

















— Año Internacional de las Legumbres —

# CALIDAD TECNOLÓGICA

Calidad tecnológica de los alimentos : trabajos completos : VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos / María Eugenia Steffolani ... [et al.] ; compilado por Alberto Edel León ; editado por Victoria Rosati ; Alberto Edel León ; Carlos Walter Robledo. - 1a ed compendiada. - Córdoba : Ministerio de Ciencia y Tecnología de la provincia de Córdoba, 2017.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online ISBN 978-987-45380-4-8

1. Tecnologia de los Alimentos. 2. Calidad. I. Steffolani, María Eugenia II. León, Alberto Edel , comp. III. Rosati, Victoria , ed. IV. León, Alberto Edel , ed. V. Robledo, Carlos Walter, ed.

CDD 664



## PRÓLOGO

La calidad de los alimentos es de gran importancia porque compete a varios actores; desde empresarios hasta consumidores, pasando por organismos de control y el estado. Los diferentes aspectos a considerar dentro de la calidad tecnológica de los productos alimenticios y de sus materias primas son muy variados y dependen de las características intrínsecas de los mismos. Las propiedades tecnológicas están determinadas por parámetros físicos y químicos que se definen para cada grupo de productos. Actualmente, los consumidores demandan en mayor medida alimentos más saludables y nutritivos, más prácticos y menos perecederos. Sin embargo, el desarrollo de nuevos productos o la modificación de la formulación de aquellos tradicionales conlleva una caída en la calidad tecnológica de los alimentos y una disminución de su aceptabilidad. Por lo tanto, el desafío es investigar diferentes alternativas para que la calidad no disminuya y lograr una buena aceptación por parte de la población en general de estas nuevas tendencias. En este libro se publican los artículos completos de investigación, revisados por pares, presentados al área Calidad Tecnológica en el VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. En los trabajos publicados se hace especial hincapié en los resultados de investigaciones fundamentales y aplicadas que tienen potencial para mejorar la calidad de los alimentos, prolongar la vida útil de los productos alimenticios frescos y procesados, y mejorar la eficiencia de los procesos. También se incluyen nuevas perspectivas y tendencias innovadoras en productos alimenticios y subproductos de la industria alimentaria. Creemos que este libro es una contribución a la difusión del conocimiento científico-tecnológico en el área de los alimentos que se desarrolla en Argentina, Latinoamérica y el mundo.

### LOS EDITORES

Steffolani María Eugenia

Sciarini Lorena Susana

Barrera Gabriela Noel

Borneo Rafael 3



## Almidón como base para la obtención de matrices conteniendo sorbatos: influencia de cuatro factores en el método de precipitación etanólica

Alzate, P. C.<sup>1,2</sup>, Gerschenson, L.<sup>1,3</sup>, Flores, S. K.<sup>1,3</sup>

- <sup>1</sup> Departamento de Industrias, FCEN-UBA, Intendente Güiraldes 2160, CABA, Buenos Aires, Argentina.
- <sup>2</sup> Becario del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET.
- <sup>3</sup> Miembro de la Carrera de Investigador del CONICET.

Dirección de e-mail: sflores@di.fcen.uba.ar

### RESUMEN

Los almidones presentan un alto potencial para actuar como matriz soporte de sustancias activas en tecnología de alimentos. El objetivo del trabajo fue analizar la influencia de la concentración del sorbato de potasio (KS), la adición del entrecruzantetrimetafosfato de sodio (STMP), el pH del medio y la intensidad de las ondas de ultrasonido (%A) en las características de partículas de almidón de mandioca conteniendo KS obtenidas a partir de la técnica de precipitación en etanol. Se determinó el % de retención de agua (%RA), % solubilidad, contenido de amilosa (%Am) y contenido de KS (ppm) de las partículas. Los resultados indicaron que a mayor %A, la solubilidad aumentó mientras que el %RA disminuyó. La concentración de STMP también redujo el %RA. El contenido de KS fue incrementado con un aumento de la cantidad de preservador adicionado y del pH. El %Am disminuyó cuando la cantidad de STMP y KS aumentaron. Las partículas obtenidas en presencia de 0,5% KS p/v, pH neutro, 0,07% STMP p/v y sin sonicación, mostraron baja solubilidad (10%) y alta KS (6114 ppm). Los sistemas desarrollados, podrían disminuir la interacción del KS con otros componentes alimenticios o generar un sistema de liberación controlada para el preservador.

Palabras Clave: almidón, partículas, sorbato de potasio, precipitación en etanol, diseño experimental.

### **ABSTRACT**

Starches have a high potential to act as support matrix of active substances in food technology. The objective was to analyze the influence of potassium sorbate concentration (KS), addition of crosslinker sodium trimetaphosphate (STMP), pH of the medium and intensity of ultrasonic waves (%A) in the production of tapioca starch particles containing KS, using ethanol precipitation technique. The water retention percentage (%RA), solubility, amylose content (%Am) and KS content (ppm) were determined in the particles. The results indicated that %A increased the particle solubility while %RA decreased as a higher %A and STMP concentration were used. The KS content was enhanced with a higher KS concentration and a higher pH. The %Am decreased when STMP and KS increased. The particles obtained in the presence of 0.5% w/v KS, neutral pH, 0.07% w/v STMP and without sonication, would show low solubility (10%) and high KS (6114 ppm). The systems developed, could decrease the KS interaction with other food components, or help to generate a controlled release system for the preservative.

**Keywords:** starch, particles, potassium sorbate, ethanol precipitation, experimental design.

### INTRODUCCIÓN

El uso del almidón como materia prima para la producción de matrices con funcionalidad específica, ha despertado el interés de los investigadores desde hace ya varias décadas (Rodrigues y Emeje 2012). Se trata de un biopolímero renovable, disponible durante todas las estaciones y relativamente económico. Sin embargo, la mayoría de los almidones en su forma nativa, presentan limitaciones de aplicación tales como la alta viscosidad después de la gelatinización de sus suspensiones acuosas y la susceptibilidad a la retrogradación. Por ello, muchos de los almidones usados para aplicaciones alimenticias e industriales son sometidos a modificaciones químicas y/o físicas para acentuar sus características positivas, disminuir sus cualidades indeseables y/o agregar nuevos atributos (Le Corre et al. 2014).

Recientemente se ha informado del uso departículas de almidón para el desarrollo de nuevos materiales de envasado, para la estabilización de emulsiones y como aditivos para modificar la textura y sabor de los alimentos (Kim et al. 2015). Además, estas estructuras permiten la compartimentalización de sustancias activas, por ejemplo, antimicrobianos o antioxidantes, que pueden ser disueltos, atrapados, absorbidos o

encapsulados en la matriz de las partículas, disminuyendo o suprimiendo su interacción con otros componentes de los alimentos y contribuir a su eficacia (Gaonkar y Mcpherson 2006).

Dependiendo del método de preparación, las micropartículas pueden obtenerse con diferentes propiedades y características de liberación para los agentes soportados (Rao y Geckeler 2011).

El método de precipitación implica la adición lenta de una solución de biopolímero a la fase no disolvente con agitación. En estas condiciones, las partículas son formadas instantáneamente durante la difusión rápida de la solución de polímero en la fase no disolvente.

El ácido sórbico y su sal de potasio (KS) se clasifican como aditivos generalmente reconocidos como seguros (GRAS) y son activos contra levaduras, mohos y muchas bacterias. Estos conservantes son inestables debido a su estructura química. También sufren degradación oxidativa y pueden interactuar con los componentes de los alimentos, disminuyendo así su potencial antimicrobiano (Gliemmo et al. 2008). Por lo tanto, la adición de sorbatos a estructuras basadas en almidón puede ser una estrategia para compartimentalizar el antimicrobiano cuando se agrega a una formulación de alimentos y podría, por lo tanto, ayudar a minimizar la pérdida de conservante (Flores et al. 2007).

El objetivo del presente trabajo fue analizar la influencia de cuatro factores: concentración de sorbato de potasio (KS), adición del entrecruzantetrimetafosfato de sodio (STMP), pH del medio e intensidad de ondas de ultrasonido (% amplitud) en las característicad de partículas de almidón nativo de mandioca conteniendo KS y obtenidas a través de la técnica de precipitación en etanol.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Materiales**

Para la obtención de las partículas se utilizó almidón de mandioca nativo (Bernesa S.A., Argentina) calidad alimenticia. Los reactivos trimetafosfato de sodio (STMP, Anedra S.A, Argentina), NaOH (Anedra S.A, Argentina), HCl (Cicarelli, Argentina), iodo (Anedra S.A, Argentina) y sorbato de postasio (Sigma-Aldrich, USA) fueron de calidad analítica. El etanol (Purocol, Argentina) utilizado fue de calidad farmacopea.

## Obtención departículas mediante la técnica de precipitación en etanol Diseño experimental

En el presente trabajo se realizó un Diseño Factorial Completo (2<sup>4</sup>) que incluyó el efecto de 4 factores (cantidad de preservador, pH, cantidad de entrecruzante STMP y % de amplitud de sonicación) con 2 niveles por cada factor y puntos centrales por cuadruplicado. Los niveles de los factores fueron seleccionados de acuerdo a ensayos previos y se encuentran detallados en la **Tabla 1**.

### Obtención de las partículas

Se prepararon suspensiones de almidón nativo al 3% p/p en agua destilada y se procedió a la gelatinización del almidón mediante calentamiento sobre platina calefactora con agitación hasta alcanzar 85°C. Se mantuvo la temperatura por aproximadamente 15 minutos y luego se enfrió la solución resultante a temperatura ambiente.

De acuerdo a los requerimientos del diseño experimental propuesto (**Tabla 1**), el almidón gelatinizado fue o sonicado; o sonicado y entrecruzado.

Los sistemas que requerían tratamiento con ultrasonido fueron colocados en un sonicador (VCX-750 Ultrasonic, USA) durante 10 minutos, usando los porcentajes de amplitud (%A) especificados en la **Tabla 1**. Posteriormente se adicionó a cada sistema la cantidad requerida de KS según el diseño experimental (**Tabla 1**) y se homogeneizó la mezcla por 15 minutos con agitación a temperatura ambiente.

A los sistemas entrecruzados se les ajustó el pH con una solución de NaOH 0,1 N hasta obtener un pH final de 10,5 – 11. Posteriormente se agregó STMP como entrecruzante de acuerdo al diseño experimental propuesto y se mantuvo durante 15 minutos con agitación. Finalmente, el pH de cada sistema fue ajustado con una solución de HCl 0,1N hasta obtener el valor requerido de acuerdo al diseño.

Una vez obtenidos los sistemas, se tomaron 10ml de cada uno con pipeta y este volumen fue vertido gota a gota en un vaso de precipitado conteniendo 30ml de etanol con vigorosa agitación. El precipitado obtenido fue recuperado por centrifugación, lavado con solución acuosa de etanol 75% (v/v). Se dejó evaporar el solvente bajo campana y por último los sistemas fueron deshidratados por liofilización (LiofilizadorChrist 1-4 LD, Alemania). El producto obtenido se molió en mortero, se envasó y se almacenó en desecador con CaCl<sub>2</sub> hasta el momento de su caracterización.

**Tabla 1.** Diseño Factorial completo (2<sup>4</sup>). Detalle de los niveles utilizados para los factores %KS, pH, %STMP y % amplitud de sonicación.

|           | %        | KS        | I        | Ph        | % \$     | STMP      | % An     | nplitud   |
|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|
| Sistemas  | Codifica | Sin       | Codifica | Sin       | Codifica | Sin       | Codifica | Sin       |
|           | do       | Codificar | do       | Codificar | do       | Codificar | do       | Codificar |
| 0a        | 0        | 0,3       | 0        | 5         | 0        | 0,3       | 0        | 40        |
| <b>0b</b> | 0        | 0,3       | 0        | 5         | 0        | 0,3       | 0        | 40        |
| 0c        | 0        | 0,3       | 0        | 5         | 0        | 0,3       | 0        | 40        |
| 0d        | 0        | 0,3       | 0        | 5         | 0        | 0,3       | 0        | 40        |
| 1         | 1        | 0,5       | 1        | 7         | 1        | 0,60      | 1        | 80        |
| 2         | 1        | 0,5       | 1        | 7         | -1       | 0,00      | -1       | 0         |
| 3         | 1        | 0,5       | -1       | 3         | 1        | 0,60      | -1       | 0         |
| 4         | 1        | 0,5       | -1       | 3         | -1       | 0,00      | 1        | 80        |
| 5         | -1       | 0,1       | 1        | 7         | 1        | 0,60      | -1       | 0         |
| 6         | -1       | 0,1       | 1        | 7         | -1       | 0,00      | 1        | 80        |
| 7         | -1       | 0,1       | -1       | 3         | 1        | 0,60      | 1        | 80        |
| 8         | -1       | 0,1       | -1       | 3         | -1       | 0,00      | -1       | 0         |
| 9         | 1        | 0,5       | 1        | 7         | 1        | 0,60      | -1       | 0         |
| 10        | 1        | 0,5       | 1        | 7         | -1       | 0,00      | 1        | 80        |
| 11        | 1        | 0,5       | -1       | 3         | 1        | 0,60      | 1        | 80        |
| 12        | 1        | 0,5       | -1       | 3         | -1       | 0,00      | -1       | 0         |
| 13        | -1       | 0,1       | 1        | 7         | 1        | 0,60      | 1        | 80        |
| 14        | -1       | 0,1       | 1        | 7         | -1       | 0,00      | -1       | 0         |
| 15        | -1       | 0,1       | -1       | 3         | 1        | 0,60      | -1       | 0         |
| 16        | -1       | 0,1       | -1       | 3         | -1       | 0,00      | 1        | 80        |

### Caracterización de las partículas

### Solubilidad en agua y capacidad de retención de agua de las partículas

Una masa de 0,1 g de cada sistema fue adicionada a 9 g de agua destilada en un tubo Falcón de 15 ml previamente tarado. Las muestras fueron colocadas en un baño a 85°C por 30 min con agitación cada 5 min. Se centrifugó (Centrifuga 5804 R, Eppendorf, Alemania) a 25°C a 5000 rpm durante 10 min. Se registró el volumen de sobrenadante, se retiró una alícuota de 5 ml y se transfirió a placas de Petri taradas. El contenido de las placas se deshidrató en estufa de vacío a 100°C durante 16 h. La proporción de masa solubilizada fue calculada para el volumen total de sobrenadante. La solubilidad (g disueltos / 100 g de muestra) es informada como la relación másica entre el peso seco obtenido a partir del sobrenadante y el peso inicial de la muestra de almidón utilizada.

Adicionalmente, se dejó escurrir el líquido remanente de los tubos Falcón y posteriormente se pesaron. La ganancia de peso del almidón hinchado (pellet) fue utilizada para calcular la capacidad de retención de agua (%RA) como el porcentaje en peso entre la ganancia de peso del pellet y el peso inicial de la muestra utilizada. Las determinaciones se realizaron, al menos, por duplicado.

### Determinación del contenido de Amilosa

Para la determinación del contenido de amilosa de las muestras, se siguieron los procedimientos recomendados por la norma ISO 6647-1 (2007) con algunas modificaciones. Esta metodología se basa en determinación colorimétrica del complejo iodo-amilosa.

Brevemente, se pesaron 100 mg de cada uno de los sistemas y se traspasaron cuantitativamente amatraces de 100 ml. Luego se adicionó a cada matraz 1 ml de etanol (95%) y 9 ml de hidróxido de sodio 1N. Se taparon los matraces y se estabilizaron a temperatura ambiente por un periodo de 22 horas. Pasado este tiempo, se

Para la construcción de la curva estándar se utilizaron soluciones mezcla de amilosa y amilopectina de papa (SIGMA, Alemania). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

## Dosaje de sorbato de potasio (KS)

La cuantificación del preservador se realizó, usando la técnica colorimétrica recomendada por la AOAC (1990) sobre las muestras deshidratadas; realizando primero una destilación por arrastre con vapor y posteriormente la oxidación del KS a malonhaldehido para finalmente cuantificar el pigmento rojo formado por medio de un espectrofotómetro (Shimadzu Modelo UV-1800, Japón) a una longitud de onda de 532 nm. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

## Análisis del diseño y análisis estadístico

Para la creación y análisis del diseño experimental, construcción de las superficies de respuesta y optimización de las respuestas (función deseabilidad) se utilizó el programa StatgraphicsCenturion XV (V 2.15.06, 2007, Warrenton, VA, USA).

