (SE) y endocarpio junto con

el mesocarpio (SE). En todos los tratamientos, se evaluó la concentración de antocianinas, carotenoides y polifenoles, y también se determinó la actividad antioxidante por métodos directos (DPPH, ABTS) y métodos indirectos (FRAP, LOX). Se encontró que la actividad antioxidanteexhibida por la fruta se mantuvo después del proceso de microencapsulación, donde la actividad antioxidante determinada por métodos de DPPH y ABTS fue mayor para los microencapsulados ricos en antocianinas procedentes del endocarpio, mientras que para métodos de FRAP y LOX se obtuvo una mayor actividad para los microencapsulados con mayor presencia de polifenoles y carotenoides provenientes del mesocarpio de la fruta.

Keywords: Tamarillo, anthocyanins, biofunctional, storage, antioxidant capacity.

ABSTRAC

The tree tomato (*Solanum betaceum Cav.*) red variety is a fruit with a significantamount of anthocyanins in the endocarp, being a promising raw material for new food products. Thus, spraydrying microencapsulation was used to get anthocyanin-rich solids from this fruit. For the experimental design, five different drying temperature were evaluated (from 125 to 225 °C, with intervals of 25 °C) as well as two kind of samples, only endocarp (SE) and endocarp plus mesocarp (SE). In all the treatments, the concentration of anthocyanins, carotenoids, and polyphenols were determined; and the antioxidant activity was measured by using direct methods (DPPH, ABTS) and indirect methods (FRAP, LOX). It was found that the antioxidant properties exhibited by fresh fruit were maintained after the microencapsulation process. The values of antioxidant activity determined by DPPH and ABTS were higher for SE samples in comparison with TE

samples; in contrast, when LOX and FRAP methods were used, TE samples showed more activity, likely for the presence of compounds such as, carotenoides from the mesocarp of the fruit.

INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.), también conocido como tomate de palo o tamarillo pertenece a la familia de las solanáceas originaria de los Andes, dispersa en países como Colombia, Chile, Ecuador, Bolivia, Brasil v Perú. Una vez madura el fruto, es muy jugoso de color anaranjado a rojo oscuro, de sabor agridulce, agradable y muy particular, compuesto por tres capas que se diferencian claramente en la figura 1. La primera capa es el pericarpio (o cáscara) que tiene fines de protección del fruto y no se consume debido a su sabor amargo y el alto contenido de hemicelulosa y celulosa, la segunda capa es el mesocarpio (pulpa) que está compuesta por una fracción carnosa de color naranja debido a los compuestos polifenólicos que absorben entre 420 a 510 mn (De Rosso & Mercadante, 2007), rica en agua y estructura firme que protege el interior del fruto, y la tercera capa, el endocarpio de color morado debido a las antocianinas que absorben entre 520 a 580 nm (Hurtado et al., 2009), conteniendo las semillas y compuestos nutricionales. Esta fruta considerada "exótica" se consume tradicionalmente de manera directa o en jugos, por lo cual los métodos de conservación investigados se limitan a la aplicación de tratamientos térmicos para la producción de jaleas o concentrados (Rawson et al., 2011).

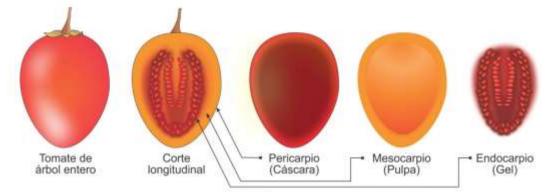


Figura 1. Partes del fruto de tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav.*).

El potencial como alimento funcional de esta fruta ha llevado a evaluar la actividad antioxidante (en fresco) de los polifenoles tanto en el endocarpio (Hurtado et al. 2009) como en el epicarpio (Castro et al. 2013), los cuales pueden actuar de forma cooperativa o sinérgica ya que tienen la habilidad de atrapar radicales libres y por lo tanto retardar la autooxidación lipídica (De Rosso y Mercadante, 2007). Para tal fin, existen diferentes métodos para determinar la capacidad antioxidante de compuestos y extractos, variando las especies oxidables monitoreables durante el proceso de la reacción y el medio en el cual se lleva a cabo (Prior et al. 2005, Karadag et al. 2009).

Además, el método de secado por aspersiónes considerado como una técnica relevante en la preservación de alimentos perecederos, ingredientes funcionales y nutracéuticos como vitaminas, aromatizantes, minerales, antioxidantes y ácidos grasos (Gharsallaoui *et al.* 2007, Murugesan y Orsat 2012).

Durante este proceso de secado, la evaporación del agua es rápida y el recubrimiento del compuesto de interés se produce casi instantáneamente con ventajas para su posterior inclusión en productos procesados, como son la disminución de la actividad de agua, la reducción en el volumen, y el mejoramiento de la capacidad de aglomeración y la densidad aparente (Fernández et al. 2011; Murugesan y Orsat 2012). Por lo cual, dado la importancia nutricional del fruto de tomate de árbol y a la necesidad de conservar sus propiedades biofuncionales, en éste trabajo se obtuvieron sólidos enriquecidos en antocianinas y otros compuestos con actividad antioxidante mediante microencapsulación por secado por aspersión con aire caliente, tanto en la mezcla de mesocarpio y endocarpio de la fruta (ME) como en la fracción de sólo el endocarpio de la fruta (SE), para evaluar la capacidad antioxidante por diferentes métodos ABTS, DPPH, FRAP y LOX, así como los contenidos de antocianinas, polifenoles y carotenoides.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de los microencapsulados: El tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav.*) variedad roja fue adquirido en los mercados locales de Bogotá y se trabajó con frutos de calidad extra en Nivel 3, según la Norma Técnica Colombiana NTC 4105 (Icontec 1997), utilizando el endocarpio y mesocarpio libre de semillas. El encapsulante seleccionado fue maltodextrina DE20, debido a sus buenas propiedades como agente encapsulante, su bajo costo y la inexistencia de sabores residuales (Villacrez*et al.* 2014). La obtención de los microencapsulados se realizó en un

spray-dryer SD-06 Labplant (Reino Unido), bajo las condiciones estandarizadas previamente en el laboratorio, a saber, flujo de entrada de aire de 4.3 m/s, velocidad de la bomba para el impulso de la mezcla a microencapsular de 280 ml/h y variación de la temperatura de 125° C a 225° C con intervalos de 25° C. La combinación de material a encapsular, fruta: agua: encapsulante se realizó en proporciones 1:1:1 (p/p/p) con la finalidad reducir la viscosidad de la mezcla y asegurar la homogeneidad total antes de iniciar el proceso.

Cuantificación de compuestos biofuncionales: determinación del contenido de antocianinas en los sólidos disueltos (0.5 g sólido/10 mL agua) fue realizada por el método de pH diferencial (Wrolstad et al. 2005) y se expresó como ma de delfinidina-3-rutinósido/ Kg microencapsulado (ε = 25874 mol-1 cm-1, $\square_{\text{máx}}$ = 518 nm, PM = 611 u, Hurtado *et al.*, 2009), teniendo en cuenta que está fue la antocianina mayoritaria identificada en el fruto. La cuantificación de polifenoles se realizó por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteus (Singleton y Rossi, 1965) en relación a una cantidad conocida de ácido gálico y la cuantificación de catorenoides se determinó por espectrofotometría UV-Visen comparación con patrones de β-caroteno (Wrolstad et al. 2005).

Capacidad antioxidante: La determinación de la capacidad antioxidante de los sólidos disueltos se realizó por los métodos ABTS, DPPH, LOX y FRAP. Previó a los ensayos de actividad antioxidante, las disoluciones de los microencapsulados se pasaron por cartuchos de extracción en fase sólida C_{18} con el objeto de retirar los azúcares y la maltodextrina, mediante adsorción selectiva.

Método ABTS:La actividad antioxidante fue medida utilizando el λ =593 nm de forma inmediata y calcular la actividad ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS) v persulfato de potasio como fuente de radicales libres preparado siguiendo las especificaciones de Re et al. (1999) con algunas modificaciones. Para cada ensavo se tomaron 3 mL de reactivo ABTS y adición de 80 µL de muestra (0.025 g/mL de agua) para medir la absorbancia a λ =734 nm. La actividad antioxidante se determinó utilizando la ecuación (1)

$$\% AAR = [1-ASS/A_0]*100\%_{(1)}$$

Donde% AAR = Porcentaje de actividad antiradicalaria; ASS = absorbancia de la solución en estado estable a tiempo infinito; A₀ = Absorbancia de la solución inicial de radical libre antes de la adición del antioxidante.

Método DPPH: Se utilizó la metodología descrita por Bondet et al., (1997) con algunas modificaciones. El reactivo 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) fue llevado a una absorbancia de 1.0 ± 0.1 en la oscuridad y a temperatura ambiente. Se tomaron 3 mL de reactivo DPPH y separadamente se le adicionaron 80 µL de cada una de las muestras a evaluar (0.025 g/mL de metanol)para luego medir la absorbancia a λ =515 nm. El porcentaje de inhibición de la absorbancia de las muestras se determinó ajustando los datos de la cinética de absorbancia a tiempo infinito (Chaillou y Nazareno 2006) según la ecuación [1].

Método FRAP: La actividad antioxidante evaluada como poder reductor (FRAP) (Oyaizu 1986, Benzie y Strain 1996) se determinó empleando 1 mL de cada microencapsulado (0.05 g/ ml de agua) junto a 1 mL de buffer de fosfato 0.2 M (pH 6.6) y 1 mL de reactivo FRAP para realizar la medición de absorbancia a antioxidante en relación a curvas de calibración realizadas con concentraciones conocidas de ácido ascorbico.

Método LOX:En este método se evaluó la capacidad del microencapsulado para inhibir o evitar el ataque al β-caroteno por los dienos conjugados procedentes de la oxidación de ácido linoléico inducida enzimáticamente por la enzima lipooxigenasa (LOX) extraída y purificada de soya. El procedimiento de purificación de la enzima se llevó a cabo de acuerdo con la metodología de Fukushige et al., (2005) con algunas modificaciones. La solución de ataque (beta caroteno y ácido linoleico) se colocó en una celda de 3 mL v se añadió una alícuota de 100 µL de la solución de cada uno de los microencapsulados (0.2 g/ mL en agua) y posteriormente se adicionaron 100 µL de la lipooxigenasa (LOX) para iniciar la reacción. La lectura de la absorbanciaa 🛘 = 460 nm se realizó a los 10 minutos (Chaillou y Nazareno 2006), y se comparó con la de la solución sin adición del microencapsulado (solución de control de la reacción) según la ecuación [2]:

$$\% AAO = [1-(AS_0 - AS_{\infty}) / (AC_0 - AC_{\infty})]*100\%_{(2)}$$

% AAO = Porcentaje de actividad antioxidante; AS₀ Donde = Absorbancia de la solución en estado estable a tiempo cero; AS∞=Absorbancia de la solución en estado estable a tiempo infinito; AC₀=Absorbancia del control en estado estable a tiempo cero; AC∞= Absorbancia del control a tiempo infinito.

Análisis estadístico: La absorbancia del sistema en un estado estacionario para DPPH, ABTS y LOX se estimó mediante el

ajuste matemático de las curvas cinéticas realizadas con el software de Origen 7.0 y se expresó en todos los casos como	mg delfinidina-3- rut./Kg	mg β-caroteno/Kg microencapsulado	mg ácido gálico/Kg
equivalentes de Vitamina C (mg de Vitamina C/g deme 125	528.51 ± 170.42	86.291 ±0.506	187.693 ± 0.483
microencapsulado) para permitir la comparación entre los _{ME 150}	337.11 ± 114.19	55.170 ±0.136	178.816 ± 0.241
métodos. El efecto de la temperatura de secado sobre la ME 175 actividad antioxidante se evaluó mediante análisis de la varianza ME 200	233.18 ± 13.69	37.937 ±0.404	172.328 ± 0.639
(ANOVA) utilizando la prueba de Duncan con un nivel de ME 200	206.96 ± 103.92	33.951 ±0.136	155.255 ± 0.241
significación de $\alpha = 0.05$ con el paquete estadístico SAS © 9.4ME 225	189.77 ± 14.07	14.725 ±0.227	154.231 ± 0.483
(SAS, 2012). Para evaluar el efecto de la correlación entreSE 125	902.40 ± 36.56	29.353 ±0.164	108.647 ± 0.483
antocianinas totales y análisis DPPH se utilizó un análisis de _{SE 150}	842.94 ± 30.01	28.871 ±0.091	101.476 ± 0.241
covarianza con el mismo nivel de significancia. SE 175	734.65 ± 86.67	26.395 ±0.298	94.989 ± 0.483
RESULTADOS Y DISCUSIÓN: SE 200	545.26 ± 52.34	17.490 ±0.091	82.184 ± 0.639
SE 225	496.56 + 15.42	9.709 ±0.198	80.136 ± 0.639

El contenido total de compuestos biofuncionales de mayor relevancia en los microencapsulados se presenta en la tabla 1. Dentro de este resultado se observó que existe una mayor linealización respecto a la temperatura de proceso de los datos correspondientes a las muestras SE, lo cual puede ser atribuido al daño térmico directo de las antocianinas (Tiwari *et al.*, 2009). A menor temperatura de secado existe una mayor concentración de los compuestos biofuncionales, donde hay una mayor concentración de entre 2 a 3 veces de antocianinas para las muestras SE en relación a las muestras ME para cada temperatura. En contraste, las muestras ME exhibieron mayor contenido de carotenoides y polifenoles a cada temperatura.

Tabla 1. Contenido de algunos compuestos biofuncionales presentes en los microencapsulados de pulpa tomate de árbol obtenidos a diferentes temperaturas.

ME = Mesocarpio-Endocarpio, SE = Solo Endocarpio.

La evaluación de la capacidad antioxidante de los cuatro métodos planteados logró plantear la correlación entre la actividad antioxidante y la variable de control de temperatura; a pesar de que cada metodología refleja una interacción diferente entre los compuestos de las muestras y los radicales de estudio. La determinación de la actividad antioxidante mediante el uso del radical DPPH mostró que existe una clara tendencia lineal de degradación respecto a la variación de la temperatura dependiente del contenido de antocianinas, lo cual fue probada por Hurtado *et al.*, (2009), quienes concluyeron que las antocianinas tienen una mayor capacidad para capturar radicales libres en solución acuosa (pH 5,2) que el ácido ascórbico; en este estudio mediante un diseño de análisis de covarianza se comprobó que la propiedad antioxidante mediante DPPH puede ser atribuida directamente al contenido

Tratamiento Antocianinas Carotenoides Polifenoles mediante DPPH puede ser atribuida directamente al contenido de antocianinas, donde existe una alta dependencia significativa

del contenido de antocianinas (p<0.0001), muy superior en relación a la variación aportada por el efecto térmico (p=0.0055), como se muestra en la figura 2.

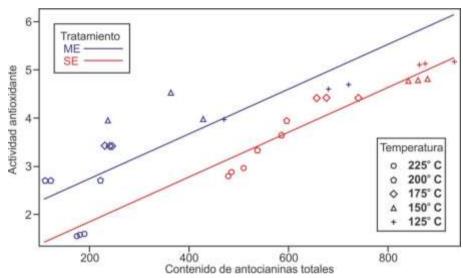


Figura 21. Análisis de covarianza entre actividad antioxidante determinado por el método DPPH y contenido total de antocianinas en los diferentes microencapsulados de tomate de árbol.ME = Mesocarpio-Endocarpio, SE = Solo Endocarpio.

Los resultados obtenidos al usar el radical ABTS revelaron que existió una mayor actividad antioxidante para las muestras SE, sin embargo existió una mejor conservación de las muestras ME con una velocidad menor de pérdida de la actividad antioxidante (pérdida de 0.02816 EVC/°C) respecto a las muestras de SE (pérdida de 0.07525 EVC/°C); 2.67 veces menor en comparación a pesar de su menor concentración inicial, como se muestra en la figura 3. Esto demuestra que existen

compuestos antioxidantes en el mesocarpio de la fruta con mayor resistencia a la degradación térmica o que poseen carácter protector a las antocianinas próximas, análogo al efecto de copigmentación de las antocianinas por los compuestos polifenólicos presentes en otros alimentos. Para la temperatura de secado de 225° C las muestras presentaron un similar contenido antioxidante debido a la degradación casi total y la generación de compuestos que pueden actuar como prooxidantes (Oyaizu, 1986; Prior *et al.*, 2005).

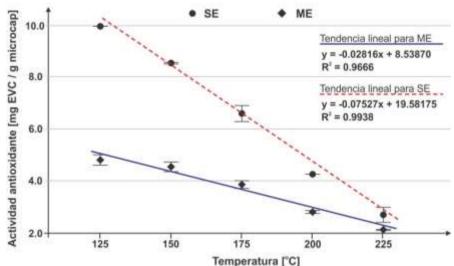


Figura 32. Actividad antioxidante por ABTS para los microencapsulados de Mesocarpio-Endocarpio (ME) y Solo Endocarpio (SE) de tomate de árbol microencapsulado a diferentes temperaturas.

En contraste, los resultados de actividad antioxidante determinada por los métodos FRAP y LOX mostraron una relación inversa a la presentada por las pruebas DPPH y ABTS,

como se muestra en las figuras 4 y 5, explicado por el efecto antioxidante de otros compuestos diferentes a las antocianinas provenientes del mesocarpio de la fruta, representados principalmente por polifenoles y carotenos (De Rosso y Mercadante, 2007), que actúan de forma sinérgica para reducir el efecto de la degradación térmica del proceso y a su vez reducir el cambio del ión (Fe (III)-TPTZ) al complejo ferroso (Fe (II)-TPTZ). Dado que las pruebas por medio de FRAP han sido diseñadas para simular efectos antioxidantes a nivel sanguíneo, el consumo de productos de esta fruta generaría un efecto positivo potencial de protección a nivel sanguíneo (Benzie et al., 1996). Para la actividad antioxidante por LOX, se obtuvo una buena conservación hasta los 175° C en ambos casos. Aunque la mayoría de reportes de este método de actividad antioxidante se realizan en forma molar y no másica debido a la pureza de los extractos evaluados, los porcentajes de actividad antioxidante (%AAO) en nuestro estudio variaron entre 1.16% a 18.47%; en comparación al 5% a 16% para diferentes extractos de frutos de nueces (Junglans regia) (Salcedo et al., 2010) y de 10% a 45% para extractos de cochinilla (Dactylopius coccus C.) (González et al., 2010).

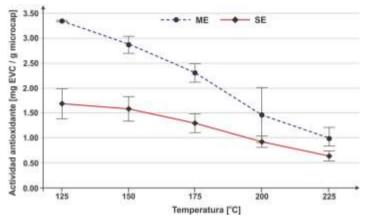


Figura 43. Actividad antioxidante determinada por el método FRAPen los diferentes microencapsulados de tomate de árbol.ME = Mesocarpio-Endocarpio, SE = Solo Endocarpio.