El ajuste de cada respuesta a un modelo polinómico se evaluó a través del coeficiente de determinación (R²), el coeficiente de Durbin Watson (DW>1) y el test de falta de ajuste (p>0,05). El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significancia (α) del 0,05 seguido de un Test de Fisher (LSD) para establecer diferencias significativas entre las muestras.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

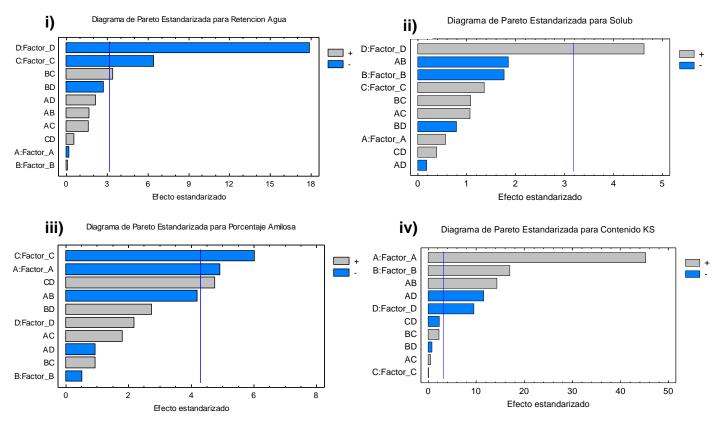
En la **Tabla 2** se resumen los resultados obtenidos para las respuestas analizadas. A partir del análisis del diseño, se obtuvieron los Diagramas de Pareto estandarizados que se muestran en la **Figura 1.** 

**Tabla 2.** Variables repuestas del diseño factorial completo (2<sup>4</sup>)

| Sistemas | % Retención de agua | % Solubilidad | % Amilosa | Contenido KS<br>(ppm) |
|----------|---------------------|---------------|-----------|-----------------------|
| 0a       | 583±25              | 27±4          | N.D.      | 2217±16               |
| 0b       | 582±48              | 21,6±0,1      | N.D.      | 2327±27               |
| 0c       | 748±38              | 28±4          | 16,9±0,3  | 2547±30               |
| 0d       | 671±60              | 35±2          | 10,7±0,1  | 2401±20               |
| 1        | 433±52              | 28,0±0,7      | 12,8±0,3  | 4614±20               |
| 2        | 1323±79             | 9,9±0,1       | 12,2±0,3  | 5692±5                |
| 3        | 934±8               | 22,4±0,5      | 7,9±0,3   | 3812±5                |
| 4        | 894±45              | 28±4          | 16,9±0,3  | 2976±10               |
| 5        | 1224±112            | 17,8±0,6      | 7,5±0,3   | 1402±16               |
| 6        | 645±8               | 20±2          | 36,7±0,3  | 1810±14               |
| 7        | 529±45              | 23±2,         | 14,8±0,1  | 1630±13               |
| 8        | 1782±56             | 11±1          | 34,3±0,3  | 1385±12               |
| 9        | 1495±115            | 11,6±0,4      | N.D.      | 7127±13               |
| 10       | 665±81              | 17±1          | 4,5±0,8   | 4975±15               |
| 11       | 524±96              | 37±1          | N.D.      | 2575±15               |
| 12       | 1268±56             | 17,8±0,1      | 24,2±0,3  | 4362±20               |
| 13       | 406±72              | 29±3          | N.D.      | 1321±12               |
| 14       | 1402±111            | 13±1          | 27,7±0,3  | 1382±10               |
| 15       | 999±141             | 11,1±0,9      | N.D.      | 1102±17               |
| 16       | 824±101             | 26±9          | 18,1±0,3  | 1061±13               |



## N.D.: no determinado



**Figura 1:** Diagramas de Pareto estandarizados para el análisis de los efectos de los factores A: contenido de KS, B: pH, C: Contenido de STMP y D: % de amplitud sobre las respuestas i) Retención de agua, ii) % Solubilidad, iii) % amilosa y iv) contenido de KS.

Pudo observarse que el contenido de STMP y el tratamiento con ultrasonido fueron los factores que significativamente afectaron la retención de agua de los sistemas analizados (**Figura 1, panel i**). En particular, la capacidad de retención de agua fue disminuida significativamente a mayor % de amplitud aplicado y ante un aumento en la cantidad de STMP adicionada. Estos resultados pueden relacionarse con la presencia de un alto número de puentes diester fosfato como producto del proceso de entrecruzamiento, el cual estaría favorecido con el alto grado de disrupción del gránulo gelatinizado por acción de las ondas de ultrasonido, generando una limitada capacidad de retención de agua por disminución de los puntos de interacción con la misma. Recientemente, Alzate et al. (2016) reportaron una disminución en la capacidad de retención de agua tanto en almidón de mandioca nativo como acetilado, como consecuencia de una mayor integridad de la matriz amilácea debido a un importante grado de entrecruzamiento.

La solubilidad fue modulada positivamente por el % de amplitud, único factor que ejerció un efecto significativo sobre esta respuesta (**Figura 1, panel ii**). Posiblemente el alto grado de disrupción de los gránulos de almidón y la de-polimerización sufridos por la amilosa y la amilopectina, provoquen una estructura más susceptible a la acción del agua como solvente. De acuerdo a Cheng et al. (2010), las soluciones de almidón gelatinizado están compuestas principalmente por gránulos hinchados y robustos, los cuales pueden de-polimerizarse debido a los intensos efectos mecánicos producidos por la cavitación, los cuales causan la ruptura de uniones de la amilosa y/o amilopectina.

Por otro lado, la **Figura 1, panel iii**, muestra que el contenido de amilosa disminuyóe ante un aumento de los niveles de STMP y de KS, siendo estos factores los que presentan un efecto significativo sobre esta respuesta. Es de esperar, que ante un aumento en el nivel de entrecruzante, sea menor la fracción de moléculas de amilosa disponibles para formar complejos con otros compuestos como el iodo. A su vez, es conocido que compuestos tales como los ácidos grasos alifáticos disrumpen la conformación en doble hélice del almidón, por formación de complejos asociados a las cadenas simples (conformación tipo V) (Godet et al. 1995). Este hecho, obstaculizaría la formación del complejo iodo-amilosa durante su determinación cuantitativa.

El contenido de KS en las partículas fue la respuesta más sensible a los factores estudiados, siendo la cantidad de preservador y el pH de las muestras, los de mayor influencia. La cantidad de preservador contenido en las partículas, fue mayor ante un aumento del mismo, y a su vez, con un aumento del pH. En este caso, también resultó significativa, la interacción positiva (sinergismo) entre ambos factores (**Figura 1**, panel iv).

Para una mayor comprensión, en la **Figura 2**, pueden observarse las superficies de respuesta obtenidas, las cuales muestran el efecto de los factores estudiados, tal como se describió previamente.

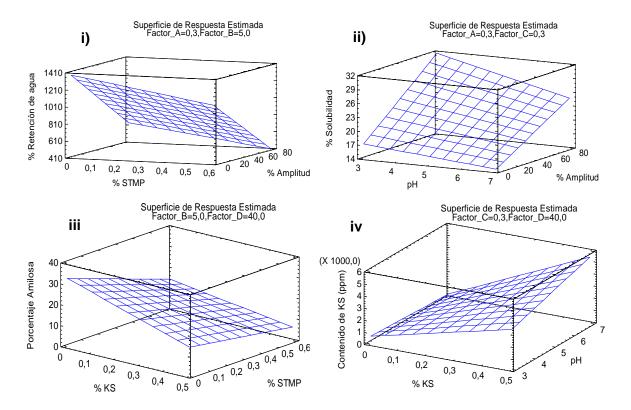


Figura 2: Superficies de respuesta para:

i) % Retención de agua (R<sup>2</sup>: 0,8247; DW: 1,05; p falta de ajuste: 0,0667), ii) % Solubilidad (R<sup>2</sup>: 0,7316; DW: 1,42; p falta de ajuste: 0,3896), iii) % amilosa (R<sup>2</sup>: 0,9085; DW: 2,26; p falta de ajuste: 0,1645),

iv) contenido de KS (ppm) (R<sup>2</sup>: 0,9534; DW: 1,39; p falta de ajuste: 0,074).

A fin de analizar las condiciones del proceso que permitan obtener partículas de almidón con una baja solubilidad y capacidad de retención de agua y; un alto contenido de KS y amilosa, se optimizaron las respuestas mencionadas de manera individual. Los resultados se muestran en la **Tabla 3.** 

**Tabla 3.** Condiciones de proceso predichas que optimizan las respuestas individuales

| Variables Respuesta            | Valor | KS (% p/v) | pН | <b>STMP</b> (% p/v) | % Amplitud |  |  |  |  |  |
|--------------------------------|-------|------------|----|---------------------|------------|--|--|--|--|--|
| % Retención de agua (mínima)   | 320   | 0,1        | 7  | 0,6                 | 80         |  |  |  |  |  |
| % Solubilidad (mínima)         | 12    | 0,5        | 7  | 0                   | 0          |  |  |  |  |  |
| % Amilosa (máxima)             | 33    | 0,1        | 7  | 0                   | 80         |  |  |  |  |  |
| Contenido de KS (ppm) (máxima) | 5602  | 0,5        | 7  | 0                   | 0          |  |  |  |  |  |

En una segunda etapa, se analizaron las condiciones que permitirían minimizar la solubilidad y maximizar el contenido de KS de manera simultánea (**Tabla 4**).

**Tabla 4.** Condiciones de proceso predichas que maximizan el contenido de KS y minimizan la solubilidad en una optimización múltiple

| Variables Respuesta   | Valor | KS (% p/v) | pН | STMP (% p/v) | % Amplitud |
|-----------------------|-------|------------|----|--------------|------------|
| % Solubilidad         | 10    | 0.5        | 7  | 0.074        | 0          |
| Contenido de KS (ppm) | 6114  | 0,5        | /  | 0,074        | U          |

Por lo tanto, de acuerdo al procedimiento estadístico utilizado, es posible fijar las condiciones de proceso que permitirían obtener partículas de almidón conteniendo KS con propiedades deseables, como una baja solubilidad y una alta carga del antimicrobiano. Estos sistemas presentan potencialidad para ser aplicados como matrices protectoras del KS en alimentos, o bien, como sistemas de liberación controlada.

### **CONCLUSIONES**

Se obtuvieron matrices amiláceas conteniendo sorbato de potasio (KS), mediante la técnica de precipitación en etanol. A su vez, se determinó si los factores analizados, ejercieron efectos significativos sobre las variables respuesta estudiadas.

Las condiciones del proceso: 0.5% p/v de sorbato de potasio (KS), pH neutro, 0.07% p/v de trimetafosfato de sodio (STMP) y sin tratamiento con ultrasonido; permitirían obtener un sistema de baja solubilidad (10%) y con alto contenido de KS (6114 ppm).

Las partículas desarrolladas, pueden ser compatibles con la formulación de los alimentos, brindando a su vez protección al preservador contra otros componentes de la formulación. A su vez, podrían ayudar a generar un sistema de liberación controlada del preservador hacia la matriz del alimento, favoreciendo la extensión de la vida útil del mismo.

### BIBLIOGRAFÍA

Alzate P, Zalduendo M M, Gerschenson L, Flores S. 2016. Micro and nanoparticles of native and modified cassava starches as carriers of the antimicrobial potassium sorbate. Starch, 68: 1-10.

Cheng W, Chen J, Liu D, Ye X, Ke F. 2010. Impact of ultrasonic treatment on properties of starch film-forming dispersion and the resulting films. Carbohydrate Polymers, 81: 707-711.

Flores S, Haedo A, Campos C, Gerschenson L N. 2007. Antimicrobial performance of potassium sorbate supported in tapioca starch edible films. European Food Research and Technology, 225: 375–384.

Gaonkar G, Mcpherson A. 2006. Ingredient Interactions: Effects on Food Quality. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Gliemmo M F, Calviño A M, Tamasi O, GerschensonL N, Campos C A. 2008.Interactions between aspartame, glucose and xylitol in aqueous systems containing potassium sorbate. LWT–FoodScience and Technology, 41: 611-619.

Godet M C, Bizot H, Buléon, A. 1995. Crystallization of amylose-fatty acid complexes prepared with different amylose chain lengths. Carbohydrate Polymers, 27: 47–52.

ISO 6647-1. 2007. Rice — Determination of amylose content — Part 1: Reference method. International Organization for Standardization. Switzerland.

Kim H-Y, Park S S, Lim S-T. 2015. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. Colloids Surface B, 126: 607–620.

Le Corre D, AngellierCoussy H. 2014. Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: A review. Reactive and functionalPolymers, 85: 97-120.

Rao J P, Geckeler K E. 2011. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-controlling parameters. Progress in PolymerScience, 36: 887–913.

Rodrigues A y Emeje M. 2012. Recent applications of starch derivatives in nanodrug delivery. CarbohydratePolymers, 87: 987-994.

### **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen el financiamiento de las siguientes instituciones: UBA (UBACYT 2011-2014/726, 2014-2017/550BA), CONICET (PIP 2010-2012/531, 2013-2015/507) y Agencia Nacional de promoción Científica y Tecnológica de Argentina (PICT 2008-2131, PICT-2012-0183).

## Análisis reológico de masas panarias elaboradas con almidón resistente Arp C. G.<sup>1</sup>, Correa M. J.<sup>1</sup>, Ferrero C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP-CONICET-CIC, 47 y 116 s/n, La Plata, Buenos Aires, Argentina. Dirección de e-mail:arp\_gabriel@hotmail.com

### **RESUMEN**

Los almidones resistentes son utilizados como ingredientes funcionales para incrementar el aporte dietario de fibra en alimentos, siendo mayormente incorporados en productos panificados y horneados. Sin embargo, la incorporación de nuevos ingredientes a las formulaciones puede afectar la calidad del producto final. Este trabajo buscó evaluar el efecto de diferentes contenidos de almidón resistente tipo II (Hi-Maize®) (HM) en la reología de masas destinadas a la producción de un sustituto saludable del pan blanco. Se idearon 4 premezclas con distintos niveles de reemplazo de harina de trigo (HT) por HM: 0, 10, 20 y 30% (control, HM10, HM20 y HM30, respectivamente), conteniendo todas 2% de NaCl base HT o mezcla HT-HM. Sobre las premezclas se realizaron ensayos farinográficos y, sobre las masas, ensayos reológicos fundamentales, con reómetro oscilatorio de pequeña deformación, y empíricos, con texturómetro. Los resultados mostraron que la incorporación de concentraciones crecientes de HM produjo un aumento de la absorción de agua y una disminución de la estabilidad frente el amasado de las premezclas. En las masas, la utilización de HM incrementó los valores de los módulos elástico y viscoso, especialmente en muestras con mayor contenido, y produjo masas más duras, consistentes y adhesivas, y de menor cohesividad y resiliencia.

Palabras clave: Almidón resistente, masa panaria, reología, farinogramas, textura

### **ABSTRACT**

Resistant starches have been used as functional ingredients to enhance dietary fiber intake in foods, being mainly incorporated in breads and baked goods. However, incorporation of novel ingredients to bread formulations could affect the quality of final products. The aim of this work was to evaluate the effect of different amounts of resistant starch type II (Hi-Maize®) (HM) on rheology of doughs destined to production of a healthy substitute for white bread. For this, 4 premixes with different levels of substitution of wheat flour (HT) by HM were proposed: 0, 10, 20 and 30% (control, HM10, HM20 and HM30, respectively), all containing 2% NaCl HT basis (or HT-HM mix basis). The premixes were studied by farinographic assays and doughs were analyzed by fundamental rheology, using a small deformation oscillatory rheometer, and empirical rheology, with texturometer. Results showed that increasing concentrations of HM produced a rising on water absorption and a falling on stability during kneading of the premixes. In doughs, values of elastic and viscous moduli increased, especially for samples with higher concentration of HM. Besides, HM addition led to harder, more consistent and adhesive doughs, with lower cohesiveness and resilience.

**Keywords:** Resistant starch, bread dough, rheology, farinograms, texture

## INTRODUCCIÓN

Los panificados son productos que gozan de una muy buena aceptabilidad en Argentina y la región. De hecho, en los últimos años se ha observado un incremento en el consumo de panificados industrializados, principalmente debido a la gran variedad de productos. Se estima que en Argentina el consumo de pan industrial alcanza los 70 kg anuales per cápita, mientras que el pan artesanal alcanza los 4,6 kg/ año/ persona (Lezcano, 2011).

Por otro lado, es sabido que el consumo excesivo de hidratos de carbono simples, sumado a un estilo de vida sedentario, aumenta en el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles tales como obesidad y diabetes mellitus tipo 2 (Larrañaga y col. 1997). Tras ser ingeridos, los hidratos de carbono, que pueden ser asimilados luego de la acción de las enzimas digestivas, generan un aumento brusco de la glucemia y, consecuentemente, de la hormona insulina (FAO/WHO 1998, Araya y Lutz 2003). Se ha comprobado que la repetición de este proceso a lo largo de la vida aumenta el riesgo de desarrollar cuadros de resistencia a la insulina y, por ende, diabetes tipo 2 (Augustin y col. 2002, Brand-Miller 2003). Asimismo, el elevado consumo de alimentos procesados ha traído consigo problemas relacionados al bajo consumo de fibra alimentaria. Esto es, problemas de motilidad intestinal, desequilibrio de la microbiota y elevados niveles de

colesterol, entre otros (Juárez y Mariné 2008). Este escenario conlleva una serie de preocupaciones ya que el pan es un alimento que, si bien es valorado como fuente de nutrientes accesible y ubicua, también contiene una elevada cantidad de carbohidratos en la forma de su componente mayoritario: el almidón.

Paralelamente, en los últimos años también se ha visto incrementada la tendencia a consumir alimentos funcionales, entendiéndolos como aquellos que además de proveer nutrientes básicos de la alimentación sana, promueven diferentes beneficios para la salud y/ o reducen el riesgo de padecer enfermedades crónicas en los individuos sanos que los consumen como parte de su dieta cotidiana (Juárez Iglesias y Perote Alejandre, 2010). Dentro de la categoría de ingredientes funcionales se destaca el almidón resistente, un tipo de fibra prebiótica que se define como la suma del almidón y productos de degradación del mismo que resisten la digestión en el intestino delgado de individuos sanos (Asp, 1992).

Teniendo en cuenta los riesgos asociados al consumo excesivo de hidratos de carbono y la extensión del consumo de pan en nuestro país, es necesario idear una estrategia que permita pensar a los panificados como potenciales alimentos funcionales. En este sentido, el empleo de almidón resistente puede conferir funcionalidad al pan tradicional si se reemplaza parcialmente a la harina de trigo por éste. Esta estrategia permitiría obtener panificados de bajo índice tanto calórico como glucémico que podrían ser utilizados en regímenes especiales. Adicionalmente, el empleo de almidón resistente tendría ventajas sobre el uso de fibras convencionales (como salvado de trigo) que dan como resultado productos de menor aceptabilidad y diferentes al pan blanco (pan negro). El almidón resistente es un ingrediente que, dado su color blanco, pequeño tamaño de partícula y sabor neutro, permitiría obtener un sustituto saludable del pan blanco que goce de una aceptabilidad similar, aprovechando también sus probadas propiedades prebióticas (McClearly y Brown 2004).

El objetivo del presente trabajo fue realizar una evaluación del comportamiento reológico de premezclas formuladas con harina de trigo y almidón resistente tipo II destinadas a la elaboración de panificados saludables.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Materiales**

Para todos los ensayos se empleó harina de trigo 000 comercial (Molino Campodónico S.A., Argentina) (HT) y almidón resistente tipo II Hi-Maize® (Ingredion Ltd., EEUU) (HM). Las premezclas fueron formuladas utilizando un esquema de reemplazo de HT por HM en porcentajes del 0, 10, 20 y 30% en base HT (Control, HM10, HM20 y HM30, respectivamente), conteniendo todas un 2% de NaCl (Celusal, Argentina) en base HT o mezcla HT-HM, según corresponda.

### Métodos

### Ensayos farinográficos

Para determinar la absorción farinográfica de agua (A), así como la calidad panadera de la HT y las premezclas, se empleó un farinógrafo de Brabender de 300 g de capacidad (Duisburg, Alemania). Los ensayos se realizaron de acuerdo al método AACC 54-21.01 (2000). El parámetro A fue obtenido de preensayos en los cuales se buscó la cantidad de agua necesaria para alcanzar una consistencia de 500 UB para cada muestra. Los parámetros extraídos de los farinogramas fueron el tiempo de desarrollo (B), estabilidad y ablandamiento. Todos los ensayos fueron realizados por duplicado.

## Preparación de las masas

Los parámetros farinográficos absorción de agua y tiempo de desarrollo fueron empleados para la elaboración de las masas. El parámetro A se utilizó como la cantidad óptima de agua para el amasado mientras que el parámetro B se utilizó como tiempo de amasado. Para la elaboración, los ingredientes secos se mezclaron durante 1 min en amasadora planetaria (Kenwood, Italia), y posteriormente se adicionó agua destilada a 4°C, la cual fue agregada lentamente durante el primer minuto de amasado. El agua se agregó fría con la finalidad de asegurar que las masas no superarían los 30°C durante el amasado, ya que, durante el mismo, la masa va elevando progresivamente su temperatura debido a la fricción entre las paletas de la amasadora y el bollo de masa. Las masas así obtenidas se cubrieron con papel film y se dejaron reposar 10 min antes de realizar los ensayos reológicos.

### Reología oscilatoria de pequeña deformación

Se prepararon discos de masa de 30 mm de diámetro y 2 mm de espesor, los cuales fueron evaluados en un reómetro Haake RS 600 (ThermoScience, Alemania) equipado con un sistema de platos paralelos aserrados con una separación de 1,5 mm. La muestra fue colocada en el equipo dejando un período de 15 min de reposo en la posición de medida para permitir la relajación y termostatización de la masa. Los bordes de la

muestra fueron cubiertos con vaselina líquida para evitar variaciones por deshidratación de la masa durante la medida. Todos los ensayos fueron realizados a 25°C. Para la determinación del rango de viscoelasticidad lineal (RVL) se realizó un barrido de esfuerzos a una frecuencia constante de 1 Hz. Para la obtención de los espectros mecánicos se realizaron barridos de frecuencia con un esfuerzo constante de 5 Pa (valor dentro del RVL determinado previamente). Las variables evaluadas fueron el módulo elástico (G'), el módulo viscoso (G'') y la tangente del ángulo de desfasaje (tan  $\delta$ ). Los espectros mecánicos fueron realizados sobre dos masas preparadas en forma independiente y con cada una de ellas se realizaron 3 determinaciones.

## Análisis del perfil de textura

Discos de masa de 3 mm de diámetro y 10 mm de espesor fueron evaluados en texturómetro TA.XT2i TextureAnalyzer (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) utilizando una sonda de 75 mm de espesor. Los discos se comprimieron en dos ciclos hasta un 40% de su altura original. Los parámetros extraídos de los perfiles de textura fueron dureza, consistencia, cohesividad, adhesividad, elasticidad, resiliencia y gomosidad. Cada formulación se preparó por duplicado y sobre cada una de ellas se evaluaron 16 discos.

#### Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor con test de homogeneidad de varianzas de Levene y test de Fisher LSD para la comparación de medias entre muestras ( $\alpha = 0,05$ ). Además, se realizó un análisis de correlación de Pearson entre los resultados de los diferentes ensayos. Para realizar el análisis se utilizó el software OriginPro 8 SR0 v8.0724 (Northampton, EEUU).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Absorción de agua y parámetros farinográficos

Los ensayos farinográficos permitieron obtener el valor de absorción de agua tanto para la HT como para las diferentes premezclas. Como se puede ver en la **Tabla 1**, el valor de absorción correspondiente a la harina sola (HT) se reduce cuando se adiciona sal (premezcla Control). Sin embargo, a medida que se incorporan concentraciones crecientes de HM, las premezclas requieren mayor cantidad de agua para alcanzar la misma consistencia, como fue reportado por Fu et al. (2008). Este efecto podría encontrarse relacionado con una mayor capacidad de absorción de agua del HM respecto al almidón presente en la harina de trigo y también a que varían en las premezclas las cantidades relativas de las diferentes fracciones almidonosas así como también la proporción de almidón dañado (Nindjin et al. 2011, Ma et al. 2016), el grado de cristalinidad (Démé et al. 2015) y la granulometría (Muñoz et al. 2015).

Los valores de tiempo de desarrollo disminuyeron para los niveles altos de reemplazo de HT por HM, lo cual se atribuiría a una menor cantidad total de proteína capaz de formar la red. Con respecto a la estabilidad, se observó un marcado aumento con el agregado de sal (premezcla control) respecto a la HT, lo cual se vincula con un mayor entrecruzamiento de la red de gluten favorecido por la presencia de sal (Ukai et al. 2008). Sin embargo, la incorporación de HM produce una caída progresiva en este parámetro. Esto podría deberse a un efecto de dilución de la red de gluten cuando se reemplaza HT por HM, ya que hay menor cantidad de proteína formando la red, la cual además sería más débil. En este mismo sentido, se observó como el ablandamiento de la masa de la formulación Control se reduce drásticamente respecto a la HT con la incorporación de sal, mientras que se incrementa marcadamente al aumentar los niveles de HM.

Tabla 1. Parámetros farinográficos

| Muestra | Absorción de agua (ml/100 | Tiempo de desarrollo | Estabilidad    | Ablandamiento   |
|---------|---------------------------|----------------------|----------------|-----------------|
|         | g)                        | (min)                | (min)          | (UB)            |
| HT      | $58.8 \pm 0.3^{b}$        | $10 \pm 1^{\rm b}$   | $21 \pm 1^{c}$ | $32 \pm 6^{a}$  |
| Control | $55,4 \pm 0,8^{a}$        | $10 \pm 1^{\rm b}$   | $30 \pm 3^{d}$ | $19 \pm 8^{a}$  |
| HM10    | $58,2 \pm 0,2^{b}$        | $9\pm2^{ab}$         | $22 \pm 2^{c}$ | $30 \pm 1^{a}$  |
| HM20    | $60,3 \pm 0,3^{c}$        | $7 \pm 0^{a}$        | $16 \pm 2^{b}$ | $57 \pm 13^{b}$ |
| HM30    | $63,1 \pm 0,4^{d}$        | $7 \pm 0^{a}$        | $12 \pm 0^a$   | $85 \pm 11^{c}$ |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P < 0.05; n = 2)

### Reología oscilatoria y perfil viscoelástico

Los barridos de esfuerzo obtenidos se muestran en la **Figura 1**. Éstos permitieron determinar que el RVL de todas las masas se extiende hasta los ~7 Pa y, en todos los casos, los valores de G' se encuentran por encima de los valores de G'', denotando un carácter viscoelástico más ligado al comportamiento sólido como fue

reportado también por Altuna et al. (2016). Se observó, además, que el aumento en la concentración de HM conlleva un incremento progresivo de ambos módulos desde el control hasta HM30.

Dados los RVL obtenidos, se empleó un esfuerzo de corte constante de 5 Pa para realizar los espectros mecánicos de las muestras. En ellos se pudo ver un aumento de los módulos con la frecuencia y una tendencia similar a la encontrada en los barridos de esfuerzo: el módulo G' siempre prevaleció por encima de G''.

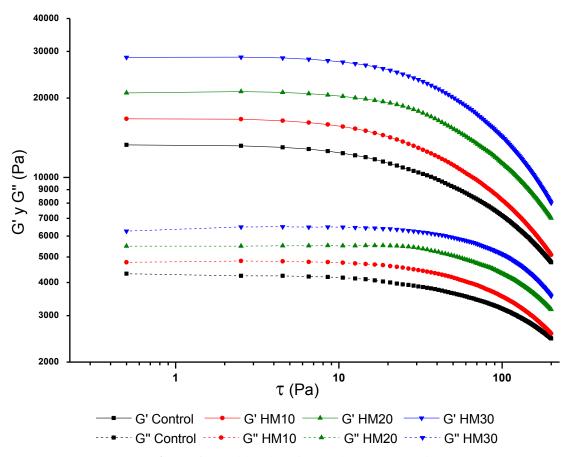
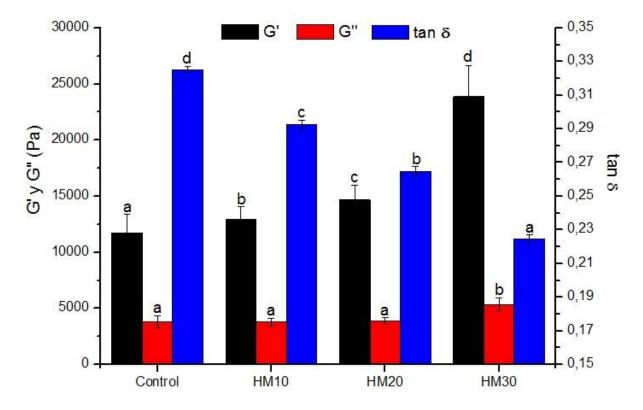


Figura 1. Barridos de esfuerzo de masas panarias.

Los valores de G', G'' y de la tan  $\delta$  fueron obtenidos a 1 Hz para su comparación y análisis (**Figura 2**). Se encontró que el módulo elástico de la masa aumentó progresivamente al incrementar la concentración de HM de las premezclas. En cambio, el módulo viscoso no mostró este comportamiento y sólo HM30 exhibió valores de G'' mayores a las demás formulaciones. Resultados similares fueron encontrados por otros autores al utilizar almidón resistente tipo 2 en masa panaria (Ahmed et al. 2013, Altuna et al. 2016). Estas modificaciones se reflejaron también en los valores de la tan  $\delta$ , la cual mostró un efecto de la concentración de HM utilizado, siguiendo la tendencia de G' pero de forma invertida, ya que la tan δ se obtiene de la relación entre G'' y G'. El aumento del módulo elástico con la concentración de HM y la leve variación del módulo viscoso a bajas concentraciones de este ingrediente estarían indicando que la incorporación de almidón resistente tipo 2 aporta a la masa características más asociadas a un sólido, lo cual podría estar relacionado con la forma granular del almidón (no gelatinizado). La tan δ correlacionó negativamente con la absorción de agua farinográfica (r = -0.9990), posiblemente debido al efecto combinado de la mayor absorción de agua por parte del HM y su contribución como carga sólida a la matriz de la masa. Asimismo, también se encontró una correlación positiva importante entre la tan  $\delta$  y la estabilidad farinográfica (r =(0.9763) y una negativa con el ablandamiento (r = -0.9856). Esto podría atribuirse a la dilución de la red de gluten y la mayor proporción de gránulos de almidón incluidos en la matriz, capaces de obstaculizar la formación de la red, debilitándola.

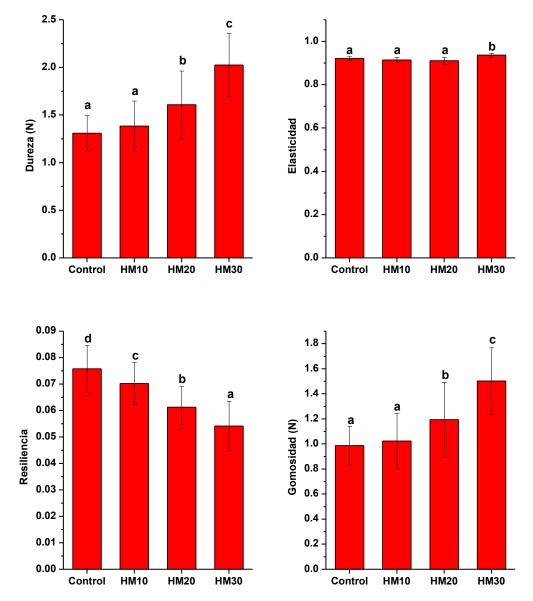


**Figura 2.** Parámetros reológicos de masas panarias con diferentes niveles de HM. Letras diferentes en columnas del mismo color indican diferencias significativas (P < 0.05).

### Perfil de textura

Los perfiles de textura de las masas permitieron extraer los parámetros dureza, consistencia, cohesividad, adhesividad, elasticidad, resiliencia y gomosidad, algunos de los cuales son mostrados en la **Figura 3**. En las masas con elevados niveles de reemplazo (HM20 y HM30) se observó un aumento marcado y progresivo en la dureza y la gomosidad respecto al control, aunque el reemplazo del 10% no produjo modificaciones significativas en estos parámetros. Al realizar el análisis de correlación de Pearson, se encontró que la dureza y el ablandamiento correlacionaron positivamente con la absorción de agua farinográfica y G'; y negativamente con la tan  $\delta$ . Esto podría deberse a la combinación de dos fenómenos: un efecto de dilución de las proteínas del gluten al realizar el reemplazo de HT por HM y una posible competencia por el agua entre los gránulos de HM y los demás componentes de la harina. Esta situación impediría al gluten desarrollar sus características viscoelásticas regulares.





**Figura 3**. Parámetros texturales obtenidos por TPA. Letras diferentes indican diferencias significativas (P< 0,05).

La consistencia tuvo un comportamiento similar a la dureza, aumentando progresivamente de  $8,27 \pm 1,50$  N.s (Control y HM10) a  $9,12 \pm 1,32$  y  $9,88 \pm 1,14$  N.s con reemplazos del 20 y 30%, respectivamente, correlacionando positivamente con el ablandamiento (r = 0,9722). La adhesividad no se modificó con un reemplazo del 10% respecto al Control ( $3,56 \pm 0,80$  N.s), pero fue mayor para HM20 y HM30 ( $4,46 \pm 0,97$  N.s).

Por otro lado, aunque el empleo de HM dio lugar a una leve disminución en la cohesividad de las masas no se observó un efecto de la concentración utilizada de este ingrediente  $(0,754 \pm 0,018 \text{ y } 0,739 \pm 0,035 \text{ para el}$  Control y las muestras HM, respectivamente). Asimismo, esta pequeña disminución de la cohesividad probablemente no lleve a modificaciones trascendentes en la masa al momento de panificar. Con respecto a la elasticidad de la masa, se observó un pequeño aumento para HM30, siendo HM10 y HM20 similares al control. Finalmente, se encontró un efecto de la concentración de HM utilizada en la resiliencia, la cual disminuyó fuertemente tras la incorporación de HM. Además, este parámetro correlacionó negativamente con la absorción de agua (r = -0,9914) y con el ablandamiento (r = -0,9912), y positivamente con el tiempo de desarrollo, la estabilidad y la tan  $\delta$  (r = 0,9570; r = 0,9797 y r = 0,9922, respectivamente). Dado que la resiliencia se relaciona con la recuperación instantánea de la forma de la masa luego de la aplicación de un

esfuerzo, su disminución podría deberse a un fenómeno conjunto causado por la presencia de menos red de gluten (efecto de dilución) la cual además se encontraría obstaculizada mecánicamente por los gránulos de almidón a nivel microestructural. Estos resultados relacionados con las características elásticas de las masas parecerían contradictorios con los encontrados al realizar los ensayos con reómetro oscilatorio. Cuando las masas fueron sometidas a pequeñas deformaciones (dentro del rango de viscoelasticidad lineal) mostraron en todos los casos un mayor comportamiento elástico, tal como está demostrado por el incremento de G' con la concentración de HM. Sin embargo, éstas masas al ser sometidas a mayores deformaciones (en este caso, un 40% de compresión) no son capaces de responder a la misma del mismo modo que la formulación control, lo cual pone en evidencia la formación de una red de gluten más débil.

En general, se encontró que el reemplazo del 20 y 30% de HT por HM produjo masas más duras, consistentes, adhesivas y gomosas, disminuyendo asimismo la resiliencia, especialmente en HM30. En cambio, un reemplazo del 10% no implicó grandes modificaciones respecto a la masa control.

En todos los casos las modificaciones reológicas, estarían fuertemente vinculadas al efecto de dilución de las proteínas del gluten y al cambio en el perfil de absorción de agua en presencia de HM, principalmente en niveles altos de reemplazo, como lo demuestran las correlaciones con los parámetros reológicos y texturales.