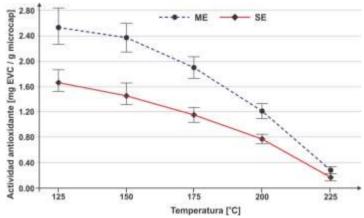


Figura 54. Actividad antioxidante determinada por el métodoLOXen los diferentes microencapsulados de tomate de árbol.ME = Mesocarpio-Endocarpio, SE = Solo Endocarpio.

CONCLUSIONES

La microencapsulación mediante secado por aspersión mostró que es efectivo para conservar las propiedades antioxidantes del tomate de árbol y así emplear los sólidos en formulaciones alimenticias. La actividad antioxidante por medios de métodos de medición directa (DPPH, ABTS) mostró una mejor actividad para las muestras SE representada principalmente por las antocianinas procedentes del endocarpio, demostrando su efecto altamente antioxidante además de su capacidad de pigmentación; mientras que la actividad antioxidante por medios indirectos (FRAP, LOX) mostró mejor actividad para las muestras ME, debido al efecto co-ayudante de carotenos y polifenoles que están en mayor concentración en el mesocarpio de la fruta.

REFERENCIAS

Chemestry, 54: 8397-8402.

Benzie IF. and Strain JJ., 1996. The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analysis Biochemistry, 239: 70-76.

Bondet V., Brand-Williams W., Berset C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• free radical method. LWT - Food Science and Technology; 30(6): 609-615.

Castro VH., Benelli P., Ferreira SR., Parada F. 2013. Supercritical fluid extracts from tamarillo (Solanum betaceum Sendtn) epicarp and its application as protectors against lipid oxidation of cooked beef meat. The Journal of Supercritical Fluids, 76: 17-23 Chaillou LL. and Nazareno MA. 2006. New method to determine activity of polyphenols. Journal of Agricultural and Food

De Rosso VV. and Mercadante AZ. 2007. HPLC–PDA–MS/MS of anthocyanins and carotenoids from Dovyalis and Tamarillo fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry,55: 9135-9141 Fernández FA., Rodrigues S., Law CL., Mujumdar AS. 2011. Drying of Exotic Tropical Fruits: A Comprehensive Review. Food Bioprocess Technologic. 4: 163-185

Fukushige H., Wang C., Simpson TD., Gardner HW., Hildebrand DF. 2005. Purification and identification of linoleic acid hydroperoxides generated by soybean seed lipoxygenases 2 and 3. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 5691-5694.

Gharsallaoui A., Roudaut G., Chambin O., Voilley A., Saurel R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. Food Research International, 40: 1107-1121

González EA., García EM., Nazareno MA. 2010. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of cochineal (Dactylopius coccus C.) extracts. Food Chemistry, 119: 358-362 Hurtado N., Morales A., González L., Escudero L., Heredia F. 2009. Colour, pH stability and antioxidant activity of anthocyanin rutinosides isolated from tamarillo fruit (Solanum betaceum Cav.). Food Chemistry, 117: 88-93

Icontec-Instituto Colombiano De Normas Técnicas. NTC 4105. Frutas frescas. Tomate de árbol. Especificaciones. Bogotá, D.C. 1997.

Karadag A., Ozcelik B., Saner S. 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. Food Analysis Methods, 2: 41-60

Lester GE., Lewers KS., Medina MB., Saftner RA. 2012. Comparative analysis of strawberry total phenolics via Fast Blue BB vs. Folin–Ciocalteu: Assay interference by ascorbic acid. Journal of Food Composition and Analysis, 27: 102-107

Murugesan R. & Orsat V. 2012. Spray Drying for the Production of Nutraceutical Ingredients. A Review. Food Bioprocess Technology, 5: 3-14

Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of product of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44: 307 – 315.

Prior R. L., Wu X., Schaich K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. Journal of Agricultural and Food Chemestry, 53: 4290-4302

Rawson A., Patras A., Tiwari BK., Noci F., KoutchmaT., Brunton N. 2011. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products:

Review of recent advances. Food Research International, 44: 1875-1887

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Riceevans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical & Biology Medicine, 26: 1231-1237.

Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144–158

Salcedo CL., López BA., Nazareno MA. 2010. Walnuts and almonds as model systems of foods constituted by oxidisable, pro-oxidant and antioxidant factors. Food Research International, 43: 1187-1197

Tiwari BK., O'Donnell CP., Cullen PJ. 2009. Effect of non thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. Trends in Food Science & Technology, 20: 137–145

Villacrez JL., Carriazo JG., and Osorio C. 2014. Microencapsulation of Andes berry (*Rubus glaucus Benth.*) aqueous extract by spray drying. Food and Bioprocess Technology, 7(5): 1445-1456

Wrolstad, R., Acree, T., Decker, E., Penner, M., Reid, D., Schwartz, S., Shoemaker, C., Smith, D., Sporns, P. Handbook of Food and Analytical Chemistry. John Wiley & Sons. New Jersey. United State. 2005. p 7-70.

AGRADECIMIENTOS:

Colciencias (contratos RC. No. 0459-2013, Red Nacionalpara la Bioprospección de Frutas Tropicales RIFRUTBIO y RC. No. 707-2013) y MINCYT, Argentina.

APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS DE ALMIDÓN DE MANDIOCA PARA LA CONSERVACIÓN DE FRUTAS DE CARAMBOLA

<u>Trela V.D.</u> (1); Albani O.A. (2); Ramallo L.A. (2)

1: CONICET - Instituto de Materiales de Misiones.

2: Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales – Universidad Nacional de Misiones valeriatrela@gmail.com

Resumen: En el presente trabajo se evaluó el efecto de la aplicación de recubrimiento biodegradable de almidón de mandioca sobre la calidad de carambola (Averrhoa carambola L.) durante el almacenamiento de la fruta a 8°C. Se prepararon soluciones acuosas de almidón de mandioca, utilizando glicerol como plastificante. Las diferentes concentraciones de almidón fueron 4, 5 y 6% p/p, manteniendo fija la concentración de glicerol 1,5 % p/p. La muestra sin recubrimiento se utilizó como control. Durante el período de almacenamiento se evaluó pérdida de peso, color, sólidos solubles, pH y humedad. Las carambolas recubiertas mostraron menor pérdida de peso al finalizar el ensayo en un porcentaje de 18±5%, 22±3% y 24±9% para las soluciones de 4, 5 y 6%p/p respectivamente; el control tuvo una pérdida de peso del 25±2%. Con respecto a los parámetros de color se observaron cambios en el parámetro a*, el cual tuvo un aumento significativo entre las frutas recubiertas al 4% y 6% y en el control, luego de los 12 días de almacenamiento. Se observó que en las frutas recubiertas con almidón no hubo cambios significativos sobreel ángulo Hue, ni en los valores de Chroma. En cambio, si hubo un efecto en las frutas sin recubrir ya que se observó una disminución del ángulo Hue acercándose más al rojo; y una disminución también en el círculo cromático Chroma. No se observaron cambios de sólidos solubles totales en las frutas recubiertas durante el almacenamiento, en cambio, si hubo cambios significativos en la fruta control. Con respecto a las medidas de pH, se observó que no hubo cambios significativos (p>0,05) durante el tiempo de ensayo.

Palabras clave: carambola, almidón de mandioca, recubrimiento biodegradable.

Abstract: In this paper the effect of biodegradable cassava starch coating on quality of carambola (Averrhoa carambola L.) during fruit storage at 8 °C was evaluated. Aqueous solutions of cassava starch were prepared using glycerol as plasticizer. The different starch concentrations were 4, 5 and 6% w / w, keeping fixed the glycerol concentration 1.5% w / w. Uncoated sample was used as control. During the storage period loss weight, color, soluble solids, pH and moisture was evaluated. Coated Carambola showed less weight loss at the end of the test, at a rate of 18 \pm 5%, 22 \pm 3% and 24 \pm 9% for solutions 4, 5 and 6% w / w respectively while the control had a weight loss of 25 ± 2%. In relation to the color parameters were observed changes in parameter a *, which had a significant increase for coated fruits with 4% and 6% and control, after 12 days of storage. We observed no significant changes to the Hue angle, or Chroma values in fruits coated with starch. But there was an effect on fruit uncoated as decrease Chroma and Hue angle moving closer to red. Not change in total soluble solids was observed at the coated fruit during storage, whereas there were significant changes in controlling fruit. With respect to pH measurements,

we observed no significant changes (p> 0.05) during the test period.

Key words: carambola, cassava starch, biodegradable coating.

INTRODUCCION

La conservación de los alimentos es un aspecto clave en la industria alimentaria. Actualmente se están desarrollando diversos tipos de recubrimientos, utilizando biopolímeros degradables, con el fin de prolongar la vida útil de los alimentos. Los recubrimientos a base de almidón han llamado la atención debido a su disponibilidad, precio y buen rendimiento. Las principales investigaciones se han centrado en la plastificación del almidón nativo, bajo la acción de temperatura y presión adecuadas. Varios plastificantes (glicerina, triacetin, formamida, etc) se han añadido al almidón para lograr una disminución de las interacciones moleculares de la cadena y mejorar sus propiedades mecánicas.

La carambola se cultiva principalmente en áreas tropicales y subtropicales. Es un fruto muy atractivo debido a que posee forma de estrella. Las carambolas maduras se consumen generalmente como fruta fresca y pueden servirse en ensaladas o guarniciones (Romero Gomezcaña et al., 2001). Además, los frutos pueden procesarse como jugo, jaleas, mermeladas, en almíbar, cubiertos o deshidratados, que pueden ser enteros o en rebanadas (Campbell et al.). Shui et al.(2004) y Mahattanatawee et al. (2006) reportaron que la carambola es una muy buena fuente de antioxidantes y posee un alto contenido de polifenoles.

Las frutas y vegetales se deterioran luego de la cosecha, donde se observan cambios en el color, pérdida de peso, desarrollo bacteriano y procesos bioquímicos de deterioro. La pérdida de peso se debe principalmente al fenómeno de respiración y transpiración (Barco Hernandez et al, 2011; Valera et al, 2011). Varios procesos se han desarrollado para extender la vida útil de diversos productos retardando la velocidad de respiración, perdida de humedad e inhibición de microorganismos aeróbicos. Algunos de los procesos incluyen atmosfera controlada, almacenamiento hisobárico y el uso de películas o recubrimientos protectores. La aplicación de recubrimientos comestibles simula un almacenamiento controlado y de esta manera prolonga la vida útil de productos frescos (NisperosCarriedo, M et al, 1999). Los mismos poseen como principal componente polisacáridos, lípidos, proteínas y resinas, además pueden incluir plastificantes y emulsificantes de distinta naturaleza química con el fin de mejorar las propiedades de los recubrimientos (Saavedra, N et al, 2010).

En Argentina, la provincia de Misiones es la que posee mayor producción de mandioca. Donde la industria del "almidón" y sus derivados representa una regular fuente de ingresos en la explotación agraria de la provincia, por lo que es una materia prima de gran interés (Uset Nito, INTA Montecarlo 2008).

En el presente trabajo se pretende evaluar el efecto de la aplicación de recubrimiento biodegradable de almidón de mandioca sobre la calidad de carambola (Averrhoa carambola L.) durante el almacenamiento de la fruta a temperatura de refrigeración (8±1°C).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales utilizados para la elaboración de las películas fueron: almidón de mandioca nativo (ALDEMA, Puerto Rico, Misiones, Argentina) y glicerol (Anedra, Buenos Aires, Argentina). Las frutas de Averrhoa carambola L. se cosecharon de árboles de la ciudad de Posadas, Misiones.

Acondicionamiento de las frutas

Luego de la cosecha, las frutas maduras de Averrhoa carambola (8°Brix y cáscara color amarillo) se trasladaron al laboratorio donde se seleccionaron según el color, tamaño. Se lavaron con agua potable y con solución al 2 ppm de hipoclorito de sodio durante 2 minutos dejando escurrir durante 1 hora. Luego se cortaron transversalmente con un espesor de 6±1 mm.

Recubrimiento

Se prepararon soluciones de almidón de 4, 5 y 6% (p/p) con el agregado de glicerol 1,5% (p/p). Las mismas fueron gelatinizadas por calentamiento a 90°C durante 20 minutos con agitación constante utilizando un shaker termostatizado (Dubnoff, Argentina). Luego se dejaron enfriar a temperatura ambiente para proceder a la aplicación mediante inmersión por un periodo de 1 minuto, dejando secar con flujo de aire a temperatura ambiente durante 2 horas. Posteriormente los frutos se almacenaron a temperatura de refrigeración (8 \pm 1 °C) con una humedad relativa del 75% por un periodo de 12 días realizando mediciones a los días 0, 4, 8 y 12. Para mantener la humedad relativa constante se utilizó un recipiente hermético con solución saturada de NaCl.

Medición de pH

Se homogeneizó 3 gramos de mamón en 270 ml deagua destilada en un mixer durante 1 minuto, a velocidadmedia. Se utilizó un pHmetro digital ALTRONIX Modelo TPA-III.

Pérdida de peso.

Se utilizó una balanza analítica con una desviación de ±0,0001g. Para el cálculo se tuvo en cuenta la siguiente ecuación:

$$P_p = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$$

Donde:

P_p= Pérdida de masa (g)

P_i= Peso inicial (g)

P_f= Peso final (g)

Solidos solubles totales

Las frutas se trituraron en un mortero para facilitar la extracción del jugo, luego se filtró y se realizó la medida utilizando un refractómetro Abbe (ICSA-OPTIC, modelo WY 1ª), calibrado con agua destilada.

Medición de parámetros de Color

Se realizaron mediciones de los parámetros de color L*, a* y b* (Sistema HunterLab) con un medidor de color MiniScan® EZ HunterLab (Hunter Associates Laboratory, Inc.).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) y (2):

$$Hue = tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right), (cuando \ a *> 0)$$
 (1)

$$Chroma = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$
 (2)

Humedad

Se determinó gravimétricamente en estufa a 75°C hasta peso constante (48 h aproximadamente).

Análisis Estadístico

El análisis de varianza y los test de rangos múltiples (LSD: método de las mínimas diferencias de Fisher) fueron calculadas usando el software Statgraphics Centurión (2009). Las diferencias entre las medias fueron consideradas a un nivel de confianza del 95% (p<0,05)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pérdida de peso

Las carambolas recubiertas mostraron menor pérdida de peso al finalizar el ensayo que la muestra control, como se detalla en la **Figura 1**. El análisis de estos resultados señalan diferencia significativa únicamente entre la fruta recubierta con la solución de almidón al 4% respecto del control al finalizar el tiempo de ensayo. Este efecto puede deberse a la relación viscosidadadherencia de las soluciones.

Con respecto a la humedad, luego de los 12 días de almacenamiento hubo una disminución del 16,5% en la muestra testigo y una disminución del 13%, 15% y 14,3% en las recubiertas al 4, 5 y 6% respectivamente. Pero los resultados demuestran que no hubo diferencias significativas entre el control y los tratamientos (p>0,05).

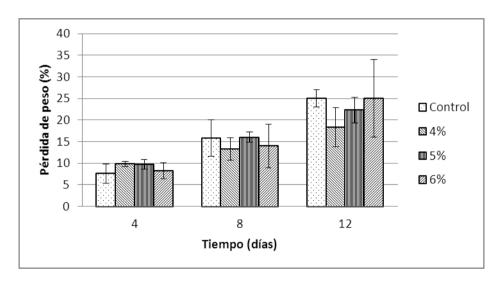


Figura 1: Pérdida de peso de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca al 4, 5 y 6% con 1,5% de glicerol durante el almacenamiento en refrigeración.

Solidos solubles totales y pH

La aplicación de los recubrimientos en carambolas no generó cambios en el contenido de sólidos solubles totales durante el almacenamiento en las frutas recubiertas (ver **Tabla 1**), en cambio, si hubo cambios significativos en la fruta control. Esto puede deberse en gran parte a la evaporación del agua, ya que

la fruta sin recubrir al estar en contacto con el oxígeno pierde mayor contenido de agua, motivo por el cual se concentran los sólidos solubles. Con respecto a las medidas de pH, se observó que no hubo cambios significativos durante el tiempo de ensayo.

Tabla 1:Valores promedio ± la Variación Standard de Solidos solubles y pH de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca durante los días 0, 4, 8 y 12 de almacenamiento.

Sólidos solubles (°Brix)					р	Н		
Recubrimientos	0	4	8	12	0	4	8	12
Control	9,45±0,07	9,50±0,86	10,75±0,35	11,17±1,04	4,63±0,10	4,47±0,05	4,63±0,10	4,51±1,05
4%	7,25±0,75	8,75±1,73	9,67±1,15	11,25±0,35	4,93±0,29	4,75±0,07	4,61±0,03	4,97±0,06
5%	7,25±1,75	8,75±1,75	7,00±1,15	9,25±0,35	4,93±0,38	4,75±0,08	4,81±0,07	4,86±0,22
6%	9,25±0,95	7,43±1,35	7,75±0,50	9,75±0,35	4,94±0,27	4,89±0,03	4,99±0,30	4,90±0,05

Variación del color

La aplicación de los recubrimientos no mostraron diferencias significativas en los valores de L* y b*luego de 12 días de almacenamiento con valores medios de 54,50±1,75 y 39,96±2,32 respectivamente. Esto demuestra que no hubo cambios en la luminosidad y en la coloración amarilla. Con respecto al parámetro de color a* se observó que hubo un ligero aumento tanto la fruta sin recubrir como en las recubiertas encontrándose diferencias significativas (p<0.05) entre las frutas recubiertas al 4 y 6% y en el control luego de los 12 días de almacenamiento (ver **Tabla 2**). Esto indica que las frutas se volvieron levemente

más rojizas. Este incremento en el enrojecimiento puede deberse probablemente al incremento de procesos enzimáticos, causando el pardeamiento y otras reacciones químicas (Chien et al., 2007).

Se observó que en las frutas recubiertas con almidón no hubo cambios significativos sobreel ángulo Hue, ni en los valores de Chroma. En cambio, si hubo un efecto sobre la fruta sin recubrir durante el almacenamiento (ver **Tabla 3**). Estas presentaron una disminución del ángulo Hue acercándose más al rojo; y una disminución también en el círculo cromático Chroma, el cual cambia desde la periferia (colores vivos o limpios) hacia el centro, es decir se vuelve en tonalidades más grises o apagadas.