### **CONCLUSIONES**

El empleo de almidón resistente tipo 2 como fuente de fibra prebiótica en formulaciones para panificados saludables produjo modificaciones de las masas a nivel reológico. En general, las premezclas con almidón resistente requirieron mayor cantidad de agua para la formación de la masa. Sin embargo, las mismas fueron más duras, principalmente aquellas con concentraciones más elevadas de almidón resistente. Los cambios observados se relacionaron principalmente con variaciones en los perfiles de absorción de agua de las premezclas y con el aumento de la carga sólida que implicó la incorporación de gránulos de almidón en detrimento de la cantidad total de gluten. A pesar de las modificaciones, fue posible en todos los casos obtener masas panarias que, conteniendo niveles importantes de fibra, presentaron características texturales adecuadas para su manipulación.

### BIBLIOGRAFÍA

AACC. 2000. Farinograph method for flour 54-21.01. En: AACC International approved methods. AACC International. 1-7.

Ahmed J, Almusallam AS, Al-Salman F, AbdulRahman MH, Al-Salem E. 2013. Rheological properties of water insoluble date fiber incorporated wheat flour dough. LWT - Food Science and Technology, 51(2): 409–416.

Altuna L, Ribotta PD, Tadini CC. 2016. Effect of a combination of enzymes on the fundamental rheological behavior of bread dough enriched with resistant starch. LWT - Food Science and Technology, 73: 267–273.

Araya H, Lutz M. 2003. Alimentos funcionales y saludables. Revista Chilena de Nutrición, 30: 8-14.

Asp NG. 1992. Resistant Starch. En: Proceedings from the 2nd plenary meeting of EURESTA: European FLAIR Concerted Action No. 11 on physiological implications of the consumption of resistant starch in man. Preface. European Journal of Clinical Nutrition 46: Suppl2: S1-148.

Augustin LS, Franceschi S, Jenkins DJ, Kendall CW, La Vecchia C. 2002. Glycemic index in chronic disease: a review. European Journal of Clinical Nutrition, 56: 1049–1071.

Brand-Miller JC. 2003. Glycemic load and chronic disease. Nutrition Reviews, 61: S49–S55.

Démé F, Peuvrel-Disdier E, Vergnes B. 2015. Loss of crystalline structure and swelling kinetics of maize starch and flour granules in glycerol excess: The role of the envelope structure. Industrial Crops and Products, 70: 149–157.

FAO/WHO. 1998. The Role of Carbohydrates in Nutrition: Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Paper, 66: 1–129.

Fu L, Tian J, Sun C, Li C. 2008. RVA and Farinograph Properties Study on Blends of Resistant Starch and Wheat Flour. Agricultural Sciences in China, 7(7): 812–822.

Juárez M, Mariné A. 2008. Ingredientes funcionales. En: Serrano-Ríos M, Mateos JA. Nutrición y Alimentación. Nuevas perspectivas. 1ª ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. pag 233-252.

Juárez Iglesias M, Perote Alejandre A. 2010. Alimentos saludables y de diseño específico. Alimentos funcionales. 1ª ed. Madrid: International Marketing and Communications. pag 210.

Larrañaga IJ, Carballo Fernandez M, Rodríguez MM. 1997. Dietética y dietoterapia. España: Mac Graw-Hill Interamericana. pag 408.

Lezcano EP. 2011. Productos panificados: cadenas alimentarias. Alimentos Argentinos, 26–38. En: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/revista/ediciones/51/productos/r51\_06\_Panificados.pdf Ma S, Li L, Wang X, Zheng X, Bian K, Bao Q. 2016. Effect of mechanically damaged starch from wheat flour on the quality of frozen dough and steamed bread. Food Chemistry, 202: 120–124.

McClearly BV, Brown IL. 2004. Novel dietary fibers: the importance of carbohydrates in the diet. Journal of AOAC International, 87: 681.

Muñoz LA, Pedreschi F, Leiva A, Aguilera JM. 2015. Loss of birefringence and swelling behavior in native starch granules: Microstructural and thermal properties. Journal of Food Engineering, 152: 65–71.

Nindjin C, Amani GN, Sindic M. 2011. Effect of blend levels on composite wheat doughs performance made from yam and cassava native starches and bread quality. Carbohydrate Polymers, 86(4): 1637–1645.

Ukai T, Matsumura Y, Urade R. 2008. Disaggregation and Reaggregation of Gluten Proteins by Sodium Chloride. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(3): 1122–1130.

### **AGRADECIMIENTOS**

A Claudio Segato, de Ingredion Inc., por la donación del almidón resistente utilizado en este trabajo, a Molinos Río de La Plata S.A. por facilitar el uso del farinógrafo, a la ANPCyT, el CONICET y la UNLP por el financiamiento a través de subsidios para la investigación.



## Rendimiento quesero: su predicción como una herramienta para evaluar el proceso de elaboración de queso Sardo Argentino

BaccifavaR.<sup>1</sup>, Kivatinitz S. C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Ing. Química- GIDAIQ, Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Villa María, Villa María, Córdoba, Argentina – rubenbaccifava@hotmail.com

<sup>2</sup>Dpto. Química Biológica-CIQUIBIC, Facultad de CienciasQuímicas-Universidad Nacional de Córdoba.Dirección de e-mail: skivatinitz@gmail.com

### RESUMEN

No existe consenso acerca de una manera única y correcta para predecir el rendimiento en la elaboración de queso a partir de la composición de la leche y del queso. Las ecuaciones disponibles se basan en un balance de masa de componentes que incluyen coeficientes de transferencia y/ o retención de un componente en el queso o suero, sin considerar las desviaciones provocadas por las condiciones de procesamiento, siendo estas tan complejas y diversas que hacen imposible desarrollar un modelo matemático que incluya factores fisicoquímicos, tecnológicos y humanos. Se estudió el rendimiento quesero de queso Sardo Argentino provistos por una planta industrial situada en Villa María (Córdoba, Argentina). Se modeló una red neuronal para predicción de rendimiento, con los datos de composición de la leche y cantidades de insumos utilizados, comparando el rendimiento real y el predicho. Se probó la capacidad de predicción del modelo de redes neuronales y su aplicación a nivel industrial, al menos para este caso particular. Finalmente, se logró contar con un rendimiento predicho que permite evaluar el desempeño global del proceso de fabricación mediante su comparación con el rendimiento real, permitiendo definir acciones de control para el proceso y al mismo tiempo, proveer información para la mejora continua del proceso.

Palabras Clave: rendimiento quesero, composición láctea, redes neuronales, control de procesos.

### **ABSTRACT**

There is no consensus concerning the correct way to predict cheese yield from milk and cheese composition. The equations available are based on a mass balance of the components, regardless of the deviations caused by the processing conditions, these being so complex and diverse that make it impossible to develop a mathematical model able to include them. In this work, the yield of the Argentinian Sardo cheese was studied with data from elaborations made in the industrial plant located in Villa María (Córdoba, Argentina). A neural network to predict this yield was modeled with input data from milk composition and quantities used to compare the actual performance and the predicted one. The predictive capacity of the neural network model and its application to industrial level were tested, at least for this case. Finally, a predicted yield value capable of assessing the overall performance of the manufacturing process compared to real performance was obtained, allowing to define actions for the control process, and at the same time provides information for continuous process improvement.

**Keywords**: Cheese yield, milk composition, neural network, process control.

### INTRODUCCIÓN

Para los fabricantes de quesos, optimizar el rendimiento no debería significar solamente recuperar la máxima cantidad posible de los componentes de la leche (materia grasa, MG, sólidos no grasos, SNG, entre éstos las proteínas, PR), sino también poner en práctica estrategias eficaces y eficientes para satisfacer sus propósitos, los de sus clientes y los de sus proveedores, principalmente los productores de leche. Es decir, aplicar la definición de "calidad" como la definida por la norma ISO 9000 (2015): La facultad de un conjunto de características inherentes de un producto, sistema o proceso para cumplir con los requisitos de los clientes y de otras partes interesadas.

De esa manera, a la optimización del rendimiento no se la considera como un tópico aislado y eminentemente tecnológico, sino que adquiere su sentido más amplio y profundo cuando se le considera como un asunto interrelacionado integralmente con los atributos de calidad del queso y con la visión de un negocio sustentable a mediano y largo plazo.

La tarea de optimizar el rendimiento podría reducirse a un esquema simplificado de búsqueda de tecnología para aumentar la relación humedad/ proteína en los quesos. Para lo cual, optimizar el rendimiento en la elaboración de quesos es un reto que consiste esencialmente en maximizar la cantidad y la calidad, a la vez, como un todo (Emmons et al. 2003, Dalla Costa2012).

Una vez que los requerimientos de los clientes han sido traducidos en especificaciones que se encuadran con las del Código Alimentario Argentino (Capítulo VII, Art. 637) y luego de definir especificaciones propias de producto (calidad de las materias primas e insumos y procedimientos operacionales), se debe reducir la variación; es decir, mantener una calidad estable en el tiempo (CAA, SAGPyA y SPRyRS,2006).

Una característica particular en la elaboración de quesos, consiste en que independientemente de la tecnología empleada (asociada generalmente al sector al que pertenezca la empresa: PyME o grande), conserva siempre aspectos artesanales en alguna instancia del proceso que son difíciles de eliminar con la incorporación de tecnología, o bien el costo de ésta lo hace inviable económicamente Inda Cunningham (2000).

En toda empresa siempre existen variaciones en el proceso productivo, introducidas por el personal y su forma de trabajar, relacionadas con los aspectos artesanales de la elaboración arriba mencionados, las materias primas (particulares y estacionales)(Gilles1985, Lawrence 1996, Pécora et al. 2008), el funcionamiento de los equipos, el medio ambiente físico y las condiciones psicológicas del personal, las mediciones de costos, o los controles de laboratorio y de rendimientos (Alais, 1985, Vicente Madrid, 1999). Estas variaciones influyen en la calidad final de los productos y en su variabilidad, poniendo en evidencia la complejidad para definir calidad en una empresa elaboradora de quesos (Lolkema1993) y demostrando que mantener y minimizar su variabilidad en el tiempo es una tarea aún más compleja.

Integrar una herramienta que mejore la predicción del rendimiento con el control estadístico del proceso, permitiría controlar la variabilidad del proceso a través de la posibilidad de establecer indicadores (AENOR, 2003) que contemplen el rendimiento predicho y los rendimientos reales, y de este modo permitir analizar y resolver las causales de estas desviaciones en una segunda instancia (Jimenez-Marquez2002).

En el presente trabajo se pretende evaluar y aplicar herramientas estadísticas y de modelado de redes neuronales a la industria quesera, particularmente para el queso tipo sardo.

Las redes de neuronas artificiales (denominadas habitualmente artificial neural network, ANN, o, en español, RNA) son un paradigma de aprendizaje y procesamiento automático inspirado en la forma en que funciona el sistema nervioso de los animales. Se trata de un sistema de interconexión de neuronas que colaboran entre sí para producir un estímulo de salida, en base a un aprendizaje previo y las variables de entrada. En inteligencia artificial es frecuente referirse a ellas como redes de neuronas o redes neuronales (Bose yLiang 1996).

Como principal objetivo del trabajo se plantea determinar la capacidad de una red neuronal artificial (ANN) para predecir el rendimiento de producción de queso sardo considerando aspectos fisicoquímicos y permitir una mejora en la evaluación del desempeño del proceso, mediante la comparación entre el rendimiento real obtenido y el predicho por ANN.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Materiales**

El objeto de estudio de esta investigación fue el rendimiento en la elaboración de queso (RQ) en dicho proceso.

Las unidades de análisis fueron elaboraciones de queso obtenidas de una planta industrial de la zona de Villa María.

Como se desprende de este trabajo exploratorio, existe un número significativo de variables dependientes que determinan el rendimiento quesero. A los fines prácticos, se consideró el conjunto de variables continuas relacionadas a la calidad de la materia prima empleada es decir, la composición química de aquellos componentes de la leche que tienen incidencia sobre el rendimiento quesero

Se seleccionaron 1526 datos de elaboración de queso sardo, extraídos de los registros de elaboración de la planta industrial, en el período 2006-2015, periodo que no refleja cambios significativos en el proceso ya que se dispone del mismo equipamiento como se evidenció en las entrevistas con la responsable técnica de la planta.

Se realizó un tratamiento sobre los datos originales de composición de leche, efectuando un análisis de las variables %MG, %PR, %SNGy RQ Real. Se realizó el cálculo de los límites de control inferior (LCI) y el límite de control superior (LCS), tomando un intervalo de confianza de  $\pm \sigma$  (**Tabla 1**).

**Tabla 2**. Variables y límites de controlpara la composición de leche

| Dimensión                    | Promedio | Desv.Est. | LCI     | LCS     |
|------------------------------|----------|-----------|---------|---------|
| Materia Grasa [% p/p]        | 2,2041   | 0,15069   | 2,05338 | 2,35475 |
| Proteínas Totales [% p/p]    | 3,2484   | 0,14213   | 3,10627 | 3,39053 |
| Sólidos No Grasos [% p/p]    | 8,7514   | 0,22461   | 8,52678 | 8,97600 |
| Rendimiento Real [kg/100 kg] | 7,7103   | 0,00487   | 7,70543 | 7,71516 |

El subconjunto de datos originales (DO), se depuró y se descartaron elaboraciones fuera de los respectivos intervalos de confianza definidos para cada dimensión. Los datos depurados (DD), quedando reducido a un total de 1211 elaboraciones, del conjunto de datos DD, se seleccionaron los 1000 primeros elementos a los que se llama datos de partida (DP) y se realizó una mezcla aleatoria de los datos, con el fin de evitar posibles tendencias en el tiempo, ya que los datos fueron procesados en forma correlativa y corresponden a un período largo de tiempo (**Tabla 2**).

Tabla 3. Resumen de los conjuntos de datos

| Conjunto de datos              | Sigla | Cantidad |
|--------------------------------|-------|----------|
| Datos Originales               | DO    | 1526     |
| Datos Depurados                | DD    | 1211     |
| Datos de Partida               | DP    | 1000     |
| Subconjunto DP p/Entrenamiento | DP-E  |          |
| Subconjunto DP p/Validación    | DP-V  |          |

## Metodología

Los datos composicionales fueron analizados en el laboratorio del establecimiento y están disponibles en los registros de producción. El rendimiento de elaboración de queso se determinó en kg de queso/ 100 kg de leche, peso determinado a momento de salir del proceso de salado.

Luego se procedió a modelar una ANN y se seleccionó el modelo que mejor predice el rendimiento quesero.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Relevamiento del conjunto de datos del proceso

La complejidad de variables que intervienen con mayor o menor peso sobre el rendimiento quesero hace que los modelos actuales posean una simplicidad que no se corresponde con las dimensiones que definen el rendimiento quesero, principalmente los aspectos referidos al proceso de elaboración. El empleo de un parámetro difícil de predecir como lo es el RQ, para la evaluación y seguimiento de un proceso, a través del rendimiento real y el predicho, que se obtiene en cada lote de producción puede ocasionar dificultades al momento de evaluar la eficiencia de un proceso, pudiendo en muchos casos arribar a conclusiones erróneas.

Como se mencionó, existen muchos factores que afectan el rendimiento quesero y se podrían reunir en grupos, según la característica principal a la que se refieren, a continuación, se detallan los principales.

Referidos a la materia prima: materia grasa, proteínas y fracción de caseína (dato no disponible), lactosa (no disponible), cenizas (no disponible), cuajo y fermentos empleados y proceso de estandarización. Algunas de estas variables están analizadas por el laboratorio de calidad de la propia planta industrial y se encuentran detallados para cada lote de producción, otras variables se encuentran disponibles pero no con la frecuencia que se requiere, sólo son ensayos puntuales.

Referidos al proceso de elaboración en tina: operario, tamaño del grano, temperatura de coagulación, pH Inicial, Cantidad de Cl<sub>2</sub>Ca empleado, punto final de la coagulación, aspectos relativos al diseño de la herramienta de corte, velocidad de agitación, tamaño de grano alcanzado.

Referidos al proceso de terminación: condiciones prensado (tiempo, presión, temperatura, etc.), condiciones salado (concentración, tiempo, pH y temperatura), condiciones de maduración (tiempo, temperatura y humedad).

A partir de lo anterior, se realizó una revisión de los datos disponibles asociados a cada lote de producción, el modo de cómo se llevan a cabo las elaboraciones y una revisión de la tecnología disponible entrevistando los responsables de la planta.

Se recopilaron datos disponibles de la materia prima empleada de cada lote de producción, a saber: Volumen de leche empleada [L], Materia Grasa [MG, % p/p], Proteínas [PR,% p/p], SNG [%,p/p], Cantidad de Cuajo [L] y CaCl<sub>2</sub>[kg], Peso de Producto final [kg].

## Variación de los rendimientos queseros en función de los componentes químicos de la leche

El análisis estadístico de datos apareados de rendimiento quesero en función de materia grasa, proteínas, lactosa y sólidos totales, mostró una correlación significativa con proteínas, materia grasa y con sólidos totales, como se muestra en la

**Tabla 4**. Se observó claramente una dependencia fuerte con proteínas y SNG como se observa en la **Figura 1**, y en menor medida con MG.

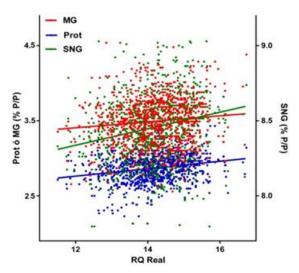


Figura 1. Correlación RQ vs MG, PR y SNG

Tabla 4. Correlación entre rendimiento real y variables independientes Mejores valores de ajuste %MG[p/p]%SNG [p/p] %Prot [p/p] Pendiente  $0,09285 \pm 0,009558$  $0,1008 \pm 0,02192$  $0,05567 \pm 0,009279$ Y-intersección cuando X=0,0  $1.487 \pm 0.07390$  $7,972 \pm 0,1695$  $2,820 \pm 0,07175$ X- intersección cuando Y=0.0 -16,01 -79,10 -50,65 1/Pendiente 10,77 9,923 17,96 95% Intervalo de confianza para la pendiente: Pendiente 0,07412 to 0,1116 0,05782 to 0,1437 0,03749 to 0,07386 Y-intersección cuando X=0,0 1,342 to 1,632 7,640 to 8,304 2,679 to 2,960 X-intersección cuando Y=0,0 -22,01 to -12,03 -143,6 to -53,16 -78,96 to -36,27 Coeficiente de correlación  $R^2$ 0,08640 0,02075 0,03482 Sy,x0,1438 0,3297 0,1396 Análisis del ajuste: 94,38 21,15 36,00 DFn, DFd 1,000, 998,0 1,000, 998,0 1,000,998,0 Valor P < 0,0001 < 0,0001 < 0,0001 Desviación de cero Significativo Significativo Significativo

Datos:

| Cantidad de valores X | 1000 | 1000 | 1000 |  |
|-----------------------|------|------|------|--|

### Implementación de algoritmo en MATLAB

Para correlacionar y predecir el rendimiento quesero utilizando un modelo ANN se codificaron los siguientes archivos:

A:Un archivo de Excel que contiene las variables independientes: %MG, %SNG, %PR, Cantidad de Cuajo y Calcio

**B:**Un archivo de Excel que contiene la variable dependiente: Rendimiento quesero

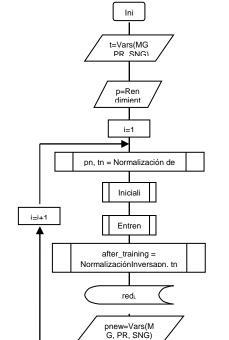
C:Un código de MATLAB que consta de cinco bloques, cada bloque contiene dos partes: una sección de entrenamiento y otra sección de predicción.

En la sección de entrenamiento el programa lee los datos de entrada (los dos archivos de Excel), define la arquitectura, define la función de entrenamiento de la red y se generan las matrices de peso y las matrices de ponderación, para luego almacenar los datos para la predicción.

En la sección de predicción del programa, se carga la configuración de la red entrenada y el archivo de Excel que contiene las concentraciones de Materia Grasa, Sólidos No Grasos y Proteínas, y luego los resultados se almacenan en un archivo de salida.

La

Figura 2 presenta un diagrama de flujo del programa desarrollado para utilizar ANN. En el mismo se detallan las conexiones entre el código de programa y los archivos de Excel que contienen la información necesaria para el entrenamiento y la predicción. Dicho diagrama es útil para una mejor comprensión del código desarrollado.





**Figura 2.** Diagrama de flujo que muestra las conexiones entre los diferentes archivos y programas que forman la ANN.

## Predicción de Rendimiento por ANN Entrenada (RQ ANN)

Se realizó el cálculo de predicción del RQ del producto Queso Sardo empleando las variables del conjunto de datos DP: MG [% p/p], SNG [% p/p], PR [% p/p], Cuajo [L], CaCl<sub>2</sub>[kg] y RQ Real.

Para ajustar la red neuronal se siguió la siguiente secuencia: (1) La cantidad de variables independientes para entrenar la red; (2) Seleccionar un modelo de ANN, (3) Definir el tamaño óptimo para el conjunto de datos (DP-A y DP-V) de entrenamiento de la red y validación de la red; (4) Determinar la topología de la mejor modelo de red neuronal y (5) Decidir la mejor función de aprendizaje para la fase de entrenamiento.

Para la evaluación del comportamiento de las distintas configuraciones de la red neuronal se evaluó el r<sup>2</sup> de un esquema de identidad donde se consideró el rendimiento real vs rendimiento predicho para el conjunto de datos DP. Se consideró que r<sup>2</sup> mayor corresponde un mejor desempeño de la configuración de ANN, Laurene (1994).

Se empleó el software MATLAB v7.2 R2011a que incluye el modelo de redes neuronales, y se creó un algoritmo que reproduce el esquema de la

Figura 2. **Definición del modelo de la ANN** 



Se procedió al análisis del modelo de red neuronal que mejor ajustase los datos disponibles. En ese sentido, la arquitectura más básica utilizada normalmente para este tipo de aplicaciones implica una red neuronal de propagación hacia atrás *feed-forward* que contiene tres capas: una capa para la matriz de entrada, una capa oculta y otra capa de salida (Zupan y Gasteiger1993). Esta arquitectura no generó buenos resultados en este caso. Por esta razón, fue necesario emplear dos capas ocultas y se evaluaron, entrenaron y optimizaron distintos modelos de redes neuronales *feed-forward*, *Elman*, *Cascade Forward Backpropagation* y *Fitnet*, (Liao2005).

Para los casos de estudio se determinó la cantidad de variables y luego el conjunto de datos de entrenamiento en una primera instancia, luego se definió la mejor estructura de la red y posteriormente se seleccionó la mejor función de entrenamiento. Para definir el proceso de entrenamiento se realizaron cinco entrenamientos sucesivos y se seleccionó el que brindaba mejor coeficiente de correlación.

### Modelo de Red: Feed-Forward

En el modelo se determinó la cantidad de variables independientes a emplear en el proceso de ajuste de la red, adoptando como valores iniciales un 80% de los datos para entrenamiento y el 20% restante para validar el modelo, adoptando inicialmente una estructura de red de n-2n-2n-1 neuronas, donde el valor n, representa la cantidad de variables independientes empleada.

En el modelo se procedió a determinar el tamaño óptimo de entrenamiento de la red, luego determinar la topología óptima de la red y la mejor función de entrenamiento (**Tabla 4**).

**Tabla 5.** Determinación de la cantidad de variables independientes

| Nº     | Topología | Coeficier | Coeficiente de correlación r <sup>2</sup> (Rendimiento Real y ANN) |         |         |         |        |  |  |
|--------|-----------|-----------|--|---------|---------|---------|--------|--|--|
| Prueba |           | Train 1   | Train 2  | Train 3 | Train 4 | Train 5 | Mejor  |  |  |
| 1      | 2x4x4x1   | 0,0041    | 0,2024   | 0,1877  | 0,1880  | 0,1770  | 0,1880 |  |  |
| 2      | 3x6x6x1   | 0,0994    | 0,2302   | 0,0390  | 0,0192  | 0,2396  | 0,2396 |  |  |
| 3      | 4x8x8x1   | 0,1727    | 0,2656   | 0,2852  | 0,3294  | 0,0772  | 0,3294 |  |  |
| 4      | 5x10x10x1 | 0,0290    | 0,3575   | 0,2416  | 0,0092  | 0,0282  | 0,3575 |  |  |

Se pudo observar que los mejores resultados se obtuvieron empleando para el entrenamiento de la red 5 con las variables independientes, que corresponden a %MG, %Pr, %SNG y Cantidad de Cuajo y Calcio empleados.

Con los parámetros que se emplearon para predecir con ANN, se realizaron pruebas con distintos tamaños para el conjunto de entrenamiento como se observa en la **Tabla 5** y mejor ajuste para el conjunto de datos DP-V corresponde a un conjunto de entrenamiento del 90%.

**Tabla 6.** Determinación del tamaño de muestra para entrenamiento

| Prueba | Tamaño de     | Co       | eficiente de | correlación r <sup>2</sup> | (Rendimien | to Real y AN  | N)       |
|--------|---------------|----------|--------------|----------------------------|------------|---------------|----------|
| Fiueba | entrenamiento | Train 1  | Train 2      | Train 3                    | Train 4    | Train 5       | Mejor    |
| 1      | 10%           | 0,00003  | 0.00574      | 0.01184                    | 0.00539    | 0.00364       | 0.01184  |
| 2      | 20%           | 0,00004  | 0.00078      | 0.00651                    | 0.00023    | 0.00058       | 0.00651  |
| 3      | 30%           | 0,02282  | 0.00051      | 0.00247                    | 0.00455    | 0.00449       | 0.02282  |
| 4      | 40%           | 0,01225  | 0.04094      | 0.00543                    | 0.00547    | 0.04037       | 0.04094  |
| 5      | 50%           | 0,06945  | 0.00795      | 0.13161                    | 0.02945    | 0.00809       | 0.13161  |
| 6      | 60%           | 0,08532  | 0.03591      | 0.16912                    | 0.00083    | 0.03472       | 0.16912  |
| 7      | 70%           | 0,01993  | 0.24165      | 0.03032                    | 0.03147    | 0.01036       | 0.24165  |
| 8      | 80%           | 0,02896  | 0.35746      | 0.24159                    | 0.00917    | 0.02818       | 0.35746  |
| 9      | 90%           | 0,42735  | 0.46885      | 0.15434                    | 0.04219    | 0.41231       | 0.46885  |
| 10     | 100%          | No se co | nsidera ya q | ue no ofrece               | modo de va | lidar la capa | cidad de |
|        | predicción    |          |              |                            |            |               |          |

Posteriormente, se analizaron distintas topologías como lo muestra la **Tabla 6**, donde, por ejemplo, en la prueba  $N^{\circ}$  9, se empleó una topología de red de 5x10x10x1, que corresponde a una estructura de 3 capas de neuronas, 5 neuronas en la capa de entrada, 2 capas ocultas con 10 neuronas y una neurona en la capa de salida.

**Tabla 6.** Determinación de la topología de la ANN

|           | Tubia of Betermination de la topologia de la |  |         |         |         |         |         |  |  |
|-----------|--|--|---------|---------|---------|---------|---------|--|--|
| Nº Prueba | Topología  | Copología Coeficiente de correlación r² (Rendimiento Real y ANN) |         |         |         |         |         |  |  |
|           | de la ANN  | Train 1  | Train 2 | Train 3 | Train 4 | Train 5 | Mejor   |  |  |
| 9         | 5x10x10x1  | 0,42735  | 0,46885 | 0,15434 | 0,04219 | 0,41231 | 0,46885 |  |  |
| 11        | 5x15x15x1  | 0,74603  | 0,17061 | 0,24770 | 0,43487 | 0,33352 | 0,74603 |  |  |
| 12        | 5x20x20x1  | 0,46365  | 0,28747 | 0,23889 | 0,12247 | 0,02835 | 0,46365 |  |  |
| 13        | 5x25x25x1  | 0,42190  | 0,42924 | 0,45394 | 0,44275 | 0,42629 | 0,45394 |  |  |
| 14        | 5x10x20x1  | 0,07137  | 0,10744 | 0,19767 | 0,08968 | 0,48780 | 0,48780 |  |  |
| 15        | 5x20x10x1  | 0,05299  | 0,45500 | 0,03936 | 0,02582 | 0,35111 | 0,45500 |  |  |

Se adopta como la función de entrenamiento "trainlm" (ecuación de *Levenberg-MarquardtBackpropagation*) ya que mejora significativamente la correlación como se puede observar en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Selección de la función de entrenamiento

| N° | Función de    | Coeficient | te de correla | ción r2 (Rend | imiento Real | y ANN)  |         |
|----|---------------|------------|---------------|---------------|--------------|---------|---------|
| Pr | Entrenamiento | Train 1    | Train 2       | Train 3       | Train 4      | Train 5 | Mejor   |
| 20 | traingda      | 0,16076    | 0,12955       | 0,15196       | 0,11544      | 0,11861 | 0,16076 |
| 21 | traincgf      | 0,28609    | 0,16997       | 0,26882       | 0,23654      | 0,23536 | 0,28609 |
| 22 | Trainrp       | 0,30448    | 0,29294       | 0,28893       | 0,34881      | 0,26842 | 0,34881 |
| 23 | Traingd       | 0,11568    | 0,12102       | 0,13076       | 0,09588      | 0,10955 | 0,13076 |
| 24 | trainscg      | 0,29173    | 0,37154       | 0,24946       | 0,31791      | 0,35373 | 0,37154 |
| 25 | traincgp      | 0,27593    | 0,30868       | 0,34408       | 0,29038      | 0,12422 | 0,34408 |
| 26 | trainoss      | 0,25067    | 0,25245       | 0,26472       | 0,26699      | 0,28811 | 0,28811 |
| 27 | traincgb      | 0,22970    | 0,28689       | 0,40782       | 0,10567      | 0,13816 | 0,40782 |
| 11 | trainlm       | 0,74603    | 0,17061       | 0,24770       | 0,43487      | 0,33352 | 0,74603 |

Posteriormente, se analizaron los rendimientos reales, y se calcularon los rendimientos predichos con el modelo de la Prueba 11, Train1 sobre el conjunto de datos DP.

Se empleó el software GraphPadPrism 5,01 para el análisis estadístico de las variables rendimiento real y rendimiento predicho por ANN11, se muestra en la **Figura 3**, y se realizó un resumen estadístico de la correlación en la Tabla 8. Es interesante destacar que la pendiente se acercó bastante al valor ideal de 1, siendo r<sup>2</sup>=0,74603. En la **Tabla 7**, se puede observar los resultados obtenidos al optimizar otros modelos de ANN.

Tabla 7. Resumen de Ajuste de RQ Real según el modelo de predicción

| Tubia 7. Resumen de 11 ju       | iste de 11Q 1tear | seguir er modero e | ie prediceion |                |
|---------------------------------|-------------------|--------------------|---------------|----------------|
| Red                             | Topología         | Tamaño             | Función de    | $\mathbf{r}^2$ |
|                                 |                   | Entrenamiento      | Entrenamiento |                |
| Feed-Forward Backpropagation    | 5x15x15x1         | 90%                | trainLM       | 0,74603        |
| Elman                           | 5x15x15x1         | 40%                | trainRP       | 0,61232        |
| Cascade Forward Backpropagation | 5x15x1            | 70%                | trainLM       | 0,57431        |
| Fitnet                          | 5x15x1            | 70%                | trainLM       | 0,57290        |



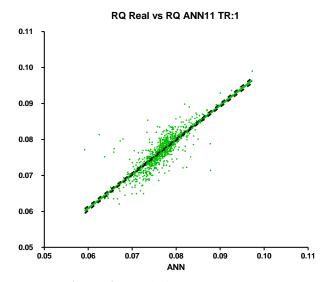


Figura 3. Rendimiento Real vs. ANN

Tabla 8. Análisis de Regresión entre RQ Real y RQ predicho por la ANN8 TR:3

| entre RQ Real y RQ predicho por | Ia ANN8 1R:3  |  |
|---------------------------------|---|--|
| Valor                           | Valor(*)  |  |
|                                 |   |  |
| $0,9543 \pm 0,01762$            | $1,001 \pm 0,0009857$   |  |
| $0,003599 \pm 0,001361$         | 0,0000  |  |
| -0,003772                       | 0,0000  |  |
| 1,048                           | 0,9992  |  |
|                                 |   |  |
| 0,9197 to 0,9888                | 0,9989 to 1,003   |  |
| 0,0009317 to 0,006267           |   |  |
| -0,006813 to -0,0009423         |   |  |
|                                 |   |  |
| 0,7460                          |   |  |
| 0,002400                        | 0,002407  |  |
|                                 | $1,001 \pm 0,0009857$   |  |
| 2932                            |   |  |
| 1,000, 998,0                    |   |  |
| < 0,0001                        |   |  |
| Significativa                   |   |  |
| $0,9543 \pm 0,01762$            |   |  |
| $0,003599 \pm 0,001361$         |   |  |
|                                 |   |  |
| 1000                            | 1000  |  |
|                                 | $0,9543 \pm 0,01762$ $0,003599 \pm 0,001361$ $-0,003772$ $1,048$ $0,9197 \text{ to } 0,9888$ $0,0009317 \text{ to } 0,006267$ $-0,006813 \text{ to } -0,0009423$ $0,7460$ $0,002400$ $2932$ $1,000,998,0$ $< 0,0001$ Significativa $0,9543 \pm 0,01762$ |  |

(\*) Ajuste forzando línea de regresión a pasar por el origen.



### **CONCLUSIONES**

El análisis estadístico de datos de rendimiento quesero en función de las variables adoptadas para el modelado de composición de la materia prima, materia grasa, proteínas, lactosa, sólidos totales, mostró una correlación significativa con proteínas, materia grasa y con sólidos totales (

Tabla 4. Correlación entre rendimiento real y variables independientes).

Se optimizaron modelos de predicción basados en una ANN, y se demostró su aptitud para obtener predicciones precisas de la dimensión Rendimiento Quesero (r²=0,7463 para el mejor modelo neuronal).

El modelo desarrollado utiliza datos disponibles en cualquier planta, ya que no es necesario contar con datos físico-químico composicionales que pueden no estar disponibles en la misma, y además permite incorporar otro tipo de variables de interés a nivel industrial como fueron el volumen de cuajo y cantidad de cloruro de calcio que mejoraron el modelo de predicción.

Finalmente, se logró contar con un rendimiento predicho que permite evaluar el desempeño global del proceso de fabricación mediante su comparación con el rendimiento real, lo cual da lugar al establecimiento de acciones de control para el desarrollo del proceso, y al mismo tiempo provee información para la toma de decisiones en el entorno industrial.

### **BIBLIOGRAFÍA**

AENOR-UNE: 66175. 2003. Sistemas de gestión de la calidad. Guía para la implantación de sistemas de indicadores. Madrid, España.

Alais C. 1985. Ciencia de la Leche. Barcelona: Editorial Reverté S.A.

Aytug H, Lawley M, McKay K, Mohan S, y Uzsoy R. 2005. Executing production schedules in the face of uncertainties: A review and some future directions. European Journal of Operational Research, 161: 86–110. Bose NK, y Liang P. 1996. Neural Networks Fundamentals with Graphs, Algorithms. 2 a ed. New York. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.

CAA, SAGPyA, y SPRyRS. 2006.Código Alimentario Argentino. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación.