Tabla 2:Variación del parámetro a* de color en rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca durante el almacenamiento.

		a*		
Recubrimientos	0	4	8	12
Control	11,12±10,77	11,91±0,77	12,96±0,47	13,65±0,45
4%	8,00±0,18	9,81±0,62	9,91±0,16	10,61±0,67
5%	9,23±1,22	11,38±1,72	11,12±1,84	12,07±1,68
6%	9,77±0,68	11,62±1,38	10,98±0,94	11,80±1,07

Tabla 3: Valores promedio ± Variación Standard de los parámetros HUE y CHOMA de color de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca durante el periodo de almacenamiento

HUE					CHR	OMA		
Recub rimien tos	0	4	8	12	0	4	8	12
Contr	76,0 5±0,	70,7 7±1.	71,2 8±0,	69,5 2±1,	45,7 9±1,	36,9 8±4	40,5 1±1	39,2 1±3,
ol	5	18	63	45	80	,68	,03	70
	78,7 9±0,	76,4 2±1,	75,8 5±0,	74,6 8±2,	41,3 4±3,	42,0 3±3	40,3 8±0	40,9 9±4,
4%	90 77.6	60 75,0	41 74,4	45 72,8	27 43,1	,18 44.0	,80 42.0	21 41,3
	8±1,	75,0 5±1,	8±2,	72,8 7±3,	45,1 7±1,	2±1	42,0 5±2	41,3 3±2,
5%	31 73.5	90 74,7	17 74,6	32 73,1	27 40,6	,25 44,1	,21 40,4	46 41,0
	75,5 8±0,	2±2,	5±1,	9±2,	5±1,	9±1	3±0	4±2,
6%	47	06	69	24	78	,12	,96	15

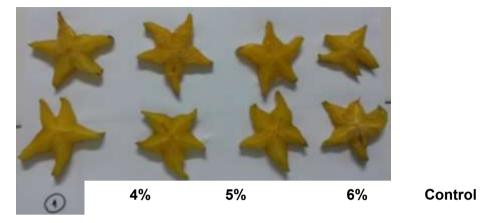


Figura 2: Apariencia externa de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca luego de los 12 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración

CONCLUSIONES

Del presente trabajo se infiere que los recubrimientos comestibles a base de almidón de mandioca ayudan a preservar los parámetros de calidad de las frutas de carambola ya que reducen la pérdida de peso, limitan el contacto con el oxígeno, disminuyen la perdida de solidos solubles y generan una barrera de protección frente a las reacciones de oxidación. Los recubrimientos también favorecen el aspecto visual de las rodajas de frutas manteniendo colores vivos y nítidos, siendo que las frutas sin recubrir mostraron tonalidades más oscuras a causa de las reacciones metabólicas propias de los materiales biológicos.

BIBLIOGRAFÍA

Barco Hernández PL, Burbano Delgado AC, Mosquera Sánchez SA, Villalba Castillo HS, Navia Porras DP, 2011. Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca modificado sobre la maduración del tomate. Revista LASALLISTA DE INVESTIGACION – Vol. 8 Nro. 2.

Brackett RE. 1987. Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. J. Food Qual. 10: 195-206.

Campbell CW, Knight RJ, Olszack R.1985. Carambola production in Florida. Proc. Fla. State Hort, Cos. 98:145-149.

Chien PJ, Sheu F, Yang FH. 2007. Effect of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. Food Eng. 78:225–229.

Gol N, Chaudhari ML, Rao RT. 2013. Effect of edible coating on quallity and shelf life of carambola (Averrhoa carambola L.) fruitduringstorage. J FoodSciTechnol.

Mahattanatawee K, Manthey JA, Luzio G, Talcott ST, Goodner K, Baldwin EA. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. Journal of Agricultural and FoodChemistry. 54, 7355–7363.

Nisperos CMO, Baldwin EA, Shaw PE. 1999. Development of an edible coating forextendingpostharvestlife of selectedfruits and vegetables.

Romero Gomezcaña N.2001. Conozca el cultivo de la carambola o fruta estrella. Folleto informativo N°4. ISSN: 1405-1400.

Saavedra N, Algecira NA. 2010. Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas

Shui G, Leong LP. 2004. Analysis of polyphenolicantioxidants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. Journal of Chromatography. 1022, 67–75.

Uset Nito, 2008. INTA Montecarlo, Misiones. Cuadernillo de producción de mandioca y sus usos.

Valera A, Materano M, Maffei M, Quintero I, Zambrano J, 2011. Uso de recubrimientos comestibles y baja temperatura para mantener la calidad de frutos de mango "Bocado" durante el almacenamiento. Rev. Fac. Agron. (LUZ) pag: 600-608.

RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE ALMIDÓN PARA RETARDAR EL DETERIORO DE PRODUCTOS HORTÍCOLAS MÍNIMAMENTE PROCESADOS

Vasco M.F.¹, Torres M.F.¹, Agnelli M.E.²

1: UNMdP Fac. Cs. Agrarias, Balcarce. Argentina.

2: EEA INTA Balcarce, CONICET.

flova_87@hotmail.com

Resumen: Se evaluó el efecto de recubrimientos a base de almidón mediante el empleo de diferentes técnicas de gelatinización, para retardar el deterioro de zanahorias y papas mínimamente procesadas. Las zanahorias y papas, fueron cortadas en rodajas y cubos, respectivamente. Las muestras fueron sumergidas en emulsiones formuladas a base de diferentes concentraciones de almidón. Las técnicas de gelatinización fueron: frío (GF) y caliente (GC). Las muestras sumergidas fueron secadas, envasadas y almacenadas a 4°C durante 14 días junto con muestras sin tratamiento (MC). Se determinó: evolución en el tiempo de la pérdida de peso (PP), aspecto visual y uniformidad del recubrimiento. Para ambos productos hortícolas se observó que todas las muestras GF presentaron una apariencia y turgencia similar al producto cocido mientras que las GC resultaron parecidas al fresco. Las MC presentaron deshidratación superficial, cambio de color y aroma típico con el transcurso de los días. La PP inicial debida al tratamiento fue mayor en las GF. Las GC, presentaron PP al final del almacenamiento respecto del inicial, excepto las de concentración intermedia, quiénes también mostraron recubrimiento uniforme. El recubrimiento de almidón por gelatinización en caliente resultó ser más efectivo que en frío, especialmente aquel que contenía 5% de almidón.

Palabras clave: Recubrimiento, almidón, gelatinización, calidad.

Abstract: The effect of corn based starch coatings was evaluated to reduce deterioration in minimally processed carrots and potatoes. Cold (GF) and heated (GC) gelatinization techniques were employed for coating formation to evaluate their performance. Carrots and potatoes were washed in chlorinated water, peeled and cut in slices and cubes, respectively. Then, samples were immersed in starch based emulsions prepared as follows.GF emulsions were made from 2,5%, 3%, and 4% starch agueous solution and mixed with NaOH. GC emulsions were formulated from 4%, 5% and 6% starch suspensions, heated up to 85°C during 10 min under constant agitation. After gelatinization, glycerol, sunflower oil and tween 20 were added in both preparations. Samples were submerged for 1 min, then drained and dry at room temperature under forced air flow convection. Once dried, they were packed in LDPE bags and stored for 14 days at 4 °C. Control samples, without coating were also stored (MC). Lost weight, visual appearance and coating uniformity (using I2 staining method) were followed during the storage period. Coatings prepared using GC technique resulted more effective than the ones prepared with GF. The 5% starch coating resulted to be the best as regards uniformity and kept the samples in good conditions in respect of visual aspect and water los during storage.

Keywords: coating, starch, gelatinization, quality.

INTRODUCCIÓN

El procesamiento de frutas y vegetales mínimamente procesados implica operaciones como el pelado, cortado, rallado o rebanado. Estas operaciones provocan daño celular en los tejidos generando desórdenes bioquímicos y fisiológicos y promoviendo el desarrollo de microorganismos, acortando así su vida útil comparada con la del producto fresco (Ahvenainen, 1996). Se requiere entonces el uso nuevas estrategias y tecnologías que permitan mantener la calidad y extender la vida en estantería de los mismos.

El uso de recubrimientos comestibles ha demostrado ser muy útil para la preservación de frutas y vegetales mínimamente procesados (Han & Gennadios, 2005; Vargas, Pastor, Chiralt, McClements, & González-Martínez, 2008; Zahedi, Ghanbarzadeh, & Sedaghat, 2010). Este recubrimiento actúa como barrera para la pérdida de agua y el intercambio de gases provocando un efecto similar al del almacenamiento bajo atmósfera controlada o modificada (Vargas, Pastor, Chiralt, McClements, & González-Martínez, 2008).

La zanahoria y papa cortadas figuran entre los productos mínimamente procesados más buscados por los consumidores a pesar de que su vida útil puede llegar a ser corta. En efecto, dado que el proceso de respiración y el desarrollo continúa, pueden generarse sabores o colores desagradables durante el almacenamiento de los productos cortados. Por ejemplo, en el

caso de la zanahoria, puede apararecer un sabor amargo debido a la síntesis de productos fenólicos (Lafuente, Cantwell, Yang, & Rubatzky, 1989), y presentar una apariencia blanquecina sobre la superficie debido a la oxidación enzimática de los carotenos (Bolin & Huxsoll, 1991). En el caso de la papa, es típico la aparición de colores oscuros por acción de las polifenoloxidasas (PPO) sobre los sustratos fenólicos en presencia de O₂. Estos fenómenos no solo involucran el color y el aspecto de los productos, sino también su sabor y valor nutritivo.

El uso de revestimientos comestibles permite retardar todos estos procesos limitando el contacto de la superficie del vegetal con el O₂ y la perdida de humedad durante el almacenamiento. Los polímeros más comúnmente usados en la preparación de recubrimientos comestibles son proteínas (gelatina, caseína, gluten de trigo), polisacáridos (almidón, celulosa, alginato y carragenano) y lípidos (ácido esteárico, ceras y esteres de ácidos grasos) que pueden ser usados solos o combinados (Sothornvit & Krochta, 2001; Vargas, Pastor, Chiralt, McClements & González-Martínez, C., 2008).Los recubrimientos basados en polisacáridos presentan baja permeabilidad al oxígeno, por lo permite reducir la velocidad de respiración de los productos mínimamente procesados. El almidón es el más importante por su gran variedad y abundancia de sus fuentes (maíz, trigo, papa, etc.) y bajo precio además de producir recubrimientos transparentes que no imparten olor ni sabor al producto (Chiumarelli, Pereira, Ferrari, Sarantópoulos & Hubinger, 2010; García, Pereira, Sarantópoulos, & Hubinger, 2010). Sin embargo, a pesar de ser capaz de formar una matriz polimérica continua,

exhibe un carácter hidrofílico muy fuerte por lo que no es una barrera eficiente para el vapor de agua (Ghanbarzadeh, Almasi, & Entezami, 2011; Karbowiak, Debeaufort, & Voilley, 2007; Liu, 2005; Vargas, Pastor, Chiralt, McClements & González-Martínez, 2008). La adición de lípidos puede reducir la permeabilidad al vapor de agua pero puede afectar la transparencia y las propiedades mecánicas y generar sabores desagradables (Bourlieu, Guillard, Vallès-Pamiès, Guilbert, & Gontard, 2009; Fakhouri, Fontes, Gonçalves, Milanez, Stell & Collares-Queiroz, 2007; Rhim & Shellhammer, 2005). Los lípidos más comúnmente usados para productos mínimamente procesados son los ácidos esteáricos, palmítico y algunos aceites vegetales como el soja o girasol (Bourlieu, Guillard, Vallès-Pamiès, Guilbert, & Gontard, 2009; Colla, Sobral, & Menegalli, 2006; Garcia, Martino, & Zaritzky, 2000; Martín-Belloso, Soliva-Fortuny, & Baldwin, 2005). La incorporación de agentes plastificantes es necesaria para reducir las fuerzas intermoleculares entre los polímeros aumentando la movilidad de los mismos y mejorando las características mecánicas del film (flexibilidad) (Krochta & Sothornvit, 2001; Mali, Grossmann, Martino & Zaritzky, 2002). Los plastificantes más usados son el glicerol y sorbitol.

Por otra parte, las formulaciones de recubrimientos basados en mezclas de polisacáridos y lípidos necesitan la incorporación de un surfactante para promover la formación de una emulsión. De la estabilidad de esta emulsión depende la microestructura del recubrimiento y sus características.

La aplicación de los recubrimientos a base de almidón requiere que éste sea previamente gelatinizado. Esto último puede lograrse sometiendo la suspensión a un tratamiento térmico (gelatinización en caliente, GC) o a la acción del hidróxido de sodio (gelatinización en frio, GF). Ambas alternativas son de fácil ejecución, pero la GF presenta la ventaja de no necesitar un sistema especial de calentamiento. No se han encontrado en la literatura, hasta el momento, estudios que comparen la utilización de ambas técnicas de gelatinización en la aplicación de recubrimientos sobre productos hortícolas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del método de gelatinización en la calidad de los recubrimientos a base de almidón aplicados sobre rodajas de zanahoria y cubos de papa para retardar su deterioro durante el almacenamiento refrigerado. Para ello se evaluó la uniformidad del recubrimiento obtenido y la evolución de la calidad de los productos mínimamente procesados durante el almacenamiento.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Las zanahorias (variedad Chantenay) y papas (variedad Spunta) fueron adquiridas en el mercado local. Se usó almidón de maíz comercial (Molinos Rio de la Plata, Argentina), aceite de girasol comercial (densidad de 0,92 g/ml), glicerina con pureza del 99,9% (densidad 1,26 g/ml) como agente plastificante y Tween 20 como agente surfactante (densidad 1,10 g/ml). Para la gelatinización en frío (GF) se empleó además NaOH en perlas (J. T. Parker) y H3PO4 7 M (Merck, Pureza 85%).

Preparación de la muestra

Las raíces fueron seleccionadas de acuerdo a la uniformidad de diámetro, descartándose aquellas cónicas. Ambas hortalizas fueron almacenadas en cámara de refrigeración a 4 °C hasta su análisis. Las zanahorias y papas se lavaron bajo aqua corriente y se sumergieron en baño de agua clorada 200 ppm durante una hora, a fin de disminuir la carga microbiana inicial. Luego fueron peladas manualmente y cortadas. En el caso de las zanahorias, se obtuvieron rodajas de 1 cm de espesor con una máquina cortadora especialmente diseñada con seis cuchillas, dejando fuera 5 cm aproximadamente de la corona. De esta forma se estandariza el muestreo, eliminándose corona y cola. Por su parte, las papas fueron cortadas en cubos de 1 cm x 1 cm, utilizando una cortadora de papas tipo bastones. Se descartaron los cubos de la superficie externa del tejido. Del total de las rodajas y cubos obtenidos, se tomaron al azar aproximadamente 120 gramos de cada uno de ellos. Este número conformó la muestra.

Gelatinización y formación de emulsiones

Para llevar a cabo la GF se prepararon soluciones acuosas de 2,5% (GF 2,5%), 3% (GF 3%), y 4% (GF 4%), de almidón a las cuales se adicionó NaOH 1%. Estas suspensiones luego fueron neutralizadas con H3PO4 7M, con agitación constante y controlando con un pHmetro de laboratorio. Posteriormente se agregó 1,6% de plastificante. El agente surfactante y la fase

grasa fueron incorporados después del plastificante en concentraciones de 0,2% y 0,22% respectivamente.

Para la gelatinización en caliente se prepararon soluciones acuosas de 4% (GC 4%), 5% (GC 5%) y 6% (GC 6%) de almidón y se les agregó 1,6% del agente plastificante. El recubrimiento se preparó calentando las dispersiones de almidón y glicerol hasta temperatura de $84 \pm 2^{\circ}$ C, durante 10 minutos y con agitación constante, tiempo en el cual se produce la gelatinización. Transcurrido ese tiempo y manteniendo la temperatura, se agregaron el agente surfactante y la fase grasa en concentraciones de 0,2% y 0,22% respectivamente.

En ambos casos, las concentraciones seleccionadas fueron determinadas a través de ensayos previos, en los que se observó que concentraciones mayores generaban una dispersión excesivamente viscosa casi imposible de manipular mientras que el empleo de concentraciones menores no producía gelatinización.

Formación de las emulsiones

Las suspensiones con la fase grasa obtenidas por ambas técnicas de gelatinización se homogeneizaron durante un tiempo total de 3 minutos, repartidos en dos etapas: en los primeros 2 minutos se empleó una velocidad de agitación intermedia a través del uso de un agitador de paleta, para lograr disminuir los glóbulos de aceite y el último minuto se empleó una mayor velocidad, mediante el uso de un Ultraturrax T25, con velocidad de trabajo de 11000 rpm., con el fin de lograr una emulsión

estable. Estas dos etapas fueron necesarias para evitar formación de espuma en la dispersión producto de una muy alta velocidad de homogeneización y que se traduce a la aparición de poros en la superficie de los recubrimientos una vez secos y el probable aumento de permeabilidad que originaría pérdida de la eficiencia del recubrimiento obtenido. A bajas velocidades, la formación de espuma se minimiza.

En el caso de gelatinización en caliente se procedió en idéntica forma pero manteniendo las suspensiones a la temperatura de gelatinización. Luego se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

Aplicación del recubrimiento y almacenamiento de las muestras

La aplicación del recubrimiento se realizó por inmersión de las muestras de rodajas y cubos en los respectivos tratamientos durante 1 minuto. Transcurrido ese tiempo, las muestras fueron colocadas sobre una superficie enrejada con el fin de provocar drenaje del exceso de la solución formadora del recubrimiento y secadas hasta peso constante con aire con convección forzada a temperatura ambiente. El tiempo de secado osciló entre 2 y 4 horas dependiendo de la concentración de almidón en la solución.

Una vez secas, las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno de baja densidad y almacenadas en cámara de refrigeración a 4°C, durante 14 días.

Rodajas y cubos control se trataron en forma similar sumergiéndolas en agua destilada. Una segunda muestra

control fue además directamente envasada y almacenada sin el secado previo. Todas las muestras se trataron por duplicado.

Las muestras fueron pesadas y fotografiadas antes y después de la aplicación de los tratamientos, a fin de registrar la pérdida de peso y las características organolépticas (color, firmeza, aroma y brillo), cuyo análisis se llevó a cabo cada 48 hs.

Pérdida de peso

Todas las muestras fueron pesadas en balanza analítica con precisión de ± 0,05 mg, antes y después del tratamiento y durante cada día de análisis, para determinar la pérdida de líquido durante el tiempo de almacenamiento, expresando su resultado en gramos.

Espesor y uniformidad del recubrimiento

Se realizó mediante la técnica de tinción con solución de yodo. Una solución de yodo-diyodo disuelto en una solución acuosa de yoduro de potasio reacciona con almidón produciendo un color púrpura profundo. Para ello se preparó una solución con 12 gramos de yodo metálico y 24 gramos de yoduro de potasio llevando a 1 litro con agua destilada. La solución se dejó en reposo durante 24 horas antes de su empleo para lograr una correcta disolución de yodo metálico.