Dalla Costa CA. 2012. Rendimiento Quesero Teórico y Real de la Leche de la Cuenca de Villa María, Córdoba. Tesis de posgrado: Magister en tecnología de los alimentos. Córdoba: http://pa.bibdigital.uccor.edu.ar/665/1/Tesis\_RQ\_Final\_CDC\_15\_IMPRIMIR.pdf.

Emmons DB, Dubé C, and Modler HW. 2003. Transfer of Protein from Milk to Cheese. Journal of dairy science, 86(2): 469-485.

Fausett L. 1994. Fundamentals of neural networks. Architectures, algorithms and applications. New Jersey. USA. Prentice-Hall.

Gilles J. 1985. The yield of cheese. New Zealand of Dairy Science and Technology, 20: 205-214.

Inda CunninghamAE. 2000. Optimización del Rendimiento y Aseguramiento de Inocuidad en quesos. Campestre, México: Organización de los Estados Americanos.

Jimenez Marquez SA, Lacroix C, and Thibault J. 2002. Statistical data validation methods for large cheese plant database. Journal of Dairy Science, 85(9): 2081-2097.

Liao SH. 2005. Expert system methodologies and applications—a decade review from 1995 to 2004. Expert Systems with Applications, 28: 93–103.

Lolkema H. 1993. Factors affecting the yield of cheese., in Factors affecting the yield of cheese. Inter. Dairy Federation: Brussels: D.B Emmonds Editor.

Madrid VA. 1999, Tecnología Quesera. Editorial AMV. Ediciones Mundi-Prensa.

Pécora RP, Gon G, Dalla Costa CA, Hantis Dy Kivatinitz SC. 2008. Variación anual de la composición química de la leche de vaca de la cuenca lechera de Córdoba, Argentina. CESIA-CIBSA, M.R.y.J. ZALAZAR.

Zupan, J, y Gasteiger J. 1993. Neural Networks for Chemists. New York: VCH Publishers.



## El análisis de imágenes como herramienta de monitoreo en la deshidratación de banana Baima, J.S.<sup>1</sup>, Ribotta, P.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Superior de Investigación, Desarrollo y Servicios en Alimentos (ISIDSA). UNC. Juan Filloy s/n. Ciudad Universitaria. 5000. Córdoba.

Dirección de e-mail: jose.sebastian.baima@gmail.com

### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios morfométricos, fractales y de color durante la deshidratación de rodajas de banana mediante el uso de análisis de imágenes. El secado convectivo se realizó entre 75 y 134°C a una velocidad de aire promedio de 0,65 m/s. Los resultados mostraron que las imágenes tomadas proporcionaron información cuantitativa de los cambios morfométricos (reducción de área y circularidad, y aumento del perímetro) por efecto de los tratamientos térmicos. El análisis de la textura fractal detectó cambios en la intensidad de los pixeles, indicando que las superficies resultaron más complejas e irregulares a medida que disminuyó el contenido de humedad del producto. La dimensión fractal de contorno (DF<sub>cont</sub>) aumentó con el tiempo de secado. En relación al color del producto seco, los parámetros a\* y b\* aumentaron, mientras que la Luminosidad (L\*) disminuyó, lo cual está asociado al oscurecimiento de las rodajas e influenciado por el aumento de la temperatura. Las micrografías determinaron la presencia de poros que fueron aumentando en cantidad cuando incrementó la temperatura. El análisis de imágenes puede ser empleado como herramienta de monitoreo debido a su versatilidad, bajo costo, rapidez de respuesta, además de no ser una técnica destructiva.

Palabras clave: deshidratación, banana, análisis de imágenes

### **ABSTRACT**

The objective of this work was to evaluate the morphometric, fractal and color changes during the dehydration of banana slices through the use of image analysis. The convective drying was performed between 75 and 134 °C at an average air velocity of 0,65 m/s. The results showed that the images taken provided quantitative information of the morphometric changes (area and circularity reduction, and perimeter increase) due to the effect of thermal treatments. The analysis of the fractal texture detected changes in the intensity of the pixels, indicating that the surfaces were more complexes and irregular as the moisture content of the product decreased. The fractal dimension of the contour (FD<sub>cont</sub>) increased over drying time. Regarding the color of the dried product, the parameters a\* and b\* increased, whereas the lightness (L\*) decreased, which is associated with the darkening of the slices and influenced by the increase of the temperature. The micrographs determined the presence of pores that were increasing in quantity when the temperature increased. Image analysis can be used as a monitoring tool because of its versatility, low cost, speed of response, in addition to being a non- destructive technique.

**Keywords:** dehydration, banana, image analysis

### INTRODUCCIÓN

La banana es una de las frutas más consumida a nivel mundial y la alta preferencia de los consumidores se atribuye a su sabor dulce y agradable. La FAO coloca al banano en el quinto lugar en la lista de cultivos de mayor producción mundial después de los principales cereales (maíz, arroz, trigo y cebada). A pesar de ser un importante cultivo en climas tropicales, su producción alcanza a más de 120 países (SAGyP 2011).

Dentro de los nutrientes que aporta podemos mencionar a la vitamina C y vitaminas del complejo B, además de poseer un alto contenido de potasio, algo inusual entre las frutas. El problema que presenta es su alta susceptibilidad al deterioro por su importante contenido en agua y azúcares. Desde el punto de vista biológico, la banana es una de las frutas que presenta las mayores pérdidas por descomposición después de la cosecha ya que es extremadamente perecedera y no permite el uso de la congelación para su conservación (Fernandes et al. 2006). Su preservación puede reducir estas pérdidas y aumentar la disponibilidad de la oferta mundial de alimentos (Baini y Langrish 2007). La deshidratación es una forma de aprovechar este producto para conservarlo por un periodo de tiempo mayor. El secado convencional con aire caliente es el método más antiguo utilizado en la conservación de alimentos y ha sido ampliamente aplicado para el secado

de bananas (Pan et al. 2008). La técnica de análisis de imágenes es una herramienta muy importante y novedosa en los procesos de producción de alimentos ya que permite valorar cambios que ocurren durante un proceso en base a las características que se extraen desde las imágenes. El objetivo de este trabajo fue analizar el proceso de deshidratación de rodajas de banana mediante análisis de imágenes y geometría de fractales y relacionar los resultados con la cinética de secado y el desarrollo de color.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

## Materia prima y preparación de las muestras

Se trabajó con bananas de la marca Banana Tropical de origen ecuatoriano y variedad *Cavendish*. La madurez se determinó de acuerdo a la escala de Von Loesecke con grado de maduración 5 (fruto amarillo con puntas verdes). Las frutas fueron peladas y se trabajó con la parte central (descartando los extremos) y luego se cortaron en rebanadas de 3 mm de espesor con un utensilio rebanador de cocina. Las muestras se sumergieron en una solución con 10 g/L de ácido ascórbico y 10 g/L ácido cítrico durante 1 minuto antes del secado lo cual fue adoptado sobre la base de una práctica utilizada en la industria alimentaria según describe Pan et al. (2008).

### Equipo de secado

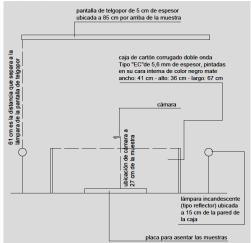
Las rodajas fueron deshidratadas en horno por convección forzada Philco HE-PH40W. Los rangos de temperatura fueron: T1 (mín. 75 – máx. 86°C), T2 (mín. 93 – máx. 99°C) y T3 (mín. 127 – máx. 134°C). Se analizaron cuatro lotes por cada temperatura, considerando a cada lote una bandeja con 35 rodajas. Posteriormente se analizaron dos lotes más. Los tiempos de secado se muestran en la **Tabla 1**.

**Tabla 1**. Esquema de tiempos de secado para cada temperatura.

| Temperatura |   | Tiempo (min) |    |    |    |    |     |     |     |     |    |
|-------------|---|--------------|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|----|
| T1          | 0 | 15           | 30 | 45 | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 | 210 |    |
| T2          | 0 | 10           | 15 | 20 | 25 | 30 | 35  | 40  | 50  | 60  | 65 |
| Т3          | 0 | 5            | 10 | 15 | 20 | 25 | 28  | 30  |     |     |    |

## Adquisición y análisis de imágenes

Las imágenes se obtuvieron con cámara digital Panasonic Lumix, modelo DMC-TZ3. La **Figura 1** muestra un diagrama de los objetos intervinientes en la toma de imágenes. Las fotografías se tomaron sin flash, sin zoom, con autodisparador y en modo macro. Se trabajó con ajustes en "modo fino" que prioriza la calidad de la imagen en comparación con el modo standard. Las imágenes RGB en formato de archivo JPG se analizaron con el programa ImageJ versión 1.49m. La microestructura de los snacks se analizó por microscopia electrónica de barrido (SEM).



**Figura 1.** Diagrama de objetos intervinientes en la toma de imágenes.

### Análisis morfométrico

Se analizaron 15 rodajas de cada lote. Se aplicó análisis de imágenes para determinar cambios morfométricos de: área, perímetro, circularidad y Diámetro de Feret. El área es el número total de pixeles que cae dentro del contorno del elemento, multiplicado por el área de un pixel. El perímetro representa el número total de pixeles pertenecientes al contorno del objeto. La circularidad expresa la similitud del objeto comparado con un referente perfectamente circular. Varía entre cero y uno, siendo uno un círculo perfecto. El Diámetro de Feret es un descriptor quese define como la mayor distancia de separación entre dos pixeles tomados a orientaciones diferentes y permite evaluar encogimiento. Las imágenes se convirtieron a 8-bits (0 negro, 255 blanco) creando una imagen binaria que permitió obtener los cuatro parámetros mencionados.

#### Análisis fractal

Se tomaron 5 rodajas por cada lote y se seleccionó un área de interés de 87 x 255 pixeles que abarcó desde un extremo al otro de cada rodaja, pasando por la parte central. Se utilizó la *Matriz de Co-ocurrencia* en escala de grises (GLCM) para determinar las características de textura superficial a partir de imágenes en escala de grises. Este algoritmo de segundo orden considera la relación entre parejas de pixeles. Se utilizaron cuatro parámetros texturales (**Tabla 2**), de los catorce que se puede obtener según Haralick et al. (1973).

Tabla 2. Ecuaciones de los parámetros texturales del algoritmo de GLCM.

| Parámetro textural |  |     |
|--------------------|--|-----|
| Energía (ASM)      | $\sum_{i,j=0}^{N-1} P_{i,j}^2$                 | (1) |
| Contraste (Con)    | $\sum_{i,j=0}^{N-1} P_{i,j} (i-j)^2$           | (2) |
| Homogeneidad (IDM) | $\sum_{i,j=0}^{N-1} \frac{P_{i,j}}{1+(i-j)^2}$ | (3) |
| Entropía (Ent)     | $\sum_{i,j=0}^{N-1} -P_{i,j} \ln P_{(i,j)}$    | (4) |

Siendo, i,j las intensidades de nivel de gris de cada uno de los pixeles que forman la pareja, comprendidos entre 0 (negro) y 255 (blanco); N es el número de niveles de gris posibles (256 en una fotografía de 8 bits);  $P_{i,j}$  es la probabilidad de aparición de la pareja de pixeles con intensidades de gris i y j respectivamente, a una distancia de separación entre pixeles igual a 1 y con un ángulo de desplazamiento de  $0^{\circ}$ .

La Energía (ASM, Angular Second Moment) es una medida de la homogeneidad local de una imagen. Presenta altos valores cuando la frecuencia de aparición de las parejas de pixeles en la matriz de coocurrencia tiene la misma intensidad de nivel de gris. El Contraste (Con) es una medida de la variación local del nivel de gris. Aumenta a medida que el nivel de gris de la pareja de pixeles se aleja hacia los extremos de la escala en una imagen de 8 bits. La Homogeneidad (IDM, Inverse Difference Moment) es una medida de la diferencia en la intensidad de gris entre pixeles vecinos. La Entropía (Ent) es una variable que está relacionada con el orden o desorden que tiene una imagen y es usada para caracterizar la textura de las imágenes. Imágenes complejas tendrán altos valores de entropía (Mendoza et al. 2007).

El Algoritmo Modificado de Conteo Diferencial de Cajas (SDBC) permitió determinar la dimensión fractal de textura de las imágenes. La dimensión fractal es posible utilizarla para caracterizar la textura de las superficies y expresarla como una medida de la rugosidad o irregularidad que presenta la superficie de una imagen (Quevedo et al. 2008). Este algoritmo se calculó sobre un gráfico de intensidad de superficie generado a partir de los pixeles de la imagen 2 D en escala de grises (coordenadas x,y) y su intensidad en el eje z. La configuración del tamaño de las cajas se consideró como "automático" que es la opción predeterminada por el programa ImageJ y comprendió tamaños de caja entre 10 y 50 pixeles. El valor de la DF<sub>sup</sub> es la pendiente de la relación logarítmica del número de cajas (log N) en función del logaritmo del tamaño de las cajas (log r) (Ecuación 5). Los valores de dimensión fractal oscilan entre 2 y 3. Las superficies lisas, sin rugosidad, presentan valores numéricos próximos a 2 (DF<sub>sup</sub>>2), mientras que las superficies

altamente rugosas presentan un incremento en los valores de la dimensión fractal (Santacruz-Vazquez et al. 2008).

$$DF_{sup} = \frac{\log(N)}{\log(\frac{1}{r})}$$
 (5)

La dimensión fractal de contorno ( $DF_{cont}$ ) permitió determinar cuan irregular fue el borde de las rodajas. Cuanto más irregular sea el contorno del objeto mayor será su  $DF_{cont}$ . Se trabajó con 5 rodajas por lote – las mismas que se utilizó en GLCM – tomando un "crop" de 368 x 379 pixeles que abarcaba la rodaja completa.

## Análisis de color y pardeamiento de las rodajas

Se trabajó con el submenú Color Inspector 3D (v2.3) dentro del menú Plugins del ImageJ, seleccionando el espacio de color CIELab a partir del cual se obtuvieron los parámetros L\*, a\* y b\*. Se tomaron 5 crops (87 x 255 pixeles) y se realizó un promedio de color de los pixeles de la imagen, resultando en una superficie de una sola tonalidad a partir de la cual se obtuvieron los parámetros. Los resultados se presentan como el promedio de los 5 "crops". La diferencia de color (ΔΕ, Ecuación 6) se utilizó para describir el cambio de color de las rodajas durante el secado (Maskan 2000). Esta ecuación tiene en cuenta el cambio en cada uno de los colores descrito por los parámetros L\*, a\* y b\*, y puede ser más aplicable que los tres parámetros de color de forma individual para evaluar el efecto de las condiciones de secado en plátanos (Baini y Langrish 2009, Atares et al. 2011).

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

L\* representa la Luminosidad (L\*= 0, negro y L\*= 100, blanco), a\* indica la posición entre verde y rojo (valores negativos indican verde mientras que valores positivos indican rojo) y b\* indica la posición entre azul y amarillo (valores negativos indican azul mientras que valores positivos indican amarillo). L\* $_0$ , a\* $_0$  y b\* $_0$  corresponde a valores iniciales, mientras que L\*, a\* y b\* corresponde a los tiempos de secado (**Tabla 1**).

El índice de pardeamiento (BI, "Browning Index") representa la pureza del color marrón y se ha reportado como un importante parámetro en procesos donde el pardeamiento enzimático y no enzimático tiene lugar (Palou 1999). Se calculó utilizando la Ecuación 7.

$$BI = \frac{100 (x - 0.31)}{0.172}$$
 (7)

donde:

$$x = (a + 1,75L^*)/(5,645L^* + a^* - 3,012b^*)$$
 (8)

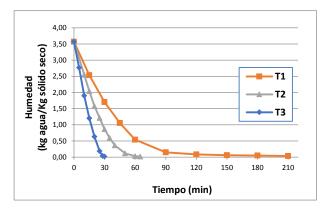
### Análisis estadístico

Se utilizó el software estadístico InfoStat (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba) con el cual se analizaron los datos obtenidos mediante análisis de varianza (ANOVA). Los resultados fueron comparados con el método DGC y las diferencias significativas fueron consideradas cuando p<0,05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Contenido de humedad inicial de las rodajas frescas

En la **Figura 2** se muestran las curvas de humedad de los diferentes tratamientos de secado. La humedad inicial de las muestras frescas de *Musa cavendish* fue de 78,11%, lo que equivale a 3,568 kg agua/ kg sólido seco. Similares contenidos de humedad inicial fueron informados por otros autores (Chua et al. 2001, Leite et al. 2007).



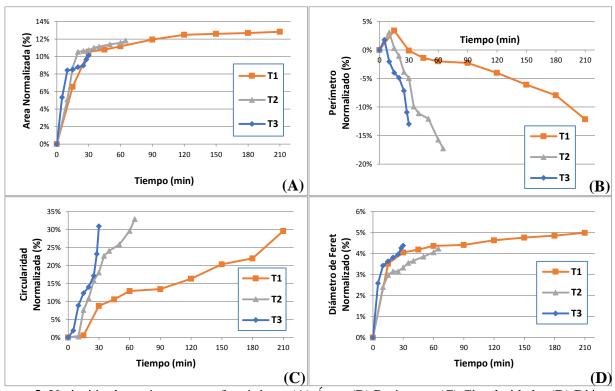
**Figura 2**. Contenido de humedad en función del tiempo de secado a diferentes temperaturas.

Se encontró que los cambios en el contenido de humedad en función del tiempo de secado fueron diferentes para las distintas temperaturas, ya que cuanto mayor fue la temperatura del aire, más rápidamente se secó el producto y más corto fue el tiempo de procesamiento (Boudhrioua et al. 2002).