Para visualizar la uniformidad y espesor del recubrimiento, la solución de yodo fue colocada en una bandeja. Las muestras de

zanahorias y papas fueron sumergidas en la solución durante 1 minuto y colocadas sobre papel, dejándolas reposar entre 5 y 10 minutos a fin de completar la reacción. Finalizado ese período, se realizó la observación de la tinción azul oscura, producto de la reacción entre el yodo y el almidón.

Aspecto visual

Se analizaron: aspecto de las rodajas y cubos respecto de la muestra fresca, color, olor típico, firmeza ante el corte con cuchilla y brillo. Para esto, se tomaron fotos de las muestras con y sin recubrimiento, inmediatamente después de su aplicación y durante el almacenamiento a 4°C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Figura 1** se muestran los resultados de la pérdida de peso de las muestras de zanahoria en función del tiempo de almacenamiento con los distintos recubrimientos obtenidos por GF (Figura 1a) y GC (Figura 1b). También se presentan para cada caso, la pérdida de peso de las muestras frescas con y sin secado con aire a Tamb. Se puede observar que las muestras sin recubrimiento directamente envasadas mantuvieron su peso casi constante. Por su parte, en las muestras sin recubrir sometidas al mismo proceso de secado que las muestras con recubrimiento registraron una pérdida de peso importante por efecto de la exposición al aire, que continuo hasta el tercer día de almacenamiento para luego mantenerse constante hasta el final del almacenamiento. Las muestras con recubrimiento GF mostraron al finalizar el secado una pérdida de peso considerable, casi del mismo orden que el de las muestras sin

recubrir. También, continuaron perdiendo peso hasta el tercer día del almacenamiento pero en menor medida que las muestras sin recubrimiento. A partir de ese mismo, el peso se mantuvo constante hasta el final. Todas las muestras con recubrimiento GC, presentaron una pérdida de peso mucho menor. Esto evidencia una mejor eficiencia en la disminución en la permeabilidad al vapor de agua de estos recubrimientos, en comparación con los GF. En el caso de las muestras de zanahorias GC 4 % y 5% sufrieron una pérdida de peso debida al tratamiento observada al finalizar el secado, sin embargo el peso registrado al final del almacenamiento no varió significativamente. En, GC 6% se mostró un porcentaje de pérdida por el tratamiento que fue superior en comparación con el resto de los tratamientos, y que resultó similar a la pérdida registrada en la muestra sin recubrimiento secada. Resultados similares fueron encontrados por Achipiz-Castilloy col. (2013) en frutos de quayaba con recubrimientos GC. Ellos observaron que la pérdida de peso era inversamente proporcional a la concentración del almidón empleada. Sin embargo, esta diferencia no se registró en las muestras de papa, en las cuales no se observaron diferencias significativas de pérdida de peso respecto las tres concentraciones estudiadas como puede comprobarse en la **Figura 2b**.

La **Figura 2** muestra que la perdida de agua de los cubos de papa con recubrimientos GF son similares a la de las papas sin recubrimiento secadas a Tamb, mientras que papas con recubrimientos GC presentan menor perdida de agua tanto después de aplicar el recubrimiento como durante el almacenamiento.

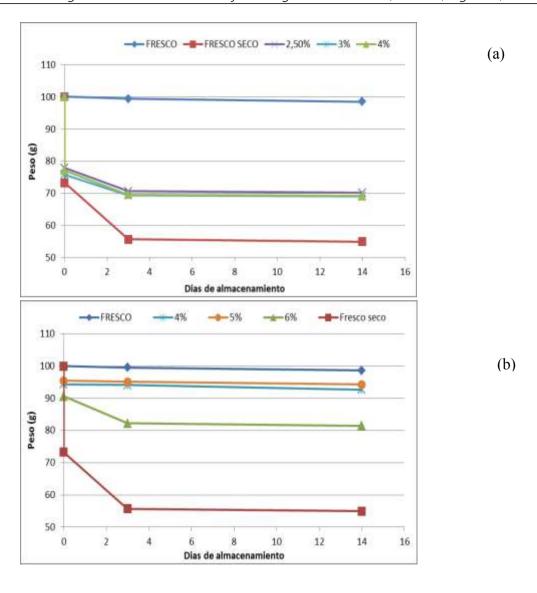


Figura 1. Pérdida de peso durante almacenamiento de rodajas de zanahoria sin recubrimiento (con y sin secado a Tamb) y con recubrimiento a base de: (a) almidón GF y (b) almidón GC.

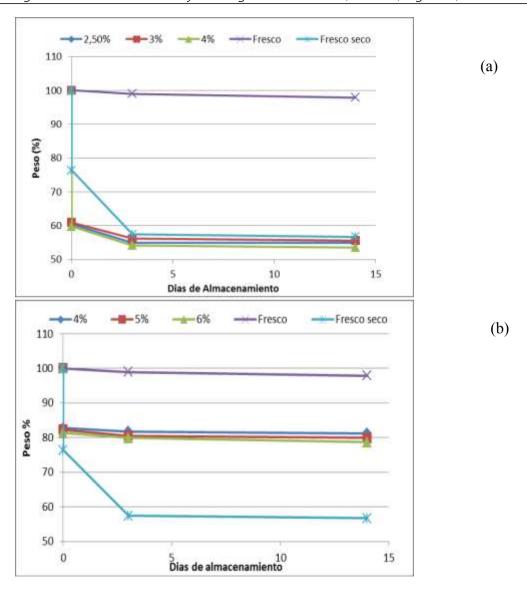


Figura 2. Pérdida de peso durante almacenamiento de rodajas de papa sin recubrimiento (con y sin secado a Tamb) y con recubrimiento a base de: **(a)** almidón GF y **(b)** almidón GC.

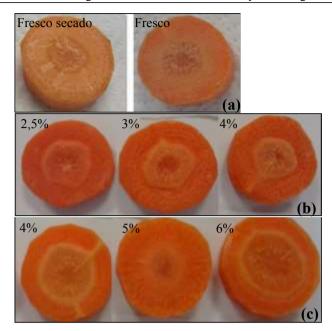


Figura 4. Fotografías de las rodajas de zanahorias obtenidas a los 14 días de almacenamiento de muestras (a) sin recubrimiento sin secar y secadas a Tamb, (b) con recubrimiento GF a 2,5, 4 y 5% de almidón, (c) con recubrimiento GC a 4, 5 y 6% de almidón.

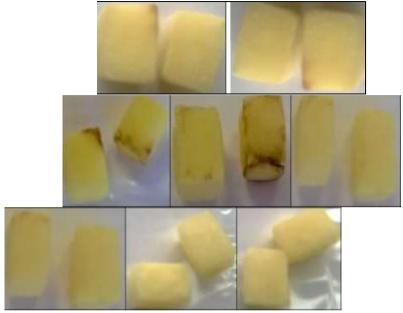


Figura 5. Fotografías de cubos de papa obtenidos a los 14 días de almacenamiento de muestras (a) sin recubrimiento sin secar y secadas a Tamb, (b) con recubrimiento GF a 2,5, 4 y 5% de almidón, (c) con recubrimiento GC a 4, 5 y 6% de almidón.

La **Figuras 4 y 5** muestran las fotos de rodajas de zanahorias y cubos de papa, respectivamente, al final del almacenamiento con los recubrimientos GF y GC con diferentes concentraciones de almidón, junto con los controles sin recubrimiento (con y sin secado a Tamb). A partir de estas imágenes se puede destacar que, con respecto al producto fresco, las muestras de zanahoria sin recubrimiento mostraron un aspecto reseco y lignificado. También a partir de la inspección general, se notó la ausencia del aroma característico de la misma. Del mismo modo, los cubos de papa presentaron una superficie reseca con zonas oscuras (predominantemente bordes). Esto último evidencia el pardeamiento enzimático que se fue acentuando con los días de almacenamiento...

Por su parte, todas las muestras con recubrimiento GF, tanto en papa como en zanahoria, presentaron un aspecto cocido. Las zanahorias mostraron en la superficie exudado de líquido y brillo excesivo, con color naranja fuerte típico de un producto sometido a cocción o escaldado en agua (Vasco y Agnelli, 2013). Las muestras de papa, en cambio, sobre todo en las concentraciones de 2,5 y 3%, presentaron zonas oscuras por el pardeamiento enzimático evidenciando un recubrimiento deficiente. La firmeza disminuyó notablemente, mostrándose al final del almacenamiento con consistencia blanda y arenosa. Esto último puede relacionarse con las elevadas pérdidas de peso registradas. Por su parte, todas las muestras de ambas hortalizas con recubrimiento GC (excepto GC 6%), presentaron un aspecto similar al fresco, exhibiendo un color, aroma y firmeza típicos de los vegetales frescos durante los días de almacenamiento. Las muestras con recubrimiento GC 6% presentaron disminución en la firmeza y un color más acentuado e intenso que el típico, resultando más brillosa que los productos frescos. Por otro lado, este recubrimiento fue el que más demoro en secar, alrededor de 4 horas, haciendo más lenta y en consecuencia menos eficiente esta técnica de preservación. Estos resultados concuerdan con lo expuesto por Pauly, (1989) quien afirma que la microestructura de la matriz también puede ser afectada la velocidad de secado.



Figura 6: Muestras de zanahorias con recubrimientos (a) GF y (b) GC, con distintas concentraciones de almidón, en el día de almacenamiento 7 (mitad de almacenamiento).

En la **Figura 6**, se muestran las muestras de zanahorias después de ser sometidas a tinción por iodo. Esta técnica, permite ver el espesor y uniformidad de los recubrimientos GF y GC con distintas concentraciones.

El test del I2 evidenció que todas las muestras tratadas por el método de GF, excepto GF 4%, mostraron un recubrimiento no uniforme, con menor tinción en el centro de la rodaja, lo que evidencia una distribución no uniforme del recubrimiento en toda la muestra. El color de la reacción observado fue intenso y similar en todas las muestras, lo que demuestra que las diferentes concentraciones de almidón utilizadas no influyeron en la reacción.

En cuanto al espesor, no se observaron diferencias del mismo en todas las muestras analizadas, al menos macroscópicamente.

Por su parte, en los recubrimientos GC, se observó el mismo efecto de heterogeneidad del recubrimiento en GC 4%, con una tinción no uniforme y este efecto fue más marcado que en el caso de las muestras GF. En GC 6%, se observó este mismo efecto, pero mucho menos acentuado, presentando una tinción oscura, producto tal vez de la elevada concentración de almidón, pero poco uniforme. A su vez, GC 4% mostró una tinción muy pálida respecto del resto de las muestras, evidenciando que en este tipo de tratamiento por calor la concentración de almidón sí parece modificar el recubrimiento.

A diferencia de lo antes expuesto, las muestras GC 5% presentaron un recubrimiento uniforme, evidenciado por la tinción pareja e intensa de toda la rodaja. Esto último se relaciona con los buenos resultados visuales observados en estas muestras (Fig. 4b). Estos resultados coinciden con lo expuesto por Erbil y Muftugil, (1986), quienes establecen que

la permeabilidad del film hidrofílico puede estar afectado, entre otros factores, por morfología de la matriz polimérica: espesor y homogeneidad.

Este test debió descartarse para las muestras de papa debido a que almidón presente en su matriz no permite hacer ninguna diferenciación.

CONCLUSIONES

Las zanahorias y papas peladas y cortadas constituyen un producto interesante debido a su aporte en compuestos antioxidantes y nutrientes y si bien su consumo es recomendable, su estabilidad sensorial, sin embargo es limitada. En este trabajo se demostró que las dos técnicas de gelatinización estudiadas no son igualmente efectivas como recubrimiento comestible protector. El recubrimiento de almidón por gelatinización en caliente resultó ser más efectivo que en frío, presentando mejor aspecto visual, mayor uniformidad de recubrimiento y menor pérdida de peso durante el almacenamiento. De todos los recubrimientos realizados con la técnica en caliente, aquel de concentración intermedia de almidón evaluado (5%), resultó ser más uniforme, manteniendo las muestras con mejor aspecto visual y menor pérdida de peso durante el almacenamiento, por lo que, si bien no si ha realizado un estudio específico, se podría inferir, que estos recubrimientos actuaron eficazmente como barrera para gases y vapor de aqua por creación de una atmósfera interna en el producto que retrasó su deshidratación y senescencia.

Sin embargo este trabajo debería complementarse analizando otras técnicas posibles de evaluación de los parámetros, como análisis de microestructura y/o de evolución de los parámetros nutritivos, acompañado un estudio microbiológico para asegurar su vialidad.

BIBLIOGRAFIA

Achipiz S.M., Castillo A.E., Mosquera S.A., Hoyos J.L., Navia D.P. 2013. Efecto de recubrimiento a base de Almidón sobre la maduración de la guayaba (psidium guajava). Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial. Edición especial N° 2, 92-100.

Ahvenainen, R., 1996. New approaches in improving shelf life of minimally processed fruits and vegetables. Trends Food Science Technol. 7: 179-187.

Bolin, H.R., Huxsoll, C.C., 1991. Control of minimally processed carrot (Daucus carota) surface discoloration caused by abrasion peeling. J. Food Sci. 56 (2), 416.

Bourlieu, C., Guillard, V., Vallès-Pamiès, B., Guilbert, S., & Gontard, N., 2009. Edible moisture barriers: how to assess of their potential and limits in food products shelf-life extension? Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 49, 474-499.

Colla, E., Sobral, P. J. A., & Menegalli, F. C. (2006). Amaranthus cruentus flour edible films: influence of stearic acid addition, plasticizer concentration, and emulsion stirring speed on water vapor permeability and mechanical properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 6645-6653.

Chiumarelli, M., Pereira, L. M. R., Ferrari, C. C., Sarantópoulos, C. I. G. L., & Hubinger, M. D. (2010). Cassava starch coating and citric acid to preserve quality parameters of fresh-cut "Tommy Atkins" mango. Journal of Food Science, 75, E297-E304.

Fakhouri, F. M., Fontes, L. C. B., Gonçalves, P. V. M., Milanez, C. R., Stell, C. J., & Collares-Queiroz, F. P., 2007. Films and edible coatings based on native starches and gelatin in the conservation and sensory acceptance of Crimson grapes. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 27, 368-375.

García, L. C., Pereira, L. M. R., Sarantópoulos, C. I. G. L., & Hubinger, M. D. (2010). Selection of an edible starch coating

for minimally processed strawberry. Food Bioprocess and Technology, 3, 834-842.

Garcia, M. A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (2000). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. Journal of Food Science, 65, 941-947.

Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., & Entezami, A. A., 2011. Improving the barrier and mechanical properties of corn starch-based edible films: effect of citric acid and carboxymethyl cellulose. Industrial Crops and Products, 33, 229-235.

Han, J. H., & Gennadios, A., 2005. Edible films and coatings: a review. In J. H. Han (Ed.), Innovations in food packaging (pp. 239-262). Amsterdam: Elsevier Science & Technology Books. Karbowiak, T., Debeaufort, F., & Voilley, A., 2007. Influence of thermal process on structure and functional properties of emulsion-based edible films. Food Hydrocolloids, 21, 879-888. Krochta, J. M., & Sothornvit, R. (2001). Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films. Journal of Food Engineering, 50, 149–155.

Lafuente, M. T., Cantwell, M., Yang, S. F., & Rubatzky, V.,1989. Isocoumarin content of carrots as influenced by ethylene concentration, storage temperature and stress conditions. Acta Horticulturae (ISHS), 258, 523–534.

Liu, Z. 2005. Edible films and coatings from starches. In J. H. Han (Ed.), Innovations in food packaging (pp. 318e337). Amsterdam: Elsevier Science & Technology Books.

Mali, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E., 2002. Microstructural characterization of yam starch films. Carbohydrate Polymers, 50, 379–386.

Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R. C., & Baldwin, E. A. (2005). Conservación mediante recubrimientos comestibles. In G. A. González-Aguilar, A. A. Gardea, & F. Cuamea-Navarro

(Eds.), Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados (pp. 77-94). Sonora: CIAD, A.C.

Pauly, S., 1989. Permeability and diffusion data. In J. Brandrup, & E. H. Immergut (Eds.), Polymer handbook, Vol. VI (pp. 435–449). New York: Wiley.

Rhim, J. W., & Shellhammer, T. H.,2005. Lipid-based edible films and coatings, in J. H. Han (Ed.), Innovations in food packaging (pp. 362-483). Amsterdam:, Elsevier Science & Technology Books.

Vasco F., Agnelli M., 2013. Evaluación de la calidad de zanahorias escaldadas mediante microondas aplicando distintos tiempos y potencias, CD XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL), Trabajo ID 538.

Vargas, M., Pastor, C., Chiralt, A., McClements, D. J., & González-Martínez, C. (2008). Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 48, 496-511.

Zahedi, Y., Ghanbarzadeh, B., & Sedaghat, N. (2010). Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. Journal of Food Engineering, 100, 102-108.

MATERIALES ECO-COMPATIBLES DE ALMIDÓN DE MANDIOCA REFORZADOS CON RELLENOS FIBROSOS

Versino Florencia¹, García M. Alejandra¹

¹ CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos) UNLP-CONICET e-mail: florencia.versino@yahoo.com.ar

Resumen

Con el fin de desarrollar un material biodegradable y ecocompatible, se obtuvieron películas por moldeo de suspensiones acuosas de almidón de mandioca (Manihot esculenta) al 3% p/p, gelatinizadas térmicamente, plastificadas y secadas en estufa. Como material de refuerzo se empleó el residuo fibroso remanente del proceso de extracción de almidón de mandioca (bagazo), en concentraciones de 0 a 3% p/p de suspensión. Se evaluó la composición química del material utilizado como refuerzo así como las características fisicoquímicas de las películas obtenidas. El agregado de fibra produjo películas coloreadas y más opacas. En general, el plastificante permite el desarrollo de matrices más flexibles, mientras que la fibra refuerza la matriz. Asimismo, se estudió el efecto de la exposición de los mismos a ciclos de luz UVvisible durante 60 días en condiciones de humedad y temperatura controlada. Se observó que tanto las propiedades ópticas como la capacidad de barrera al UV de las películas se mantuvieron constantes durante el almacenamiento, mientras que la solubilidad de las películas aumentó. Sin embargo, los materiales evidenciaron signos de envejecimiento. En conclusión, es posible desarrollar materiales eco-compatibles

de almidón de mandioca reforzados con bagazo para fines de usos agronómicos de corto plazo.

Palabras Clave: almidón de mandioca, residuo, materiales biodegradables, propiedades mecánicas y de barrera.

Abstract

In order to develop a biodegradable material and ecocompatible, cast films of aqueous suspensions of cassava starch (Manihot esculenta) 3%w/w were obtained by thermal gelatinization, plasticization and drying. The remaining fibrous residue derived from the extraction process of cassava starch (bagasse) was used as reinforcing-material in concentrations of 0-1.5%w/w suspension. Moreover, the chemical composition of the material used for reinforcement and the physicochemical characteristics of the obtained films were evaluated. The addition of bagasse produced more opaque films with a slightly brownish color. In general, the use of plasticizer lead to more flexible matrices, while fiber reinforced matrices. Furthermore, the effect of 60-days-long UV-visible light exposure-cycles under controlled humidity and temperature conditions was studied. It was observed that both the optical properties such as UV-barrier ability of the films remained invariant after storage, while film solubility increased. Nonetheless, the materials showed signs of storage-aging. In conclusion, it is possible to develop ecocompatible cassava starch materials reinforced with bagasse for short-term agro-industrial purposes.

Keywords: cassava starch, cassava byproducts, biodegradable materials, mechanical and barrier properties.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.) es particularmente intensivo en la provincia de Misiones donde se asientan las industrias almidoneras que procesan de 13.000 a 15.000 toneladas anuales de almidón (INTA, 2012). El procesamiento de las raíces tuberosas genera grandes cantidades de residuos cuya disposición final constituye un problema ambiental. La transformación de subproductos o desechos en materiales con mayor valor agregado, como lo son los residuos fibrosos (bagazo), puede contribuir a disminuir este inconveniente.

Por otra parte, la obtención de materiales biodegradables ha recibido considerable atención en los últimos años. El almidón es considerado una materia prima promisoria debido a su bajo costo y amplia disponibilidad. Desafortunadamente, comparados con los materiales sintéticos, los biodegradables a base de almidón aún presentan ciertas desventajas tales como pobres propiedades mecánicas, deficientes propiedades de barrera y una importante variación de sus propiedades con el tiempo (Averous and Boquillon, 2004; Phattaraporn et al., 2011). Con el propósito de superar estas limitaciones, se ha propuesto el uso de fibras lignocelulósicas como refuerzo en matrices poliméricas como una opción ecológica y económicamente favorable (Shalwan y Yousif, 2013). Comparadas con las fibras sintéticas, las de origen natural presentan ciertas ventajas tales como su disponibilidad, bajo costo, baja densidad, buena resistencia además de ser inocuas, biodegradables y renovables (Kunanopparat et al., 2008). La utilización de las fibras provenientes del residuo remanente de la extracción de almidón como agentes de refuerzo de

películas biodegradables formuladas a base de almidón constituiría una alternativa viable debido a la compatibilidad química entre ambos componentes. Además, este desarrollo permitiría un aprovechamiento integral de la mandioca, ofreciendo una nueva opción de transformación de las mismas.

Las aplicaciones de los biomateriales se concentran en el área de envases y farmacéutica. En el área agronómica, estos materiales podrían utilizarse como cobertura del suelo o "mulching" con el fin de controlar el crecimiento de malezas y mejorar la productividad de los cultivos (Bilck et al., 2010). Generalmente se utilizan materiales sintéticos como el polietileno de baja densidad que no se degradan, por lo que se requiere su posterior recolección y/o reciclado. La utilización de materiales eco-compatibles con este fin permitiría reducir los problemas de contaminación asociados a esta práctica con la consecuente ventaja económica. Además, el estudio de las propiedades de barrera a la radiación solar y su evolución en el tiempo, resultan relevantes en los materiales con fines agronómicos, ya que condicionan su estabilidad y sus propiedades de barrera (Immirzi et al., 2009; Schettini et al., 2007).

Los objetivos del presente trabajo fueron desarrollar materiales biodegradables y eco-compatibles a base de almidón de mandioca reforzadas con las fibras naturales provenientes del bagazo de la extracción de almidón, evaluando sus propiedades mecánicas, ópticas y de barrera. Además, considerando que los materiales desarrollados podrían utilizarse como cobertura del suelo, se estudió el efecto de la exposición de los mismos a ciclos de luz UV-visible (fotoperíodos) durante el almacenamiento.

Materiales y métodos

Se empleó almidón de mandioca extraído mediante un método simple previamente optimizado (López et al., 2010), a partir de raíces tuberosas cultivadas en la Estación Experimental Agropecuaria perteneciente al INTA Montecarlo (Misiones, Argentina). El remanente de la extracción del almidón (bagazo) se secó a 50°C, se procesó y tamizó con un tamiz de malla normalizada (500µm). Asimismo, se prepararon suspensiones acuosas de almidón de mandioca (3%p/p) con agregado de fibra (0, 0,75, 1,5 y 3%p/p) las que se gelatinizaron térmicamente (20min a 90°C) y se plastificaron con glicerol (0,75%p/p). Las mismas se secaron a 50°C y almacenaron a 20°C y 60%HR.La composición guímica del bagazo y su distribución de tamaño de partículas, así como sus efectos sobre las propiedades mecánicas y de barrera de las películas de almidón de mandioca se estudió como se detalla en un trabajo anterior (Versino y García, 2014).

Las películas se almacenaron bajo condiciones controladas de humedad y temperatura (53%HR y 24°C), expuestos a ciclos de luz y oscuridad de 16 y 8hs, respectivamente, con el fin de reproducir las condiciones de exposición normal a la luz solar (fotoperíodo). El efecto del almacenamiento durante 60 días se evaluó mediante medidas de color superficial, realizadas con un colorímetro Minolta (CR 400, Osaka, Japón), midiéndose los parámetros de: luminosidad (L*), chroma (C*), hue (H°) y la diferencia de color (ΔΕ). La opacidad y capacidad de barrera a la luz UV de las películas se determinaron a partir de la integración de los espectros de absorbancia en el espectro UV-visible, obtenidos en un espectrofotómetro U-1900 (HITACHI, Japón), (Castillo et al., 2013). También se evaluó el espesor con un medidor electrónico de espesores Check Line DCN-900 (USA). La solubilidad de los materiales en

agua a temperatura ambiente se determinó como se describe en un trabajo anterior (Rivero et. al, 2010). Igualmente, el comportamiento mecánico de las películas se analizó mediante ensayos de tracción en un analizador dinámico mecánico (DMA Q800, TA Instruments, USA) sobre probetas de 30×6mm, y la curva de esfuerzo-deformación obtenida se modeló matemáticamente para estimar el módulo de elasticidad (E) de las muestras. También por DMA se estudiaron, mediante ensayos modulados de frecuencia, las temperaturas de transición vítrea del material, sobre probetas de las mismas dimensiones realizando barridos de temperatura entre -100 y 100°C. Con el fin de estudiar las variaciones en el grado de cristalinidad de las muestras se realizaron ensayos de difracción de rayos X (DRX) en un difractómetro Philips PW 1390 (Holanda) empleando radiación $K\alpha$ de Cu (λ =1.5418Å), 40kV de voltaje y 20mA de corriente. Para el análisis estadístico de resultados se utilizó el software Systat® (Versión 10.0). Se efectuó el análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias mediante la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel de significación p = 0.05.

Resultados y discusión

El análisis de la composición química del residuo indicó que los carbohidratos constituyen el 82,6% (en base seca) del total, correspondiendo 4,2% de éstos a fibra dietaria total y 1,61% a lignina determinada por la técnica de Klason. Además, el bagazo contiene 10,5% de humedad, 1,25% de proteínas y 0,86% de cenizas, expresados en base seca del bagazo. Respecto a la distribución de tamaño de partículas, se observó que el 56% corresponde a partículas de tamaño menor a

a los valores iniciales.

53µm, atribuidas principalmente a los gránulos de almidón residual, como se evidenció por SEM, correspondiendo el resto a partículas de tamaños comprendidos entre 500 y 53µm.

Las suspensiones filmogénicas estudiadas dieron lugar a películas con un color levemente amarronado, cuya intensidad varió con el contenido de relleno. Las películas conteniendo 3% de fibra resultaron excesivamente coloreadas y heterogéneas, por lo que fueron descartadas para ensayos posteriores.Por otro lado, las películas no reforzadas presentaron una superficie más homogénea y visualmente más translúcida. Dichas características se observan en los elevados valores de luminosidad (L), y los parámetros de color chroma (C*) y tono (h°); en la tabla adjunta a la Figura 1, se muestra una variación significativa (p<0,05) en la diferencia de color (ΔΕ) entre las películas control, sin fibra (0FG) y con 0,75% (0,75FG) y 1,5%p/p de fibra (1,5FG).

Sin embargo, pasados 60 días de almacenamiento bajo fotociclos periódicos, se evidenció un comportamiento opuesto entre las películas control y las muestras reforzadas: las películas sin fibra se tornaron más opacas, con menores valores de L, C* y h°, los cuales contribuyen a una mayor diferencia de color con las películas a tiempo inicial. Por el contrario, las películas 1,5FG se observan decoloradas, lo cual se evidencia por un leve aumento en L (2,20%) y una disminución de C* (-14,33%), y por tanto una importante caída en la diferencia de color Δ E (-35,56%); mientras que el comportamiento de las películas 0,75FG es intermedio (Figura 1).

En relación a la opacidad y capacidad de barrera-UV de los materiales, éstas propiedades se vieron en general incrementadas con el tiempo de almacenamiento, si bien estas variaciones no fueron significativas (p>0,05). Asimismo, las propiedades ópticas aumentan con el contenido de fibra,

resultando la opacidad y la barrera-UV de las películas 1,5FG 700% y 400% mayor, respectivamente, que las propiedades de las muestras sin agregado de bagazo (0FG).

Figura 1: Parámetros de color de las películas de almidón plastificadas con distinta concentración de bagazo: 0% (0FG); 0,75% (0,75FG); y 1,5% (1,5FG) al tiempo inicial. Se presentan las variaciones de dichos parámetros luego de 60 días de almacenamiento (tiempo final) en relación

MUES TRA		0FG	0,	75FG			,5FG
L	93,6	5 ^a	92,56			91,73	С
C*	3,63	3 ^a	5,97 ^t)		8,05°	
hº	89,7	0 ^a	91,25	b		91,59	С
ΔΕ	3,79	9 ^a	6,00 ^t)		8,10°	
L* Variate C* H°	ciones respecto al ti	empo inicial	1		■ 1,5FG ■ 0,75FG ■ 0FG		
-40 -35	-30 -25	-20 -15 -10	0 -5 0	5 1	0 15	20	

Tanto con el agregado de plastificante como de fibra el contenido de humedad de las películas aumentó, debido a la naturaleza hidrofílica de ambos. Luego del almacenamiento controlado, las películas de almidón sin fibra se hidrataron, mostrando una variación en la humedad de la película desde $18.8\pm0.02\%$ a $21.9\pm1.4\%$. Por el contrario, las películas reforzadas se deshidrataron durante el proceso de almacenamiento, siendo este efecto más importante para las películas con mayor concentración de fibra (una disminución de 5,2% para 0,75FG y de 18,3% para 1,5FG). Por otro lado, los aditivos modificaron las propiedades de barrera del material. El agregado de un 0,75%p/p de glicerol disminuyó en un 37% la permeabilidad al vapor de agua de las películas de almidón, mientras que la fibra la aumentó en un 53%. De igual manera, el agregado de fibra aumentó la permeabilidad al oxígeno de las películas de 12,79±1,5cc/(m² día) a 238,95cc/(m² día) para 0FG v1,5FG, respectivamente. El valor de permeabilidad al oxígeno de las películas reforzadas (1,5FG) es mayor que los valores encontrados en la bibliografía para materiales sintéticos como polietileno de baja densidad (LPDE), aunque debe tenerse en cuenta que las condiciones de humedad relativa a la cual se han realizado los experimentos son diferentes (Park et al., 2010). Es bien sabido que la transmisión de permeantes (vapor de agua o gases) a través de un material resulta del equilibrio de tres mecanismos principales: la cristalinidad de la película, la tortuosidad de los canales generados, y la presencia de poros en la superficie o defectos estructurales (Ludueña et al, 2012.). Aunque la presencia de relleno aumenta la tortuosidad de las vías de permeación de las moléculas de agua, la presencia de partículas de relleno de gran tamaño pueden promover la generación de huecos en la interfaz polímero / relleno, así

como defectos de superficie que facilitan el transporte de moléculas de agua a través de estas regiones.

El estudio por difracción de rayos X (DRX) de las muestras control (0FG) y con 1,5% de fibra (1,5FG) muestra que las películas de almidón de mandioca con y sin fibra presentan un grado de cristalinidad que, inicialmente (Ti), no difieren significativamente (p>0,05) entre sí. Sin embargo, luego del almacenamiento (Tf), las películas reforzadas con fibra presentaron un grado de cristalinidad significativamente mayor (p<0,05) que las películas sin fibra, y que en ambos casos, como era de esperarse debido a la retrogradación del almidón en la matriz, la cristalinidad aumentó en forma significativa (p<0,05) respecto al tiempo inicial (Figura 2).

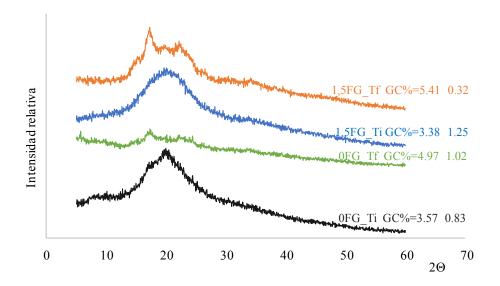


Figura 2: Difractogramas de películas de almidón plastificadas con distintas concentraciones de bagazo: 0% (0FG); 0,75% (0,75FG); y 1,5% (1,5FG); a tiempo inicial (Ti) y final (Tf). Se indica además el grado de cristalinidad (GC) de las películas estudiadas.

Las películas de almidón plastificadas con glicerol exhiben dos transiciones térmicas de segundo orden, una correspondiente a la fase rica en glicerol (Tg_1) y otra correspondiente a la fase rica en almidón (Tg_2). En general, el agregado de fibra sólo modifico la temperatura de transición vítrea de la fase rica en almidón, observándose un aumento de la misma con el contenido del relleno (Figura 3).

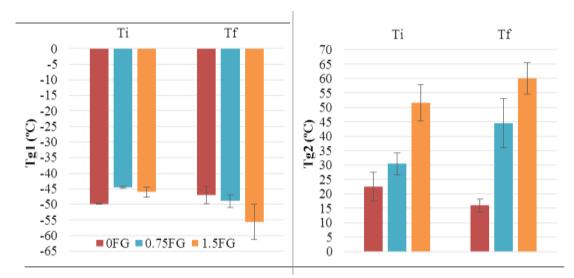
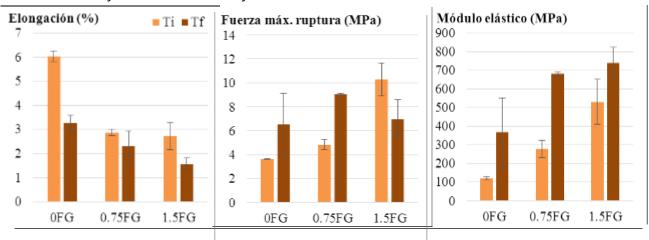


Figura 3: Temperaturas de transición vítrea (Tg_1 y Tg_2) de almidón plastificadas con distintas concentraciones de bagazo: 0% (0FG); 0,75% (0,75FG); y 1,5% (1,5FG); a tiempo inicial (Ti) y final (Tf).

Por lo general, las películas que incluían el bagazo, presentaron una mayor resistencia mecánica que las películas de almidón de mandioca control (0FG) evidenciada por una mayor fuerza máxima a la tracción y módulo elástico, y menor

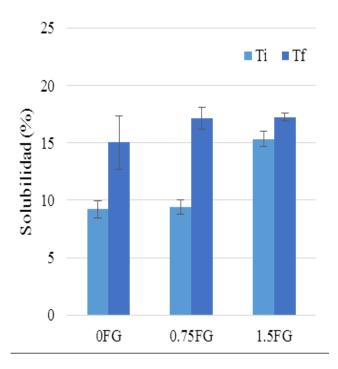
elongación a la ruptura. Este comportamiento se mantuvo en el tiempo luego de 60 días de almacenamiento (Figura 4).

Figura 4: Propiedades mecánicas de películas de almidón plastificadas con distintas concentraciones de bagazo: 0% (0FG); 0,75% (0,75FG); y 1,5% (1,5FG); a tiempo inicial (Ti) y final (Tf).



El material no reforzado, presenta una disminución en la elongación a la ruptura de aproximadamente un 50%, efecto significativamente mayor (p<0,05) que para las películas reforzadas con bagazo. La disminución de la resistencia máxima a la tracción de las películas reforzadas 1,5FG, puede atribuirse a que una vez envejecidas las muestras, el almidón retrogradado tiene una interacción más débil con las partículas de bagazo, dando lugar a zonas de defecto estructural que disminuyen la fuerza del material. En concordancia, el aumento en la cristalinidad observado por difracción de rayos X explica también la fragilidad del material. Dicha disminución en la fuerza de interacción entre las partículas de relleno y la matriz se evidencia en el aumento significativo (p>0,05) de la solubilidad de las películas reforzadas con el tiempo de almacenamiento (Figura 5). Por otro lado, se observó un aumento de aproximadamente de un 63% en la solubilidad de las películas sin fibra, el cual se correlaciona con una evidente fragilización de la matriz de almidón con el tiempo (Figura 3) sumada a la absorción de agua por parte de la película, la cual se mencionó anteriormente.

Figura 5: Solubilidad de películas de almidón plastificadas con distintas concentraciones de bagazo: 0% (0FG); 0,75% (0,75FG); y 1,5% (1,5FG); a tiempo inicial (Ti) y final (Tf).



CONCLUSIONES

A partir de almidón de mandioca y la fibra remanente de su proceso de extracción (bagazo) se pueden obtener películas biodegradables homogéneas por el método de moldeo y deshidratación.

Los ensayos de color de los materiales desarrollados, mostraron que el agregado de fibra disminuye la luminosidad y aumenta el parámetro chroma de las películas. El agregado de glicerol disminuyó en 37% la permeabilidad al vapor de agua de las películas de almidón, mientras que la fibra la aumentó en un 53%. Asimismo, el agregado de fibra aumentó la permeabilidad al oxígeno de las películas debido a la presencia de los defectos estructurales generados por las partículas de relleno de mayor tamaño. En general, el plastificante permite el desarrollo de matrices más flexibles, mientras que la fibra las refuerza, lo que se evidenció por el aumento de la resistencia máxima a la tracción y del módulo elástico así como por la disminución de la elongación. Dicho comportamiento se puede atribuir al contenido de almidón remanente y de fibra del bagazo que permite el desarrollo de una matriz más resistente.