### Análisis de parámetros morfométricos

La Figura 3 muestra la variación de los parámetros morfométricos. El área inicial promedio de las rodajas estuvo comprendida en el rango de 6,85 a 7,42 cm<sup>2</sup>. La temperatura del aire provocó encogimiento fenómeno esperado en este tipo de procesos – resultando en un área final entre 6,16 y 6,47 cm<sup>2</sup>. Durante el secado convectivo, el agua que se elimina produce un desequilibrio entre la presión interna del material y la presión externa, generando tensiones de contracción que dan lugar a la contracción o al colapso del material, cambios en la forma y ocasionalmente el agrietamiento del producto (Mayor y Sereno 2004). La reducción de área en T1 fue mayor (13%) debido a que la deshidratación fue más lenta y provocó un efecto de contracción más acentuado. Por el contrario, cuando la deshidratación fue rápida (T2 y T3) la estructura se rigidizó más rápido y mostró menor encogimiento y por consecuencia mayor área de rodaja. El perímetro presentó bordes bien definidos al inicio del secado y valores, entre 10,05 y 10,48 cm. En los primeros minutos, se observó una leve disminución (aumento del valor normalizado) que acompañó a la reducción del área provocada por efecto de la temperatura, pero manteniendo bordes lisos y bien delimitados. Posteriormente, la deshidratación produjo deformaciones sobre el contorno de la fruta y el perímetro fue aumentando significativamente (p<0,05), con cambios influenciados por la temperatura de secado, resultando en valores finales entre 11,35 y 12,29 cm. Por otra parte, la circularidad de las rodajas frescas pasó de valores altos al inicio del secado (0,84-0,86) a una reducción comprendida entre un 30-33% que originó una forma alargada en el producto seco como consecuencia de deformaciones en la estructura de la fruta debido a los procesos térmicos. También estuvo influenciado por la temperatura de secado, ya que en T3 la pérdida de circularidad ocurrió rápidamente con tiempos de procesamiento considerablemente menores. El Diámetro de Feret disminuyó demostrando que la estructura de la fruta cambió y que el agua eliminada provocó el encogimiento de las rodajas durante el secado.





**Figura 3**. Variación de parámetros morfométricos: (A) Área, (B) Perímetro, (C) Circularidad y (D) Diámetro de Feret.

### Análisis fractal

La variación de la energía y la homogeneidad en función del tiempo de secado se muestra en la **Figura 4**. El análisis GLCM determinó que la Energía (ASM) y la Homogeneidad (IDM) mostraron tendencias similares, disminuyendo ambas en función del tiempo de secado. Los altos valores encontrados al inicio del tratamiento (rodajas frescas, t = 0 min) se debieron a que en las imágenes de 8 bits hubo una alta similitud entre las parejas de pixeles, con una escasa diferencia en los tonos de gris que presentaban. Además, al estar uniformemente distribuidas y con una alta frecuencia de aparición, reflejaban una superficie de características lisa, uniforme y homogénea. Durante la deshidratación, se modificó la textura superficial de la rodaja, ocasionada por la evaporación de agua, y la uniformidad textural comenzó a decaer, reflejado en pixeles que presentaban distinta intensidad en sus niveles de gris. En el secado de discos de manzana realizado por Fernández et al. (2005) se encontró que la disminución de la homogeneidad se debió a la pérdida en la homogeneidad textural de las muestras.

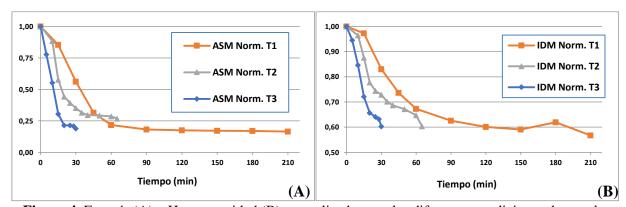


Figura 4. Energía (A) y Homogeneidad (B) normalizadospara las diferentes condiciones de secado.

La **Figura 5** muestra que los valores de Entropía (Ent) y Contraste (Con) aumentaron a medida que avanzó el secado. La entropía es un parámetro opuesto a la energía y como tal manifestó un comportamiento

contrario. Su aumento dejó en evidencia que los snacks presentaron imágenes complejas respecto de las imágenes tomadas a las rebanadas frescas. A su vez, y como sucedió con otros parámetros, una mayor temperatura de secado aceleró el cambio de entropía. En el contexto del procesamiento de imágenes, este aumento reflejó que las parejas de pixeles presentaron un desorden en la distribución de los niveles de gris que aportó información de lo ocurrido en el secado y mostró, como se puede observar visualmente, que las rodajas adquirieron una superficie menos uniforme y de textura compleja. Los altos valores entrópicos se evidencian por la elevada propagación de pixeles de variada intensidad y en forma uniforme sobre la imagen espectral (Park y Chen 2001), demostrando un mayor desorden y deformación superficial consecuencia del proceso de deshidratación. Por otra parte, el contraste mostró un comportamiento bien definido en cada temperatura. La pendiente de la gráfica manifiesta la rapidez con la que cambió este parámetro. Al igual que la homogeneidad, el contraste es una medida de la variación local del nivel de gris de pixeles vecinos, por lo que su aumento se atribuyó a la diferente intensidad que presentan los pixeles de la imagen. Este cambio está asociado al cambio de color en la superficie de las rodajas durante el secado, con pixeles que presentaban intensidad de gris más cercana a cero (aumento del negro), lo cual significó un mayor oscurecimiento provocado por el pardeamiento de las muestras.

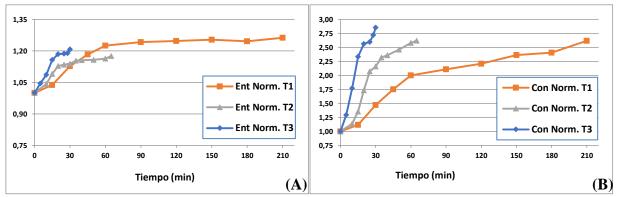


Figura 5. Entropía (A) y Contraste (B) normalizados para las diferentes condiciones de secado.

En la **Tabla 3** se muestra la correlación de Pearson entre la humedad y los parámetros fractales. Los resultados indicaron que los coeficientes tuvieron una alta correlación y demostraron que cambios en la humedad del producto están fuertemente asociados a cambios en los parámetros fractales. La disminución de la humedad durante el secado modificó el ordenamiento y la intensidad de los pixeles en las imágenes analizadas por GLCM, lo que hizo posible seguir la deshidratación por análisis de imágenes, hasta obtener valores en donde el producto llegó a su humedad de equilibrio y en consecuencia al tiempo final de secado.

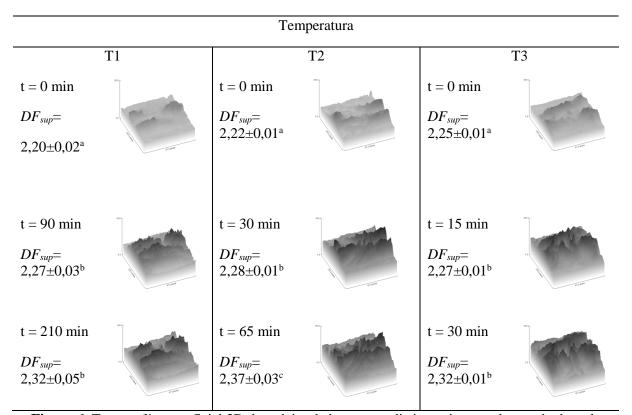
**Tabla 3**. Correlación de Pearson entre humedad y parámetros fractales.

|    |         | Humedad | ASM   | Con   | IDM   | Ent  |
|----|---------|---------|-------|-------|-------|------|
| T1 | Humedad | 1,00    |       |       |       |      |
|    | ASM     | 0,99    | 1,00  |       |       |      |
|    | Con     | -0,96   | -0,94 | 1,00  |       |      |
|    | IDM     | 0,98    | 0,98  | -0,98 | 1,00  |      |
|    | Ent     | -0,99   | -1,00 | 0,96  | -0,99 | 1,00 |
|    | Humedad | 1,00    |       |       |       |      |
|    | ASM     | 0,96    | 1,00  |       |       |      |
| T2 | Con     | -0,98   | -0,94 | 1,00  |       |      |
|    | IDM     | 0,98    | 0,97  | -0,99 | 1,00  |      |
|    | Ent     | -0,97   | -0,99 | 0,95  | -0,98 | 1,00 |
| Т3 | Humedad | 1,00    |       |       |       |      |
|    | ASM     | 0,98    | 1,00  |       |       |      |
|    | Con     | -0,99   | -0,99 | 1,00  |       |      |
|    | IDM     | 0,99    | 0,98  | -1,00 | 1,00  |      |
|    | Ent     | -0,99   | -0,99 | 1,00  | -1,00 | 1,00 |

En todos los casos los valores de p<0,01.

## Dimensión fractal de superficie (DF<sub>sup</sub>)

En la **Figura 6** se muestran los valores de  $DF_{sup}$  en distintos tiempos de secado de cada temperatura. El análisis de textura fractal detectó cambios en la intensidad de los pixeles indicando que la superficie de la banana resultó más rugosa e irregular a medida que disminuyó su contenido de humedad (p<0,05). Al inicio del secado, la  $DF_{sup}$  estuvo comprendida entre 2,20 y 2,25, asociado a una menor complejidad topográfica expresada por las diferencias de los niveles de grises de los pixeles, y, por lo tanto, atribuidos a una superficie de características más lisa y homogénea.



**Figura 6**. Topografía superficial 3D de rodajas de banana en distintos tiempos de secado de cada temperatura.

La transferencia de calor durante el secado provocó la disminución de la humedad en el producto y sugirió cambios a nivel superficial. Estas modificaciones provocaron un aumento de la complejidad superficial, fenómeno marcado por un comportamiento no uniforme o fractal. Los valores finales estuvieron comprendidos entre 2,32 y 2,37. La DF<sub>sup</sub> y la entropía fueron parámetros que presentaron un comportamiento opuesto a la energía y la homogeneidad. La relación entre ambos señaló que el efecto de la temperatura provocó un cambio en la complejidad superficial del producto que pudo ser demostrado por análisis de textura de imágenes.

### Dimensión fractal de contorno (DF<sub>cont</sub>)

La **Figura 7** muestra como cambió la DF<sub>cont</sub> en los tratamientos térmicos. Las rodajas de banana fresca se caracterizaron por presentar un contorno más liso y sin alteraciones, con valores más cercanos a la unidad (forma circular). La variación de este parámetro dependió de cada tratamiento. Las muestras sometidas a condiciones de menor temperatura (T1) no mostraron cambios significativos en su contorno (p>0,05), mientras que, las rodajas de banana sometidas a condiciones de temperaturas más altas (T2 y T3) presentaron bordes irregulares y sinuosos a lo largo del secado (p<0,05). Estos resultados no coincidieron con los informados por Santacruz-Vázquez et al. (2010), quienes describieron menores valores de DF<sub>cont</sub> para condiciones de secado más rápidas (mayor temperatura). Lo que sugiere que las velocidades de deshidratación tienen gran influencia en las características de los productos obtenidos.

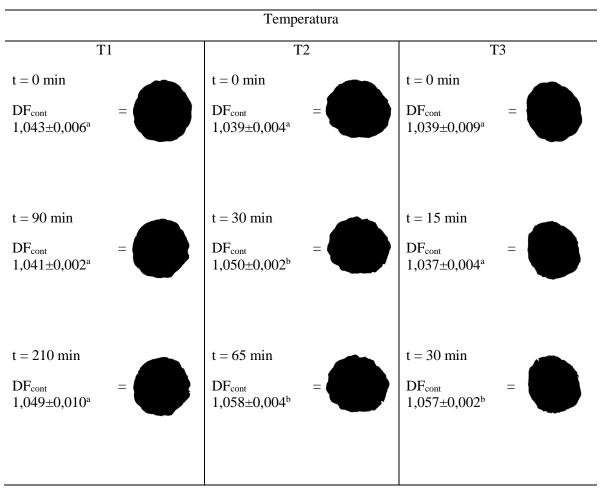
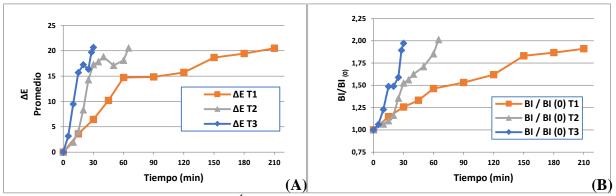


Figura 7. Imágenes binarias obtenidas durante el secado y sus valores de DF<sub>cont</sub>.

#### Análisis de color

La **Figura 8A** muestra que la diferencia de color (ΔE) aumentó desde el inicio del secado debido al cambio de tonalidad en la superficie de la rodaja. Como un índice de evaluación importante, el color en cierta medida puede reflejar el efecto de la temperatura sobre los materiales (Romano et al. 2008). A pesar de conseguir valores similares cuando finalizó el secado, la condición de más alta temperatura (T3) mostró que el desarrollo de color fue rápido debido al corto tiempo de procesamiento de estas muestras. Por su parte, el índice de pardeamiento aumentó en función del tiempo y la temperatura de proceso (**Figura 8B**). El color de las rodajas de banana fue ligeramente amarillo antes del secado y se convirtió en marrón después del secado (Thuwapanichayananet al. 2011). Inicialmente este índice estuvo comprendido entre 46,02±3,74 y 55,54±2,56, pero aumentó su valor ni bien comenzó la deshidratación. Al igual que con el cambio de color, la velocidad de pardeamiento del snack fue más rápida en la temperatura más alta (T3). El comportamiento bien definido en cada una de las temperaturas guardó relación con el aumento del contraste, ya que ambos parámetros están referidos al oscurecimiento del material. Cuando finalizó el secado, los valores obtenidos estuvieron comprendidos entre 90,94±12,91 y 105,85±3,78.





**Figura 8**. Diferencia de color  $\Delta E$  (A) e Índice de pardeamiento normalizado (B) para las tres temperaturas de secado.

# Microestructura del producto

En la **Figura 9** se muestran las imágenes SEM de los snacks de banana. Una mayor temperatura de deshidratación incrementó la temperatura de la muestra y generó gradientes de presión en su interior. Estos provocaron un fuerte movimiento de la humedad que aumentó la porosidad del producto. La disminución de la humedad en la etapa final del secado provoca un rápido aumento en la porosidad (Aprajeeta et al. 2015). Los poros obtenidos presentaron formas irregulares y su distribución en las rodajas no siguió un patrón de referencia. Algunos de estos llegaron a superar los 200 micrómetros.

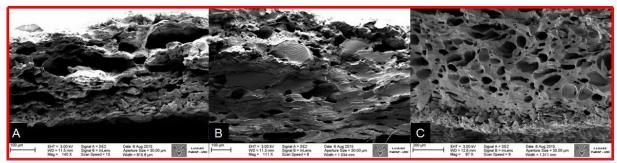


Figura 9. Micrografías SEM de los snacks de banana. A) T1, B) T2 y C) T3.

#### **CONCLUSIONES**

El análisis de imágenes permitió evaluar los cambios ocurridos durante el secado de rodajas de banana, lo que facilitó el control del proceso y la determinación de los tiempos de secado, mostrando una alta correlación con la pérdida de humedad. La condición de menor temperatura (75 – 86°C) representó una alternativa viable ya que es menos agresiva sobre los tejidos de la fruta y ofreció cambios graduales en los distintos parámetros evaluados.

#### BIBLIOGRAFÍA

Aprajeeta A, Gopirajah R, Anandharamakrishnan C. 2015. Shrinkage and porosity effects on heat and mass transfer during potato drying. Journal of Food Engineering, 144: 119-128.

Atares L, Sousa Gallagher MJ, Oliveira FAR. 2011. Process conditions effect on the quality of banana osmotically dehydrated. Journal of Food Engineering, 103: 401-408.

Baini R, Langrish TAG. 2007. Choosing an appropriate drying model for intermittent and continuous drying of bananas. Journal of Food Engineering, 79: 330-343.

Baini R, Langrish TAG. 2009. Assessment of colour development in dried bananas – measurements and implications for modeling. Journal of Food Engineering, 93: 177–182.

Boudhrioua N, Michon C, Cuvelier G, Bonazzi C. 2002. Influence of ripeness and air temperature on changes in banana texture during drying. Journal of Food Engineering, 55: 115-121.

Chua KJ, Mujumdar AS, Hawlader MNA, Chou SK, Ho JC. 2001. Batch drying of banana pieces – effect of stepwise change in drying air temperature on drying kinetics and product colour. Food Research International, 34: 721-731.

Fernandes FAN, Rodrigues S, Gaspareto OCP, Oliveira EL. 2006. Optimization of osmotic dehydration of bananas followed by air-drying. Journal of Food Engineering, 77: 188-193.

Fernández L, Castillero C, Aguilera JM. 2005. An application of image analysis to dehydration of Apple discs. Journal of Food Engineering, 67: 185-193.

Haralick RM, Shanmugam K, Dinstein I. 1973. Textural Features for Image Classification. IEEE Systems, Man and Cybernetics Society, 3: 610-621.

Leite JB, Mancini MC, Borges SV. 2007. Effect of drying temperature on the quality of dried bananas cv. Prata and d'água. Food Science and Technology, 40: 319-323.

Maskan M. 2000. Microwave/air and microwave finish drying of banana. Journal of Food Engineering, 44: 71–78.

Mayor L, Sereno AM. 2004. Modelling shrinkage during convective drying of food materials: a review. Journal of Food Engineering, 61: 373-386.

Mendoza F, Dejmek P, Aguilera JM. 2007. Colour and image texture analysis in classification of commercial potato chips. Food Research International, 40: 1146-1154.