Por otra parte, se observó que tanto las propiedades ópticas como la capacidad de barrera al UV de las películas se mantuvieron durante el almacenamiento. Sin embargo, los materiales evidenciaron signos de envejecimiento, ya que aumentó la solubilidad, rigidez y cristalinidad de los mismos. Las películas sin fibra mostraron un aumento marcado del módulo elástico y la tensión máxima en la ruptura, así como una disminución de la elongación; mientras que el agregado de fibra retrasó este efecto. Las matrices más estables durante

la exposición a ciclos de fotoperíodo fueron las que contenían 1.5% de fibra, ya que presentaron las menores variaciones en las propiedades estudiadas al cabo de 60 días. En conclusión, es posible desarrollar materiales eco-compatibles de almidón de mandioca reforzados con bagazo, los que, dependiendo de una optimización de las condiciones de proceso, podrían ser utilizados en prácticas agronómicas.

BIBLIOGRAFÍA

Averous L, Boquillon N. 2004. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. Carbohydr Polym 56: 111-122.

Bilck AP, Grossmann MVE, Yamashita F. 2010. Biodegradable mulch films for strawberry production. Polymer Testing 29: 471–476.

Castillo L, López O, López C, Zaritzky N, García MA, Barbosa S, Villar M. 2013. Thermoplastic starch films reinforced with talc nanoparticles. Carbohydr Polym 95: 664-674.

Immirzi A, Santagata G, Vox G, Schettini E. 2009. Preparation, characterization and field-testing of a biodegradable sodium alginate based spray mulch. Biosystems Engineering 102: 461-472.

INTA, 2012. Plan de tecnología regional 2009-2012, Centro Regional Misiones. Ediciones INTA.

Kunanopparat T, Menut P, Morel MH, Guilbert S. 2008. Reinforcement of plasticized wheat gluten with natural fibers: From mechanical improvement to deplasticizing effect. Compos Part A: Appl S 39: 777-785.

López OV, Viña SZ, Pachas ANA, Sisterna MN, Rohatsch PH, Mugridge A, Fassola HE, García MA. 2010. Composition and

food properties of Pachyrhizus ahiparoots and starch. Int. J. Food Sci. Tech. 45: 223-233.

Ludueña L, Vázquez A. Alvarez V. 2012. Effect of lignocellulosic filler type and content on the behavior of polycaprolactone based eco-composites for packaging applications. Carbohydr. Polym. 87: 411-421.

Park SI, Marsh KS, Dawson P. 2010. Application of chitosan-incorporated LDPE film to sliced fresh red meats for shelf life extension. Meat Science 85: 493-499.

Phattaraporn T, Waranyou S, Thawien W. 2011. Effect of palm pressed fiber (PPF) surface treatment on the properties of rice starch films. International Food Research Journal 18: 287–301.

Schettini E, Vox G, De Lucia B. 2007. Effects of the radiometric properties of innovative biodegradable mulching materials on snapdragon cultivation. Scientia Horticulturae 112: 456-461.

Shalwan A, Yousif BF. 2013. In State of Art: Mechanical and tribological behaviour of polymeric comopistes based on natural fibres. Mater. Des. 48: 14-24.

Versino F, García MA. 2014. Cassava (Manihot esculenta) starch films reinforced with natural fibrous filler. Ind. Crops Prod. 58: 305-314.

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.

CARACTERIZACIÓN Y AISLAMIENTO DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN QUESOS ARTESANALES DE MISIONES

Villalba A.L.¹, Orguilia L.¹, Dallagnol A.M.^{1,2}, Pucciarelli A.B.¹

1: Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Biotecnología "Dr. Fernando Benassi", Universidad Nacional de Misiones. Posadas, Argentina.

2: Instituto de Materiales de Misiones (IMAM-CONICET). Posadas, Argentina.

villalba.analaura@gmail.com

Resumen: La producción de quesos artesanales en la provincia de Misiones ha incrementado significativamente en los últimos años. Estos quesos se expenden sin ningún tipo de control de calidad microbiológico o sensorial por lo que es frecuente el hallazgo de sabores y texturas desagradables. Entre los principales alterantes de quesos se encuentran las bacterias lácticas (BL) no iniciadoras de la fermentación, mientras que entre los patógenos más frecuentes se encuentra Listeria monocytogenes. Como alternativa para controlar la contaminación de los quesos se pueden utilizar fermentos lácticos capaces de inhibir la micro-flora no deseada. El objetivo de este trabajo fue aislar cepas de BL a partir de quesos artesanales y evaluar sus propiedades fermentativas y antimicrobianas. Se aislaron 144 cepas de BL a partir de quesos producidos en distintas localidades de la provincia encontrándose un alto porcentaje de cocos (70 %), seguido de coco-bacilos (20%) y escasos bacilos (10 %). En relación a la actividad fermentativa se observó que el 80 % de las cepas eran homo-lácticas siendo más del 60 % capaz de coagular la

leche y producir una acidez mayor a 4,1 g/L. Los hallazgos de actividad antimicrobiana demostraron que 34, 20 y 9 % de las cepas eran capaces de inhibir *Listeria innocua,Lactobacillus* spp. o ambos,respectivamente. Estos resultados reflejan el potencial de estas cepas para ser usadas como cultivos iniciadores en quesos artesanales.

Palabras clave: Bacterias lácticas, actividad antimicrobiana, quesos artesanales de Misiones.

Abstract: The production of artisan cheeses in Misiones province has been increased significantly in recent years. These cheeses are commercialized without microbiological and sensory control quality, so it is a common finding of unpleasant flavors and textures. The main spoilage of cheese are non-starter lactic acid bacteria whereas *Listeria monocytogenes* is one of the most common pathogens. As alternatives to control pollution of the cheese, it may be used robust starter lactic acid bacteria able to control undesired micro-flora. The aim of this work was to isolate LAB strains from artisan cheeses and evaluate their fermentative and antimicrobial properties. We isolate 144 LAB strains from cheeses produced in different regions of the province and found a high percentage of cocci (70%), followed by cocobacilli (20%), having few bacilli (10%). Findings about fermentative activity showed that 80% of the strains were homo-lactic and more than 60% were able to coagulate milk and produce a titratable acidity higher than 4.1 g/L. Antimicrobial activity showed that 34, 20 and 9 % of the strains were able to inhibit *Listeria innocua, Lactobacillus* spp. or both, respectively. These results show the potential of these strains to be used as starter cultures in cheeses.

Key words: Lactic acid bacteria, antimicrobial activity, artisan cheese from Misiones.

INTRODUCCIÓN

La venta de quesos artesanales en la provincia de Misiones se vio incrementada en los últimos años debido a la mayor producción por parte de pequeños productores que comercializan este alimento en ferias francas regionales. En general, los quesos se expenden sin ningún tipo de control de calidad microbiológico o sensorial por lo que es frecuente el hallazgo de aromas, sabores y/o texturas desagradables.

Las modificaciones organolépticas que se pueden encontrar en los quesos artesanales se deben al desarrollo de microorganismos alterantes como ciertas bacterias lácticas (BL) no-iniciadoras de la fermentación (non-starter lactic acid bacteria - NSLAB) que se desarrollan espontáneamente en los quesos, ya sea en aquellos obtenidos en ambientes industriales con leche pasteurizada, como en los productos artesanales preparados con leche cruda. Esta microbiota se fundamentalmente BLmesófilos compone de heterofermentadores, como Lactobacillus (L.) casei, L. paracasei, L. plantarum, entre otros; aunque también pueden estar presentes BL homofermentadores como *Pediococcus* y Leuconostoc (Perry y Mcgillivray, 1964; Rapposch y col., 1999). Sin embargo, muchas veces estas bacterias pueden tener un rol positivo en la generación de sabor y aroma, por lo que se podrían considerar como contaminación deseable (Crow y col. 2002). Otros microorganismos alterantes que pueden estar presentes en los quesos son *Pseudomonas, Alcalígenes* y Flavobacteruim. El crecimiento de estos microorganismos en el queso puede causar olores y sabores amargos como así también defectos en el color (Deeb y Ahmed, 2010). Los quesos también pueden contener microorganismos patógenos como S. aureus, E. coli, Salmonella, Listeria monocytogenes, entre otros, que no alteran sus características

sensoriales, pero son capaces de transmitir enfermedades (ETA) o intoxicaciones debido a sus toxinas.

El método más utilizado para el control de microorganismos en quesería es la pasteurización de la leche; aunque este método por sí solo no garantiza un producto libre de patógenos. Por ello se debe poner especial atención en la higiene durante la elaboración promoviendo las Buenas Prácticas de Manufactura. Por otro lado, se puede promover también, el uso de BL pre-seleccionadas iniciadoras de la fermentación (*starter*), las que constituyen el verdadero caballo de batalla de la industria quesera, siendo utilizadas en numerosos tipos de quesos como Cheddar, Gouda, Mozzarella, Cottage, etc.

Los fermentos lácticos son preparaciones que contienen bacterias lácticas vivas (una o más especies) pre-seleccionadas por específicas propiedades tecnológicas, que son aplicadas a los alimentos con el objeto de hacer uso de su metabolismo. Las BL incluyen un grupo diverso de géneros bacterianos Gram positivas/ catalasa negativas que producen ácido láctico como principal producto final de la fermentación de azúcares. El papel de estos microorganismos es fundamental en la transformación de numerosos derivados lácteos, ya que modifican la estructura, sabor y aroma, siendo asimismo capaces de inhibir microorganismos nocivos para la salud y actuar como probióticos, incrementando la calidad nutricional de los alimentos (Hutkins, 2006).

El uso de cultivos iniciadores en quesos permite obtener productos más homogéneos, con características organolépticas mejoradas y mayor calidad higiénico-sanitaria. Estas propiedades se deben a la capacidad de las bacterias lácticas (BAL) para degradar las proteínas de la leche liberando precursores de aroma y producir compuestos antimicrobianos. Actualmente, el estudio de la actividad antimicrobiana de las

BAL ha despertado un gran interés en la industria de alimentos, ya que se pueden desarrollar cultivos iniciadores que permitan el control y/o eliminación de poblaciones bacterianas indeseables, alterantes e incluso patógenas.

Entre los géneros de BAL más estudiadas se encuentran Lactococcus y Lactobacillus utilizados como cultivos iniciadores debido a sus propiedades tecnológicas (capacidad fermentativa, proteolítica y antimicrobiana). Actualmente, las investigaciones se enfocan en aislar nuevas cepas con el fin de explorar sus potencialidades como fermentos iniciadores, capaces de producir cambios químicos, bioquímicos y sensoriales durante la maduración de los guesos. El objetivo de este trabajo fue aislar cepas de BAL a partir de quesos artesanales regionales y estudiar sus propiedades fermentativa v tecnológicas, incluvendo actividad antimicrobiana, con el objeto de utilizarlas como cultivo iniciador en este tipo de productos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de BAL

Las cepas de BAL fueron aisladas a partir de muestras de quesos artesanales elaborados por productores de la Provincia de Misiones de las localidades de Posadas, Eldorado, Aurora y Oberá. Se pesaron 25 g de queso y se homogeneizaron con 225 mL de agua peptona, luego se realizaron diluciones decimales seriadas hasta 10⁻⁶. Las diluciones (10⁻⁴, 10⁻⁵ y 10⁻⁶) fueron sembradas en placas de agar Man, Rogosa, Sharpe (MRS) por la técnica de siembra en superficie (0,1 mL) e incubadas durante 24-48 h a distintas temperaturas: 28°C, 37°C y 45°C. Colonias características compatibles con BAL fueron repicadas con ansa aguja y transferidas a caldo MRS e incubada durante 24 h a la temperatura correspondiente para cada aislamiento.

Caracterización de las cepas de BL

Para corroborar que las cepas aisladas eran compatibles con BAL se tomó una ansada de cada cepa y se realizó:

- Tinción de Gram para observar las características morfológicas y reacción a la tinción de.
- Test de catalasa colocando una gota de peróxido de hidrógeno sobre cada cepa y evaluando la aparición de efervescencia que refleja un resultado positivo.

Conservación y activación de cepas

Las cepas que presentaban coloración Gram positivas y reacción Catalasa negativa fueron repicadas en caldo MRS fresco para su conservación. Cultivos de 24 h fueron centrifugadas a 6000 rpm durante 15 min para separar las células del sobrenadante. Las BAL cosechadas fueron resuspendidas en leche descremada con glicerol al 20 %. Cada cepa fue conservada por duplicado en tubos Eppendorf a – 20 °C.

Para activar las cepas, $20~\mu L$ de los viales conservados a - 20° C, fueron transferidos a caldo MRS e incubados a la temperatura correspondiente durante 24 h. Luego se realizaron 2 repiques sucesivos para obtener cepas metabólicamente activas.

Actividad fermentativa en caldo MRS

Las cepas activas fueron transferidas a tubos con caldo MRS conteniendo campanitas de Durham. Luego del repique se colocó vaselina estéril en cada tubo para lograr un medio anaerobio y favorecer que los gases producidos por las BAL sean retenidos en las campanitas. Los tubos fueron incubados a la temperatura correspondiente durante 24 h. Los cepas

fueron clasificadas como heterofermentativas (gas +) u homofermentativas (gas -) de acuerdo a la presencia o ausencia de gas en las campanitas.

Prueba de coagulación y acidez titulable en leche

Las cepas activas (30 uL) fueron transferidas a tubos que contenían 3 mL de leche descremada estéril. Se incubaron a la temperatura correspondiente durante 48 h. Al cabo de este tiempo se evaluó la coagulación de la leche.

Para evaluar acidez titulable, los tubos con la prueba de coagulación de la leche fueron vaciados en Erlenmeyers a los cuales se adicionó 18 mL de agua destilada y 2 gotas de fenolftaleína. La mezcla fue homogeneizada y titulada con NaOH 0,1 N, hasta el viraje de color rosa. Los mL de NaOH gastados se utilizaron para el cálculo correspondiente de acidez titulable:

Acidez (ácido láctico) $g/L = (V \times N \times 90) / M$, donde:

V = Volumen de solución de hidróxido de sodio 0.1 N gastado en la titulación de la muestra, en mL.

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

M = Volumen de la muestra, en mL.

90 = Equivalente del ácido láctico.

Determinación de actividad inhibitoria

Para determinar la actividad antimicrobiana de las cepas aisladas, se utilizaron 2 microorganismos sencibles blanco de acción: *Listeria innocua y Lactobacillus* spp. Estas cepas fueron conservadas en freezer a -20°C en caldo TSB-YE y MRS, respectivamente, con glicerol al 20%. Para su utilización las cepas fueron activadas por tres repiques sucesivos en los

medios correspondientes, TSB-YE y MRS, e incubadas a 30°C durante 24 h.

Para el ensayo de actividad antimicrobiana, las cepas sensibles fueron inoculadas (0,01 %) en tubos conteniendo 10 mL de agar blando (0,7%), TSB-YE + 0,5% de glucosa para *Listeria innocua* y MRS para *Lactobacillus plantarum*, previamente fundidos y enfriados a 45°C. El contenido de los tobos fue homogeneizado en vortex y vertido en placas estériles. Para evaluar la actividad de las cepas de BAL, 5 µL de cultivo fueron sembrados en forma de gota (*spot*) en las placas (se realizaron 5 *spots* por placa) que contenían la cepa sensible e incubadas a 30°C (24 h). La aparición de halos transparentes alrededor de los *spots* indica actividad antimicrobiana positiva la cual fue cualitativamente valorada empleando hasta tres signos positivos para las más activas (mayor halo de inhibición), y signo negativo para las inactivas (sin halo de inhibición).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología y actividad fermentativa en MRS

Se aislaron 142 cepas Gram (+)/Catalasa (-) de quesos artesanales provenientes de diferentes localidades de la provincia de Misiones incluyendo Aurora (n=36), Posadas (n=25), Eldorado (n=48) y Oberá (n=33). La mayoría de las cepas eran cocos (101 cepas) seguidos de cocobacilos (31 cepas) y escasos bacilos (10 cepas) (Fig. 1.A). Este resultado se asociaría con la presencia de los géneros *Lactococcus, Lecuconostoc, Enterococcus y/o Streptococcus termophilus* que generalmente conforman la microbiota de los quesos (Crow y col. 2002). El análisis morfológico por región demostró que existen diferencias significativas ya que en los quesos de la localidad de Aurora no se pudo aislar ningún bacilo Gram (+) mientras que en los de Posadas se observó

una alta proporción (6/25). Los quesos de Eldorado presentaban el mayor número de coco-bacilos (20/48). Este análisis morfológico sencillo, es un primer indicio de la variabilidad que existe en la micro-biota de BL aisladas de quesos de distintas regiones.

Respecto a la actividad fermentativa, se observó que el 81 % del total de cepas aisladas eran homo-fermentativas mientras que el porcentaje restante (hetero-fermentativas) produjo gas en las campanitas de Durham (Fig. 1.B). En este caso, la distribución por localidades mostró una tendencia similar. Estos resultados son muy alentadores ya que por regla general las cepas que se utilizan como fermentos lácticos en quesería son homo-fermentativas (Hutkins, 2006).

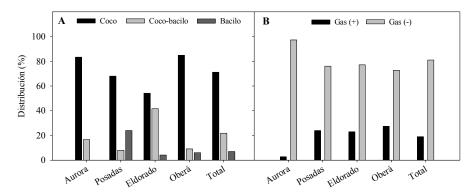


Figura 1. Caracterización de BL aisladas de quesos artesanales de acuerdo a su morfología (A) y actividad fermentativa en caldo MRS.

Actividad fermentativa en leche

Los resultados demostraron que entre las localidades evaluadas la mayoría (64-88 %) de las cepas pudo coagular la leche presentando las muestras de Posadas el porcentaje más

bajo (Fig. 2). Este resultado estuvo relacionado con la capacidad de las cepas para acidificar la leche ya que las cepas provenientes de Posadas poseían el menor valor medio (3,50 g/L). De acuerdo con el test de Tukey, la acidez producida por las cepas provenientes de Eldoardo (5,01 g/L) y Oberá (5,15 g/L) era significativamente (p<0,05) mayor. La capacidad de las cepas para acidificar y coagular la leche es un pre-requisito de la selección de cultivos *starter* e que indica su capacidad para fermentar la lactosa y obtener compuestos nitrogenados a partir de las proteínas de la leche (Kieronczyk y col., 2003; Hutkins, 2006).

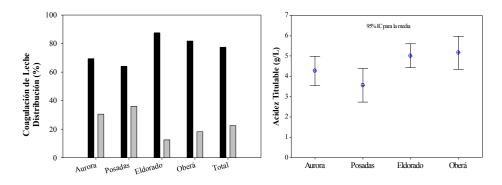


Figura 2. Coagulación y acidificación de leche descremada estéril (30°C, 48 h) por cepas de BL aisladas de quesos artesanales de Misiones.

Actividad antimicrobiana(Fig. 3)

Se observó que la distribución de actividad antimicrobiana según el origen de las cepas fue muy similar entre todas las regiones, habiendo un mayor número de BL activas frente a *Listeria* (35-40 %) que frente a *Lactobacillus* spp. (9-25 %) (Fig.

3 A y B). La excepción, sin embargo, fue Posadas donde se observó que una gran proporción (60 %) de cepas eran activas frente a *Lactobacillus* spp. no así frente a *Listeria* (12 %). Entre todas las cepas con actividad antimicrobiana (76), solamente 13 coincidían en su capacidad para inhibir ambos microorganismos, indicando la presencia de distintos mecanismos de acción. Este hecho no es sorprendente ya que se conoce que las BL son capaces de producir simultáneamente diferentes compuestos antimicrobianos con diferentes espectros de acción (Castellano et al., 2004).

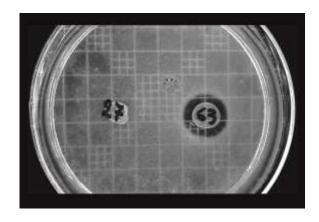


Figura 3. Actividad inhibitoria de BL frente a *Lactobacillus* spp.en agar (0,7%) MRS (30°C, 24 h). Izquierda actividad negativa (-) y derecha actividad positiva (+++).

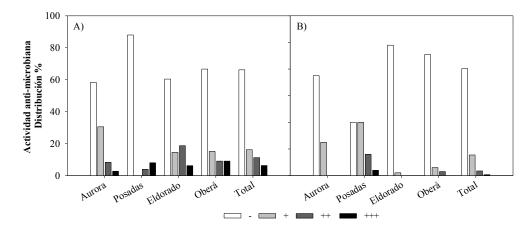


Figura 4. Distribución de actividad anti-microbiana frente a *L. innocua* (A) y *Lactobacillus* spp. (B) por cepas de BL aisladas de quesos artesanales, provenientes de distintas localidades de la Provincia de Misiones.

CONCLUSIÓN

La caracterización realizada demostró que existían diferencias significativas en las propiedades tecnológicas de BL proveniente de quesos elaborados en distintas regiones de la Provincia. Por consiguiente, a los efectos de seleccionar cepas con características diferenciales es fundamental ampliar al máximo el campo de muestreo.

Un total de 26 cepas fueron seleccionadas hasta el momento:

- 16 por su acidez titulable mayor a 7,5 g/L, entre ellas 3 provenientes de Aurora (A67, A81, A86), 9 de Eldorado (E48, E174, E175, E180, E184, E189, E190, E205, E206) y 4 de Oberá (O97, O109, O125, O133);
- 9 cepas por su actividad (+++) anti-listeria, entre ellas 2 de Posadas (*P7, P151*), 1 de Aurora (*A8*), 3 de Eldorado (*E51, E187, E190*) y 3 de Oberá (*O134, O136, O137*).
- 1 cepa por su actividad anti-*Lactobacillus* sp. (+++) proveniente de Posadas (*P63*).

REFERENCIAS

- Deeb AMM y Ahmed HF.2010. Effect of Potassium Sorbate And/or Probiotic Bacteria on Spoilage Bacteria During Cold Storage of Soft Cheese. Global Veterinaria, 4: 483-488.
- Castellano PH, Holzapfel WH, Vignolo GM. 2004. The controb of *Listeria innocua y Lactobacillus sakei* in broth and meat slurry with the bacteriocinogenic strain *Lactobacillus casei* CRL 705. Food Microbiology, 21: 291–298.
- Perry KD, Mcgillivray WA. 1964. The manufacture of normal and starter-free cheddar cheese under controlled bacteriological conditions. Journal Dairy research, 31:155–165.
- Rapposch SF, Eliskases-Lechner, Ginzinger W. 1999. Growth of facultatively heterofermentative lactobacilli on starter cell suspensions. Applied and Environmental Microbiology, 65:5597–5599.
- Crow V, Curry B, Christison M, Hellier K, Holland R, Liu, SQ. 2002. Raw milk flora and NSLAB as adjuncts. Australian Journal of Dairy and Technology, 57:99–105.
- Hutkins RW. 2006.Microbiology and technology of fermented foods. 1st ed. Australia. Blackwell Publishing. pag. 145-195.
- Kieronczyk A, Skeie S, Langsrud T, Yvon M. 2003. Cooperation between *Lactococcus lactis* and Nonstarter Lactobacilli in the Formation of Cheese Aroma from Amino Acids. Applied and Environmental Microbiology, 69: 734–739.

CALIDAD Y ADULTERACIÓN EN MUESTRAS COMERCIALES DE PIMENTÓN

Wierna RV¹, Davies LE¹, Orell RE², ColodroV.¹, Nazareno M³, Bonini NA¹

1: INIQUI –UNSa -Salta, Argentina. 2:EEA INTA – Encalilla – Tucumán – Argentina. 3: CITSE- UNSE - Santiago del Estero, Argentina. bonini@exa.unsa.edu.ar

Resumen: Desde el año 2003 a la fecha se ha efectuando el seguimiento del color, medido en unidades ASTA, y de la presencia de adulterantes en muestras de pimentón (Capsicum annuum L.) comercializadas en establecimientos de Salta Capital. Los análisisrealizados durante este añorevelan que el cuarenta por ciento de ellas están adulteradas con colorantes extraños a las xantófilas naturales del pimiento, provenientes del rocú (Bixa orellana L.) e identificados como bixina y norbixina por HPLC y espectroscopía UV-Vis. Los análisis indican que las muestras sin adulteración presentan valores de color inferiores a los establecidos por el Código Alimentario Argentino (CAA) de acuerdo conladenominación provista en el envase, e incluso por debajo de los autorizados para su comercialización. Por otra parte, con fines comparativos se realizaron determinaciones de color sobre muestras procedentes de cultivares de diferentes variedades de pimiento de distintas localidades y productores de los Valles Calchaquíes. Finalmente se intentaron establecer las causas por las cuales los valores de color de las muestras comerciales están alejados de los exigidos por el CAA, para lo cual se investigaron los efectos de la molienda y de la

temperatura de almacenamiento en la evolución del color con el tiempo.

Palabras claves: Pimentón, *Capsicum annuum L*, adulteración, color.

Abstract: Since 2003 to date our group has been monitoring the colour, expressed in ASTA units, and the presence of adulteration en paprika samples (Capsicum annuum L.) sold in super and mini markets in Salta city. Analysis carried out throughout the year show that forty percent of samples are adulterated with coloring mater from rocú (Bixa orellana L.) which are identified as bixina and norbixina from HPLC and UV-Vis spectroscopy. On the other hand, analyses reveal that samples without adulteration give low color values, well below the limits set by the Código Alimentario Argentino (CAA) and found a disagreement with the information in the packaging. At the same time, it was carried out color analysis on samples obtained directly from farmers of the Valle Calchaguí region with the aim of comparing commercial samples. Finally it was attempted to investigate the impact of grinding, and storing temperature for the low color values in commercial samples.

Keywords: paprika, *Capsicum annuum L,* adulteration, color

INTRODUCCIÓN

El pimiento para pimentón (*Capsicum annuum* L.) es un cultivo de importancia comercial en la región de los Valles Calchaquíes (Lacci F. 2005). Su producción se extiende desde la provincia de La Rioja hasta la de Salta. En la región el secado del pimiento se realiza tradicionalmente al sol ya sea en canchas o tendederos especialmente adaptados al efecto. El sistema de secado afecta, en muchos casos, el color y la sanidad de los frutos, motivo por el cual se está avanzando en la instalación de secaderos solares.

En años recientes, algunos emprendimientos agronómicos han mostrado potencialidad para su producción en regiones más húmedas como las del Valle de Lerma o el Valle de Siancas; sin embargo, en estas regiones, por sus características climáticas, el secado del fruto debe realizarse mediante el empleo de secaderos calefaccionados con gas.

Si bien algunas variedades de pimiento bien diferenciadas fueron introducidas a lo largo del tiempo, hoy existe una gran diversidad de poblaciones derivadas de las mismas que se cultivan en la región, en muchos casos sin una identificación de la semilla. Además, en los últimos años se introdujeron variedades provenientes de semilleros reconocidos. Entre las variedades locales se encuentran variedades redondas y alargadas tales como Redondo de Cachi, Largo de Cachi, Trompa de Elefante, Tacuil o Santa María, entre otras. Entre las variedades comerciales se destacan Papri King, Papri Queen, Jaranda y Mayorca. Recientemente el INTA en el marco del Proyecto Nacional de Aromáticas, en el Campo demostrativo de Encalilla en Amaicha del Valle – Tucumán, obtuvo y desarrolló tres variedades comerciales de *Capsicum*,

perfectamente diferenciadas e inscriptas en INASE: "Lautaro" (INTA–2008), "Yokavil" (INTA-2004) y "Encalilla Alargado" (INTA–2012), con propiedades interesantes para su comercialización. Entre ellas, "Encalilla Alargado" ha demostrado una gran potencialidad por su contenido elevado de xantofilas (color >350 ASTA en cáscara), su excelente sensación visual, y su elevada relación de Xantófilas Rojas a Amarillas (R= Xant. Rojas/Xant. amarillas); manteniendo un buen nivel de carotenoides pro-vitamina A (Wierna Sánchez Iturbe R. 2013).

El Código Alimentario Argentino, (CAA - Cap XVI - 2008), tradicionalmente clasificó al pimentón en tres calidades: **Extra, Selección y Común**, basando esta clasificación en cinco parámetros físico-químicos: humedad, ceniza total, ceniza insoluble, extracto etéreo y fibra bruta. A partir del año 2008 (**Resolución Conjunta SPRel y SAGPyA N° 92/2008 y N° 355/2008**) incorporó el color – ASTA (AOAC International, 2002) como un parámetro más para su clasificación (Tabla 1). Hoy este parámetro se ha convertido en el más restrictivo, hasta el punto en que pimentones de menos de 70 ASTA no deberían ser comercializados.

TABLA 1

Clasificación de pimentón ^(*)							
	Extra	Selección	Común				
Color ¹ (ASTA)	120	90	70				
Humedad ² (%)	12	12	12				
Ceniza total ² (%)	8	8,5	9				
Ceniza insoluble ² (%)	1	1	1				
Extracto etéreo ² (%)	23	26	31				

Fibra Bruta ²	15	18	20
(%)			

1: Valor mínimo, 2: Valor máximo, ^(*)Resolución Conjunta SPRel y SAGPyA N° 92/2008 y N° 355/2008

La comercialización del pimentón tiene tres etapas bien definidas: la del productor agropecuario que lo vende entero a los molinos, la de los molinos que muelen el pimentón con molinos de martillo y piedra y la de los especieros que envasan el pimentón actuando como intermediarios de las grandes cadenas de distribución. Salvo algunas excepciones, la mayor parte del pimiento para pimentón se envasa y comercializa sin un análisis previo.

Mucho se ha discutido acerca de la adulteración del pimentón (Cukier A. 1996). Ésta se realiza de diversas maneras; entre otras por el agregado de "harinas" (maíz, trigo, arroz o soja) que aumentan el volumen; o bien por el agregado de colorantes a fin de mejorar la sensación visual de los mismos. Dentro de estos últimos, lo más extendido es el agregado de semillas de rocú (*Bixa orellana L.*). Este material, si bien es de origen natural, incorpora los carotenoides bixina y nor-bixina (<u>Araújo Vilar</u> D. 2014) extraños al pimentón y permite enmascarar malas condiciones sanitarias y comercializar productos no aptos para el consumo.

En el presente trabajo se evalúa el color ASTA de muestras de pimentón comercializadas en la ciudad de Salta desde el año 2003 hasta la fecha y se investiga la presencia de adulterantes. Los resultados se comparan con el color promedio de lo producido en la región, determinado a partir de frutos provenientes de diferentes productores y de distintas variedades, incluidas las que actualmente está desarrollando el INTA.

MATERIALES Y MÉTODOS Material vegetal

Material Prozono-INTA (cosecha 2007-2008): La recolección de las muestras se realizó siguiendo un muestreo por parcelas de distintas variedades y distintos productores que participaron de este ensayo programado por personal de PROZONO-INTA. La identificación del varietal en cada caso fue previamente realizada por personal de INTA-PROZONO quienes distribuyeron semillas de distintas variedades identificadas a una población de 10 productores (n) distribuidos en la región de los Valles Calchaquíes. Se determinó el color ASTA sobre muestras secas a las que previamente se les separó cáscara y semilla. Esto permitió determinar el color tanto de cáscara como de los frutos enteros. En todos los casos los análisis se realizaron por duplicado.

Material proveniente de Estación Experimental de Encalilla, INTA-Tucumán. Se recolectaron muestras frescas durante el mes de Abril de los años 2011, 2012, 2013 y 2014 de las variedades Largo de Encalilla (LE), Lautaro (L) y Yokavil (Y). Las muestras frescas se secaron en estufa con circulación forzada de aire entre 45 y 50°C. Muestras secas las mismas variedades provenientes de cultivares de La Rioja fueron provistas por personal de INTA- Chilecito.

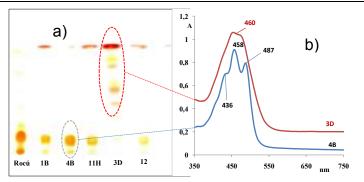


Figura 1: a) cromatografía en placa fina y b) espectros UV-Vis de los extractos acetónicos de muestras comerciales y de rocú (*B. orellana* L.). Las denominaciones corresponden a las muestras que se encuentran en las Tablas 2 y 3.

Muestras comerciales. Las muestras comerciales de diferentes marcas se obtuvieron de diversos establecimientos que expenden el producto en las ciudades de Salta y Jujuy. Las muestras se mantuvieron en las mismas condiciones en las que se encuentran para la venta y el análisis de color se realizó dentro de las 72 hs de recolectadas.

Equipos y reactivos.

Para las determinaciones de color se empleó un espectrofotómetro UV-Vis marca Beckman, modelo DU-520, con rango espectral entre 200 y 900 nm.

Las determinaciones por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) se realizaron en un equipo marca Könik, Modelo KNK-500, provisto de una bomba cuaternaria con programación de gradientes de solventes y de caudales. La detección se realizó a 480 nm.

Todas las drogas empleadas fueron de calidad p.a. y/o de grado cromatográfico y se usaron tal cual fueron adquiridas, sin purificación adicional.

Determinación de color (Técnica ASTA): Se determinó el "color extraíble" (método ASTA 20.1), por medición de la absorbancia a 460 nm de los extractos acetónicos de muestras secas y molidas (< malla 40). Las determinaciones se realizaron por duplicado sobre muestras previamente homogeneizadas. La presencia de adulterantes se determinó por barrido del espectro UV-Vis del extracto acetónico de las muestras, en el rango entre 350 y 700 nm (Figura 1) y posterior cromatografía en placa fina (TLC) sobre cromatoplaca de SiO₂ (MERCK) empleando como solvente de desarrollo una mezcla de hexano:acetona (70:30).

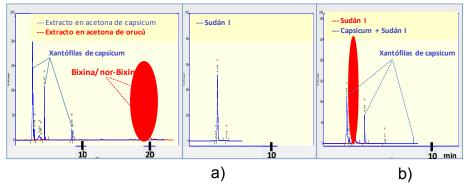


Figura 2: HPLC sobre columna de SiO_2 de extractos acetónicos de: a) muestra de pimentón (azul) y muestra de rocú (rojo), b) muestra de Sudán I y c) pimentón adulterado con Sudán I.

La confirmación de los posibles adulterantes se realizó por HPLC empleando una columna de sílice (Zorbax RX- Sil - 250 mm de longitud, 4,6 mm de diámetro interno y 5 µm de tamaño de partículas). Como eluyente se usó un gradiente de hexano, acetato de etilo y alcohol isopropílico con un caudal de 1 mL/min. En la Figura 2 se presentan los cromatogramas característicos de muestras de pimentón sin adulterar y los

correspondientes a bixina/nor-bixina proveniente del rocú y al colorante sintético Sudán I.

Análisis estadístico: el tratamiento estadístico de los resultados se realizó por análisis de la varianza de los resultados obtenidos y la determinación del valor medio y la dispersión estándar en todos aquellos casos en los cuales la cantidad y el tipo de muestras resulta adecuado.

esultados esultados esultados esultados ispersión 13 B 33,5 Premium 70 11/2013 No (a) Color ASTA determinado por técnica ASTA 20.1 –(b) Color ASTA exigido por el CAA de acuerdo a denominación.- (c) Muestras adulteradas con rocú.- d) Fecha de envasado

Mercado (Salta)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) Determinación de color en muestras comerciales

Desde el año 2003 se determinó el color (ASTA) de muestras comerciales que se expenden en comercios de la ciudad de Salta. En términos generales se ha procurado realizar el seguimiento de las mismas marcas a lo largo del tiempo; incorporando algunas nuevas que aparecen en el mercado.

TABLA 2: Determinación de color en muestras comercializadas durante el año 2013

Marca	Establecimi ento	Color(Denomina ción	CAA (b)	Vencimie nto	Rocú
1	Α	87,6	Extra Dulce	110	03/2015	Si
1	В	87,8	Extra Dulce	110	03/2015	Si
2	В	87	Selecciona do	90	22/07/2014	No
2	В	71	Selecciona do	90	03/06/2014	No
2	С	77,8	Selecciona do	90	30/07/2014	No
3	Α	86,3	Extra	110	3/04/2013 ^(d)	No
4	В	70,9	Dulce	70	04/2015	No
5	В	87,38	Extra Dulce	110	04/2015	No
6	C	89,21	Extra Dulce	110	23/04/2014	No
7	Almacén	98	Extra Dulce	110	s/fecha	Si
8	Almacén 1	288	Extra Dulce	110		Si
9	Mercado (Salta)	54,36		70		No

TABLA 3: Determinación de color en muestras comercializadas durante el año 2014

Marca	Establecimiento	Color ^(a)	Denominación	CAA ^(b)	Vencimient	Rocú ^(c)
					0	
1	В	53,56	Extra Dulce	110	06/2015	Si
1	D	47,19	Extra Dulce	110	07/2016	Si
2	E	74,5	Seleccionado	90	13/08/2015	No
2	В	76,15	Seleccionado	90	23/08/2015	No
2	D	80,69	Seleccionado	90	20/10/2015	No
3	E	98,53	Extra	110	10/07/2015	No
3	D	140,96	Extra	110	16/06/2016 ^(d)	No
4	В	119,61	Pimiento Dulce	70	04/2016	Si
5	В	137,12	Extra Dulce	110	09/06/2015	No
5	C	136,42	Extra Dulce	110	24/07/2015	No
5	D	141,9	Extra Dulce	110	24/07/2015	No
6	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
7	Mercado Salta	43,93	Extra Dulce	110	s/fecha	Si
8	Almacén 2	211,61	Extra Dulce	110	09/2015	Si
11	Mercado (Salta)	61,53		70		Si
12	Mercado (Jujuy)	46,21		70	09/2015	Si
13	В	75,95	Premium	70	04/2016	No

(a) Color ASTA determinado por técnica ASTA 20.1.- (b) Color ASTA exigido por el CAA de acuerdo a su denominación. (c) Muestras adulteradas con Rocú.- (d) Fecha de envasado

En las Tablas 2 y 3 se muestran los resultados obtenidos sobre un total de 31 muestras correspondientes a 10 marcas obtenidas de 7 establecimientos comerciales recolectadas durante los años 2013 y 2014 en la ciudad de Salta. Del total de marcas analizadas, 6 (seis) de ellas (>40%) se encontraron adulteradas con bixina.

La adulteración de estas muestras se corroboró mediante la recolección y análisis de nuevas muestras de la misma marca obtenidas en otros establecimientos comerciales. A pesar de su adulteración sólo dos de las muestras adulteradas presentaron valores de color iguales o superiores a los establecidos por el CAA de acuerdo a su denominación (Tablas 2 y 3). La presencia de bixina proveniente del rocú en muestras de pimentón comercial ha sido informada por nuestro grupo de trabajo desde el año 2003 hasta la fecha (Bonini N. et al. 2005). En términos generales, pudo observarse que algunas empresas tienen como práctica habitual la adulteración sistemática del producto mediante el agregado de este colorante natural.

No se ha observado en ningún caso, desde el año 2003 a la fecha, el agregado de colorantes artificiales tales como Sudán I o anilinas.

De las muestras sin adulterar sólo las correspondientes a una marca (Tabla 3 – Muestras 5B, 5C y 5D), recolectadas en 2014, presentaron valores de color acordes con la denominación de su envase (Pimentón Extra – 120 ASTA mínimo). Algunas muestras presentaron valores de color inferiores a 70 ASTA, por lo que no deberían ser comercializadas.

Todas las muestras envasadas presentaban fechas de vencimiento correspondientes a los años 2014, 2015 y 2016 (Tabla 2 y 3); por lo que permanecerán a la venta por uno o dos años, con la consiguiente degradación del color como se muestra más adelante.

b) Variables que afectan la calidad del pimentón

A fin de entender el motivo de la adulteración y/o el incumplimiento respecto de lo establecido en el CAA se

analizaron diferentes variables que afectan el color del pimentón.

1.- Efecto de las condiciones de cultivo sobre la calidad En la Figura 3 se presentan los resultados obtenidos sobre muestras de una variedad comercial de *Capsicum* ("Papri-Queen"— Petoseed Ltda.) proveniente de distintos cultivares a lo largo de la región de los Valles Calchaquíes. En esta Figura se puede observar que la calidad del fruto varía notablemente entre un productor y otro. Esta variación es debida, no sólo a las características propias del varietal, sino además a las condiciones y manejo del cultivo.

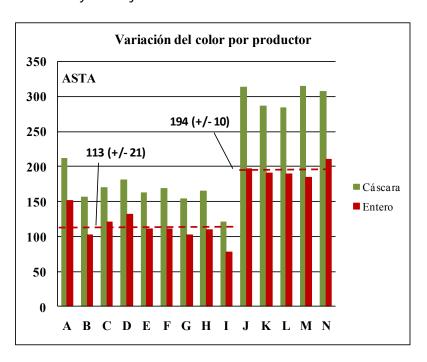


Figura 3: Variación del color en cáscara (verde) y en pimiento entero (rojo) en muestras de pimiento para pimentón de la

variedad "**Papri-Queen**" — (Petoseed Ltda.) provenientes de cultivares en distintas regiones del Valle Calchaquí. **A-I**: pequeños productores sin tecnología ni asesoramiento (Proyecto Prozono — Campaña 2007-2008). **J-N** productores con acceso a tecnología y asesoramiento (Natural Products S.A. Campaña 2008/2009).

Así, pequeños productores (A-I, Figura 3) sin manejo de tecnología, baja disponibilidad de insumos agropecuarios y en muchos casos con problemas de riego, produjeron frutos cuyos valores de color fluctuaron entre 152 ASTA y 80 ASTA. Por otra parte, productores con acceso a asesoramiento y que dispusieron de los insumos y agroquímicos necesarios para llevar adelante el cultivo en buenas condiciones (J-N, Figura 3) obtuvieron frutos con valores de color entre 210 y 180 ASTA. Esta variación de la calidad del fruto entre pequeños y grandes productores fue observada también sobre otras variedades de *Capsicum* (Tabla 4).

	Tabla 4:	Variación d	el color (ASTA)er	າ cáscara y 1	ruto enterc	en muest
Varietal	n	% Cáscara		□²	Color ^(a)		
					cáscara		
Yokavil	10	70,33	±3,41	17,82	137,24	±28,62	1024
Santa María	9	72,64	±1,78	8,03	151,09	±40,97	2446
Redondo	13	64,50	±2,38	9,10	155,55	±32,75	1412
Papri-Queen	14	66,83	±2,59	13,77	213,87	±62,29	4966
Largo de Cac	hi 10	72,20	±1,78	5,28	133,46	±15,04	811
La Consulta	15	70,67	±1,86	4,85	177,93	±31,23	1401
laranda	12	57.70	±4 U3	21 //	276.15	±72.70	7552

n: cantidad de productores sobre los que se realizó la determinación, \Box = desviación estándar promedio, \Box ² = varianza, (a) valor promedio en unidades ASTA

En la Tabla 4 se puede observar que, si bien los valores promedio de color sobre fruto entero son próximos al mínimo

de 120 ASTA requerido por el CAA para la denominación Extra, existe una marcada dispersión, con valores de \square^2 entre 481 para la variedad Largo de Cachi y 2518 para la variedad Jaranda. Esta dispersión de los valoresse observa incluso en muestras de varietales provenientes de semillas certificadas como son los casos de las variedades Papri-Queen (\square^2 = 1924.) y Yokavil (\square^2 = 715).

Estos resultados son atribuidos a las variadas condiciones de cultivo por parte de cada uno de los productores.

2.- Tipo de varietal

En la Tabla 5 se presentan los resultados de la determinación de color en muestras de pimiento para pimentón de las variedades Yokavil (**Y**), Encalilla Alargado (**EA**) y Lautaro (**L**), procedentes de productores de La Rioja y de la EE-Encalilla del INTA, correspondientes a las campañas 2013 y 2014.

Se observa que el contenido de color es marcadamente

dependiente del varietal, con valores que van desde 109 ASTA para la variedad Yokavil hasta 254 ASTA para la variedad stras de Color de Sarrolladas por el mismo varietal en distintas entero GOZ diciones so entero entero recolectadas en la EE INTA-120 Talilla 23, se cadas en estufa a 45-50°C, se alcanzan valores de 254 ASTA, mientas que las muestras correspondientes a los 120 ASTA. Es importante destacar que las muestras de la Rioja fueron secadas a campo por lo que un factor a considerar, que influye en la calidad del fruto son las condiciones de secados (Wierna Sánchez Iturbe 2014).

Tabla 5: Variación del color ASTA en tres variedades de *Capsicum*

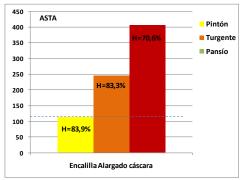
variedades de <i>Capsicum</i>						
		Color en cáscara	Color entero	% de semilla		
Yokavil	La Rioja ^(a)	164	109	33,7		
	EE Encalilla ^(b)	323	224	30,6		
Encalilla	La Rioja ^(a)	314	149	47,5		
Alargado	EE Encalilla ^(b)	472	301	36,3		
Lautaro	La Rioja ^(a)	402	254	36,7		
	EE Encalilla ^(c)	363	247	32,0		

(a) Frutos secos de productores de La Rioja, cosecha 2013. (b) Muestras cosechadas frescas y secadas en estufa (45-50°C) recolectadas en Estación Experimental INTA-Encalilla, cosecha 2013. (c) *Ídem* anterior cosecha 2014.

Las diferencias de color resultan también importantes en la variedad Encalilla Alargado, observándose un valor de 149 ASTA para los pimientos de La Rioja contra 301 ASTA para los procedentes de la Estación Experimental INTA-Encalilla.

Un factor que también influye en el color del pimentón (fruto molido) es su contenido porcentual de semilla. Ésta aporta material que actúa como diluyente del color desarrollado en cáscara. El contenido de semilla en el fruto es notablemente dependiente de las condiciones de cultivo. Los frutos obtenidos de cultivos con buena fertilización y riego desarrollan mayor cantidad porcentual de cáscara que aquellos frutos sometidos a estrés hídrico y/o a pobres condiciones de fertilización.

3.-Variación del color con la madurez del fruto En la Figura 5 se muestra la variación del color con el grado de madurez alcanzado por el fruto al momento de su recolección.



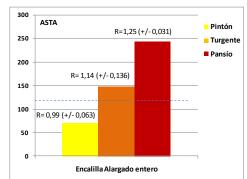


Figura 5: variación del color con el grado de madurez alcanzado en planta para la variedad Encalilla Alargado (cosecha 2014). **H** representa el contenido de humedad del fruto al momento de la cosecha. **R** es la relación de xantofilas rojas a xantófilas amarillas. La clasificación de "pintón" corresponde a frutos totalmente desarrollados con escasa partes verdes, la de "turgente" corresponde a frutos maduros totalmente rojos y la de "pansío" a frutos parcialmente deshidratados en planta.

Por el color y el grado deshidratación alcanzado, es posible clasificar los frutos en la planta en: a) **frutos verdes** en los cuales sólo se han desarrollado los precursores de los carotenoides rojos y amarillos además de una importante concentración de clorofilas y b) **frutos coloreados** entre los cuales podemos diferenciar: frutos en estadio "**pintón**" como frutos totalmente desarrollados con solo algunas partes verdes; frutos "**turgentes**" como frutos totalmente rojos y turgentes; y frutos "**pansíos**" que son aquellos frutos

totalmente rojos y parcialmente deshidratados (H=70-75% aprox).

Al momento de la cosecha, es práctica común que la selección de los frutos se realice sólo por su color y no por el grado de deshidratación alcanzado en la planta. Esto conduce a la recolección de una gran cantidad de frutos inmaduros ("turgente" o "pintón"). Estos frutos, aunque luego continúen el proceso de maduración durante el secado, no alcanzan la concentración final de pigmentos que se logra cuando el fruto es recogido en su estadio "pansío".

Durante el pasaje del estadio "pintón" al "pansío" se completa el proceso de biosíntesis de carotenoides y se produce la pérdida de agua (secado). Esta transición está acompañada por un fuerte aumento en el contenido total de carotenoides, por un aumento de la relación entre xantófilas rojas y xantófilas amarillas (R) y una inactivación de los procesos metabólicos como consecuencia de la pérdida de agua (Wierna Sánchez Iturbe 2013, 2014 y Hornero-Méndez Dámaso 2000). Así, la recolección de frutos en estadios alejados de su maduración óptima conduce a menores contenidos de pigmentos en el producto final con una baja relación de rojos a amarillos. Debe tenerse en cuenta además que altos valores de R mejoran la calidad del fruto ya que aumentan la capacidad de tinción y fundamentalmente mejoran la sensación visual.

4.- Efecto de la molienda en la calidad del pimentón En la Figura 6 se muestra la variación del color en cáscara de cinco variedades de pimiento para pimentón como consecuencia de la molienda. Puede observarse que las etapas de molienda en piedra para reducir el tamaño desde una molienda gruesa (2-3 mm aprox.) a valores de 0,5 mm y 0,2 mm sucesivamente, no producen una modificación importante

del color, el que resulta comparable al valor de color determinado sobre la misma muestra molida en laboratorio. El menor valor de color observado sobre la muestra correspondiente a molido grueso (Figura 4) es consecuencia de una mala extracción por el tamaño de partícula.

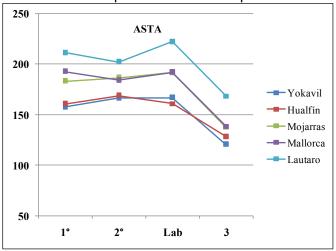


Figura 6: Efecto de la molienda sobre el color ASTA para 5 variedades de pimiento para pimentón. Origen de los frutos Estación Experimental INTA-Encalilla (cosecha 2008). Los frutos se molieron enteros. 1.: **1º pasada** en piedra: con tamaño de partícula < 20 mesh. 2.- **2º pasada** en piedra: corresponde a tamaño de partícula < 60 mesh, **Lab:** muestra 3 molida en laboratorioa un tamaño < 40 mesh. 3.- **Molido grueso** en molino de martillo con un tamaño > 2-3 mm.

c) Efecto de las condiciones de almacenamiento durante la comercialización

La Figura 5 presenta la influencia de las condiciones de almacenamiento sobre muestras de pimentón, molidas sin semilla, de la variedad Yokavil.

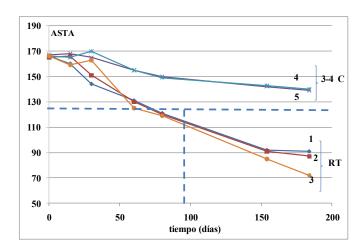


Figura 7: Variación del color con el tiempo de muestras de pimentón molido sin semilla, de la variedad Yokavil (EE Encalilla-INTA). **1.-**En sobre de polietileno transparente de120 □m (PE-120) cerrado, bolsa negra exterior y temperatura ambiente (RT). **2.-** PE-120 sin bolsa negra, en cajón cerrado y RT. **3.-** PE-120 sin bolsa negra, a la luz y RT.- **4.-** Idem 1 y en heladera (3-4°C) **5.-** Idem 2 en heladera.

Puede observarse que la temperatura de almacenamiento es el factor más influyente en la pérdida de color en muestras de pimentón envasado. Las muestras guardadas en bolsas de polietileno (120 mm) (PE-120) selladas y conservadas a una temperatura de entre 3 a 4°C mostraron una pérdida de color del orden del 16% al cabo de 180 días; mientras que las muestras conservadas a temperatura ambiente (RT) perdieron casi un 50% de su color al cabo del mismo tiempo.

La protección a la luz no provocó un cambio significativo comparado con aquellas sin protección. Este comportamiento

es razonable si se considera que el efecto de la radiación afecta sólo la capa expuesta y no a la totalidad de la muestra. La pérdida de color de muestras conservadas en heladera fue mucho mayor durante los primeros 90 días después de la molienda, haciéndose menos abrupta para los meses sucesivos. Este comportamiento está relacionado con el agotamiento del oxígeno existente al momento de su envasado y probablemente pueda ser minimizado si las muestras se envasan en atmósfera controlada.

Pérez-Gálvez et al. (2004) reportaron un comportamiento similar, determinando una pérdida de color del 59% al cabo de 18 meses, para muestras de pimentón de la variedad Jaranda conservadas en bolsa de plástico en la obscuridad y a temperatura ambiente.

De lo expuesto surge que la temperatura de almacenamiento es el factor más importante a considerar en muestras de pimentón.

Además, debería legislarse acerca del período de validez del producto luego de envasado, ya que al cabo de dos años, éste pierde más del 60% de su color original.

Es importante realizar estudios más detallados sobre las condiciones de almacenamiento para determinar la forma óptima de conservación el producto.

CONCLUSIONES

- * Entre los años 2013 y 2014, el 40% de las muestras analizadas, que se comercializan en la Ciudad de Salta, se encontraban adulteradas por el agregado de rocú (*Bixa orellana*).
- * De las muestras sin adulterar sólo una presentó un valor de color acorde con su denominación, lo que demuestra la ausencia de controles para dar cumplimiento a lo exigido por el CAA.
- * Se encontró que las condiciones de cultivo, la selección del varietal y el grado de maduración del fruto al momento de la cosecha son variables importantes para lograr una adecuada calidad de frutos.
- * La temperatura y el tiempo de almacenamiento después de la molienda son los factores más importantes durante la etapa de comercialización.
- * Debería limitarse la validez del producto luego de su envasado a un período no superior a los 12 meses y exigirse que en el envase se agregue la frase "conservar en frío".
- * Existen varietales de *capsicum* de calidad adecuada para dar cumplimiento a los requerimientos del CAA en lo que se refiere su denominación como "Pimentón Extra".

BIBLIOGRAFÍA

AOAC International, 2002. In: William Horwithz (Eds.), Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International, vol. II, 43 Spices and Other Condiments, 43. 1. 02 Color Extractable inSpices. 17th ed. Gaithrsburg, Maryland.

Araújo Vilar D. de , Araujo VilarM. S. de,Lima e MouraT.F.A. de,Nervo Raffin F., OliveiraM. R. de, Oliveira FrancoC.F. de, Filgueiras de Athayde-Filho P., Formiga Melo Diniz F. M. de,and Barbosa-FilhoJ. M— 2014 - Traditional Uses, Chemical Constituents, and Biological Activities of Bixa Orellana L.: A Review - The Scientific World Journal — Volume 2014-11 pages (http://dx.doi.org/10.1155/2014/857292).

Bonini, N.A; Davies L.E., Pacheco C.; Chavarría, J.; Lacci F. - 2007 - Evaluación de la Calidad de Pimiento para Pimentón - XI Congreso CYTAL y 2 Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías Buenos Aires.

CAA – ANMAT- CAP XVI – Art 1233 - Resolución Conjunta SPRel y SAGPyA N°92/2008 y N° 355/2008.

Cukier A. – 1996 - "Adulterantes y materias extrañas en condimentos". B. ANNMAT Vol.IV (N°2).

Hornero-Méndez D., Gómez-Ladrón de Guevara R. and Mínguez-Mosquera M.I. 2000 -Carotenoid Biosynthesis Changes in Five Red Pepper (*Capsicum annuum* L.) Cultivars during Ripening. Cultivar Selection for Breeding -*J. Agric. Food Chem.*, 48, 3857-3864.

Lacci F. - 2005.- Mejora de la producción y comercialización del pimiento para pimentón. - Grupo PROZONO - II Seminario regional Amaicha del Valle.

Mınguez-Mosquera, M.I., Jaren-Galan, M.A., Garrido-Fernandez, J., - 1994 - Influence of the industrial drying processes of pepper fruits (Capsicum annuum cv Bola) for paprika on the carotenoid content. J. Agric. Food Chem. 42 (5), 1190–1193. Pérez-Gálvez Antonio, Mínguez- Mosquera Mª I., Garrido-Fernández J., Lozano-Ruiz Mª M. y Montero-de-Espinosa V. – 2004 - Correlación entre unidades ASTA y la concentración de carotenoides en pimentones. Predicción de la estabilidad del color durante el almacenamiento. Grasas y Aceites Vol. 55. Fasc. 3, 213-218.

Wierna Sánchez 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- XIV Congreso de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

Wierna Sánchez Iturbe R.V.; Nazareno M. A.; Bonini N.A.2014 Efecto del proceso de secado sobre los pigmentos presentes en frutos de *Capsicum*. Este V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los alimentos – Córdoba – 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.