Palou E, Lopez-Malo A, Barbosa-Canovas GV, Welti-Chanes J, Swanson BG. 1999. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. Journal of Food Science, 64: 42-45.

Pan Z, Shih C, Mchugh TH, Hirschberg E. 2008. Study of banana dehydration using sequential infrared radiation heating and freeze-drying. Food Science and Technology, 41: 1944-1951.

Park B, Chen YR. 2001. Co-occurrence matrix texture features of multi-spectral images on poultry carcasses. Journal of Food Agricultural Engineering Research, 78: 127-139.

Quevedo R, Mendoza F, Aguilera JM, Chanona J, Gutiérrez G. 2008. Determination of senescent spotting in banana (Musa cavendish) using fractal texture Fourier image. Journal of Food Engineering, 84: 509-515.

Romano G, Baranyai L, Gottschalk K, Zude M. 2008. An approach for monitoring the moisture content changes of drying banana slices with laser light backscattering imaging. Food and Bioprocess Technology, 1: 410-414.

Santacruz-Vázquez V, Santacruz-Vázquez C, Welti-Chanes J, Farrera-Rebollo RR, Alamilla-Beltrán L, Chanona-Pérez J, Gutiérrez-López GF. 2008. Effects of air-drying on the shrinkage, surface temperatures and structural features of apples slabs by means of fractal analysis. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 7: 55-63.

Santacruz-Vázquez V, Santacruz-Vázquez C, Huerta-Espinosa VM. 2010. Evaluación del encogimiento y deformación de uvas durante su deshidratación por fluidización usando el análisis fractal. Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales, 23: 61-66.

Secretaria de Agricultura, Ganaderia y Pesca de Argentina. Revista Alimentos Argentinos 2011. Dirección de Agroalimentos.

Thuwapanichayanan R, Prachayawarakorn S, Kunwisawa J, Soponronnarit S. 2011. Determination of effective moisture diffusivity and assessment of quality attributes of banana slices during drying. Food Science and Technology, 44: 1502-1510.



Uso de expeller de soja para la obtención de un ingrediente funcional conteniendo *Lactobacillus casei* Castellanos Fuentes A.<sup>1</sup>, Flores S.<sup>1,2</sup>, de Escalada Pla M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Industrias, FCEN-UBA, Intendente Güiraldes 2160, CABA, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Miembro de la Carrera del Investigador del CONICET

Dirección de e-mail: marina@di.fcen.uba.ar

#### **RESUMEN**

De acuerdo a la normativa vigente en Argentina, se entiende por subproductos oleaginosos, a los residuos sólidos resultantes de la extracción industrial del aceite de granos oleaginosos. El objetivo del trabajo fue aprovechar el expeller de soja como sustrato/soporte de bacterias probióticas. Se aplicó la metodología de superficie de respuesta para estudiar la influencia de las variables tamaño de partícula (157,50; 393,75 y 630,00 μm), la cantidad de agua (2,0; 3,5 y 5,0 ml de agua/g de expeller seco), y de suero de queso (0,0; 0,2 y 0,4 g suero/g expeller seco) sobre el pH, la acidez total y la viabilidad celular del *L. casei*. El suero de queso fue el único factor que mostró un efecto significativo (p<0,05) y positivo sobre el recuento de células viables, lo que significa que su presencia es necesaria para el crecimiento de los probioticos. Por otro lado, los tres factores afectaron (p<0,05) la acidez y consecuentemente el pH final. Las condiciones óptimas para maximizar el recuento de *Lactobacillus casei* y la acidez titulable, minimizando el pH resultaron: 629,99 μm, 6,0 ml de agua/g de expeller y 0,31 gramos de suero/g de expeller; correspondiéndose aproximadamente al sistema 12 del diseño experimental ensayado.

Palabras claves: expeller de soja, Lactobacillus casei, subproducto vegetal.

#### **ABSTRACT**

According to current regulations in Argentina, the oleaginous by-products are the solid waste from industrial extraction of oil from oil seeds. The aim of this work was to profit the soy by products as substrate /support of probiotic bacteria. The response surface methodology was applied to study the influence of the variables: particle size (157.50; 393.75 and 630.00  $\mu$ m), the amount of water (2.0; 3.5 and 5.0 ml water / g dry expellers), and the amount of cheese whey powder (0.0; 0.2 and 0.4 g cheese whey powder / g expellers dry), on the pH, total acidity and cell viability of *L. casei*. The amount of cheese whey powder was the only factor that showed a significant (p <0,05) and positive effect on the viable cell count, which means that their presence is necessary for the growth of probiotics. Furthermore, the three factors affected (p <0,05) the acidity and consequently the final pH. The optimum conditions to maximize *Lactobacillus casei* count and titratable acidity by minimizing pH resulted: 629.99  $\mu$ m, 6.0 ml water / g expeller and 0.31 g cheese whey powder / g expeller; and corresponded, approximately, to the system 12 tested in the experimental design.

Key words: soy by-product, Lactobacillus Casei, vegetable by-products

# INTRODUCCIÓN

La producción de poroto de soja en la Argentina para la campaña 2014/ 2015 osciló en los 60,1 millones de toneladas, cifra record a nivel histórico para nuestro país. La expansión en el agro argentino tiene estrechas vinculaciones con la evolución de las variables externas, teniendo en cuenta que prácticamente su totalidad tanto en forma de poroto, pellets, como aceite de soja se exporta hacia el resto del mundo (Strada 2016).

De la producción total, se estima que cerca de 45,5 millones de toneladas serian destinadas al complejo industrial oleaginoso. De este proceso, las plantas aceiteras en su conjunto podrían llegar a obtener cerca de 8,8 millones de toneladas de aceite de soja, que representan el 19% de 45,5 millones de Tn. de poroto triturados. Mientras que el 78% restante, 34,5 millones de toneladas corresponden a subproductos, expeller de soja, harina y pellets de bajo valor (Calzada 2016). La industria de la molienda de soja es una actividad de márgenes muy reducidos, donde la materia prima principal, el poroto, es por lejos el principal costo de la industria. La soja ha representado aproximadamente el 92% del valor del producto final entre los años 1993 y 2010 (IERAL 2011). El principal destino de los subproductos de soja, es la suplementación animal (Gallardo 2011).

Un alimento funcional puede ser un alimento natural en el que uno de sus componentes ha sido mejorado; un alimento al que se ha añadido un componente para que produzca beneficios; un alimento del cual se ha

eliminado un componente y producirá menos efectos adversos sobre la salud; un alimento en el cual alguno de sus componentes ha sido modificado químicamente para mejorar la salud; un alimento en el que la biodisponibilidad de uno o más componentes ha sido aumentada; una combinaciones de las anteriores (Olagnero et al. 2007).

El objetivo de este trabajo es aprovechar el expeller de soja para la obtención de un ingrediente funcional conteniendo microorganismos probióticos (*L. casei*). Se utilizó la metodología de superficie de respuesta a fin de evaluar los efectos de las condiciones de proceso: tamaño de partícula, cantidad de agua y cantidad de suero de queso, sobre el crecimiento de *Lactobacillus casei* (*LC*), pH y acidez total como indicadores de desarrollo de los probióticos.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Materiales**

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

#### Métodos

# Preparación del inóculo

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

# Diseño experimental y análisis estadístico.

En el presente trabajo se utilizó un diseño de Box-Behnken en el cual se estudiaron los efectos de 3 factores en 15 corridas experimentales formado por tres variables y tres niveles por cada variable (**Tabla 1**). El diseño experimental se llevó a cabo en un solo bloque y puntos centrales se realizaron por triplicado. El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante el uso del método de superficie de respuesta (RSM) en el nivel de confianza del 95%. Los datos experimentales se ajustaron a un modelo de polinomio de segundo orden, como:

$$y = a_0 + a_1 \cdot X_1 + a_2 \cdot X_2 + a_3 \cdot X_3 + a_{11} \cdot X_1^2 + a_{22} \cdot X_2^2 + a_{33} \cdot X_3^2 + a_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + a_{13} \cdot X_1 \cdot X_3 + a_{23} \cdot X_2 \cdot X_3 + \varepsilon$$

Donde "y" es la función de respuesta,  $a_0$ ,  $a_1$ ,  $a_2$   $a_3$ ,  $a_{11}$ ,  $a_{22}$ ,  $a_{33}$ ,  $a_{12}$ ,  $a_{13}$ ,  $a_{23}$  son los coeficientes,  $X_1$  es el tamaño de partícula,  $X_2$  es la cantidad de agua y  $X_3$  es la cantidad de suero, y  $\varepsilon$  como término de error aleatorio. El parámetro estadístico R-cuadrado ( $R^2$ adj) mayor que 95% y la falta de ajuste no significativa (p > 0,05) se utilizaron para informar la bondad del modelo. El diseño experimental, gráficos de respuesta, contornos de superficie de respuesta se llevaron a cabo utilizando el programa Statgraphics Centurion XV (V 02/15/06, 2007, StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE.UU.).

# Preparación de los Sistemas

El expeller fue distribuido en porciones de 1,00033±0,00032 g en tubos tipo falcon. Se prepararon 15 sistemas, mezclando 1 g de expeller de soja, agua y suero de queso deshidratado, de acuerdo al diseño experimental propuesto (**Tabla 1**). Posteriormente, se esterilizaron y se enfriaron para ser inoculados con una suspensión de *L. casei* (4,86x10<sup>4</sup> UFC/ml) en caldo MRS (Biokar, Francia). Se incubaron a 37°C durante 24 h en una cámara (Inquilab I-290, Argentina) con agitación constante de 120 rpm (Vicking, Argentina). Posteriormente, el material fue centrifugado y lavado con agua destilada estéril (Eppendorf, Alemania), se deshidrató al vacío (Martin Christ Alpha 1-4 LSD, Alemania) durante 36 horas. Se almacenó en un desecador a temperatura ambiente, hasta la determinación del recuento.

#### Viabilidad celular de Lactobacillus casei

El recuento de células viables de *Lactobacillus casei* (*LC*) en el producto final deshidratado, se realizó mediante diluciones seriadas a partir de 1 g de muestra seca en 9 ml de agua peptona estéril 0,1% (p/v) (Biokar Diagnostics, Beauvais, OI, Francia) por duplicado. Las alícuotas de 100 μl de las diluciones seleccionadas fueron sembradas sobre placas con Agar MRS (Biokar Diagnóstico, Beauvais, OI, Francia) e incubadas a 37°C durante 72 h en condiciones aeróbicas. Los resultados fueron expresados como log (UFC/gde muestra seca), informando el valor promedio ± desvío estándar (DE) de las determinaciones.

# Determinación del pH

Para la medición de pH, se tomó el sobrenadante obtenido luego de centrifugar y lavar dos veces con agua destilada estéril, utilizando un electrodo de superficie combinado de vidrio Ag°/AgCl conectado a un pH metro (Cole-Parmer, USA). Las mediciones fueron realizadas por duplicado para cada muestra. Antes de cada análisis, el pH metro fue calibrado con soluciones buffer de pH 7,0 y pH 4,0.

#### Determinación de acidez total

La acidez total fue determinada mediante titulación de alícuotas de 5 ml de sobrenadante con una solución de NaOH (0,01N) utilizando fenolftaleína como indicador. Las mediciones fueron realizadas por duplicado para cada sistema. El resultado fue expresado en mili-equivalentes de ácido láctico/g del sistema, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$Acidez\ Total = \left[\frac{V_{NaOH*N_{NaOH}}}{Valicuota}\right] * \frac{V_{Sobrenadante}}{P_{muestra}} * 1000 \tag{1}$$

Dónde:  $N_{NaOH}$  (ml) = volumen NaOH gastados;  $N_{NaOH}$  = Normalidad del NaOH (0,01N) y V alícuota (mL) = volumen de muestra titulado (5 ml).

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

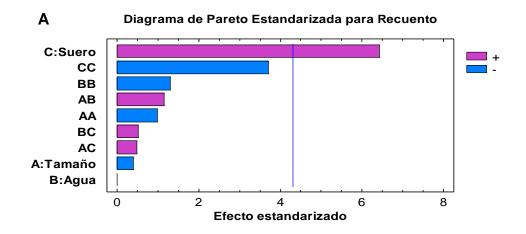
En la **Tabla 1** se muestra el diseño con los niveles ensayados para cada variable independiente (tamaño de partícula, cantidad de agua y cantidad de suero de queso) y los valores obtenidos para cada una de las variables de respuesta (recuento de *L. Casei*, pH y acidez titulable). El único factor que mostró un efecto significativo (p<0,05) y positivo sobre el recuento de células viables fue el suero, lo que significa que su presencia es necesaria para el crecimiento de los probióticos (**Figura 1A**). Con respecto, a la cantidad de agua y el tamaño de partícula no mostraron efectos significativos sobre el recuento (**Figura 1A**). Por otro lado, los tres factores afectaron (p<0,05) la acidez y consecuentemente el pH final (**Figura 1B y 1C**). Siendo el suero, el factor con mayor efecto, seguido por el tamaño de partícula y la cantidad de agua. Los términos cuadráticos para el suero y el tamaño de partícula también resultaron significativos (p<0,05) siendo ambos negativos para la acidez, representando un máximo en la función. En cambio, para el pH, el término cuadrático del suero resultó positivo mientras que el del tamaño fue negativo. Adicionalmente, se observó que el término cuadrático del agua, así como el de la interacción entre el suero y el tamaño resultaron significativos (p<0,05).



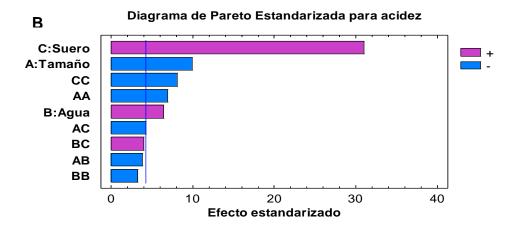
**Tabla 1.** Valores experimentales y codificados de las variables independientes y respuestas obtenidas del diseño de Box-Behnken.

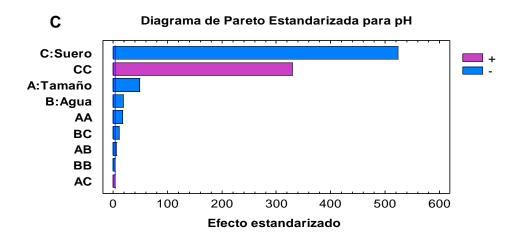
|          | discho de Box-Deniken. |                      |              |                  |            |                    |  |  |
|----------|------------------------|----------------------|--------------|------------------|------------|--------------------|--|--|
|          | Variable               | s Independ           | ientes       | Variable         | es de Resp | uestas             |  |  |
| Sistemas | TAMAÑO<br>(μm)         | AGUA (ml) odificados | SUERO<br>(g) | RECUENTO         | pН         | ACIDEZ             |  |  |
|          | $X_1$                  | X <sub>2</sub>       | $X_3$        | log<br>UFC/gramo |            | meqác<br>Láctico/g |  |  |
| 1        | 393,75(0)              | 4,5(0)               | 0,2 (0)      | $11,4\pm0,2$     | 4,57       | $0,3\pm0,1$        |  |  |
| 2        | 393,75(0)              | 4,5(0)               | 0,2 (0)      | $11,4\pm0,2$     | 4,58       | $0,25\pm0,03$      |  |  |
| 3        | 393,75(0)              | 4,5(0)               | 0,2(0)       | $11,0\pm0,2$     | 4,58       | $0,26\pm0,01$      |  |  |
| 4        | 393,75(0)              | 6,0(1)               | 0,4(1)       | $11,2\pm0,2$     | 4,48       | $0,38\pm0,04$      |  |  |
| 5        | 630,00(1)              | 3,0(-1)              | 0,2(0)       | $11,0\pm0,2$     | 4,52       | $0,142\pm0,005$    |  |  |
| 6        | 393,75(0)              | 3,0(-1)              | 0,4(1)       | $11,2\pm0,2$     | 4,55       | $0,26\pm0,03$      |  |  |
| 7        | 630,00(1)              | 4,5(0)               | 0,4(1)       | $11,2\pm0,2$     | 4,31       | $0,23\pm0,01$      |  |  |
| 8        | 157,50(-1)             | 4,5(0)               | 0,4(1)       | $11,3\pm0,2$     | 4,52       | $0,35\pm0,03$      |  |  |
| 9        | 630,00(1)              | 4,5(0)               | 0,0(-1)      | $10,3\pm0,1$     | 6,48       | $0,021\pm0,001$    |  |  |
| 10       | 393,75(0)              | 3,0(-1)              | 0,0(-1)      | $10,323\pm0,001$ | 6,56       | $0,040\pm0,001$    |  |  |
| 11       | 157,50(-1)             | 3,0(-1)              | 0,2(0)       | $11,1\pm0,2$     | 4,65       | $0,20\pm0,01$      |  |  |
| 12       | 630,00(1)              | 6,0(1)               | 0,2(0)       | $11,8\pm0,2$     | 4,33       | $0,140\pm0,005$    |  |  |
| 13       | 393,75(0)              | 6,0(1)               | 0,0(-1)      | $10,23\pm0,05$   | 6,62       | $0,058\pm0,001$    |  |  |
| 14       | 157,50(-1)             | 4,5(0)               | 0,0(-1)      | $10,51\pm0,09$   | 6,74       | $0,037\pm0,004$    |  |  |
| 15       | 157,50(-1)             | 6,0(1)               | 0,2(0)       | 10,9±0,2         | 4,54       | $0,29\pm0,01$      |  |  |

X<sub>1</sub> tamaño, X<sub>2</sub>cantidadde agua, X<sub>3</sub> cantidad de suero







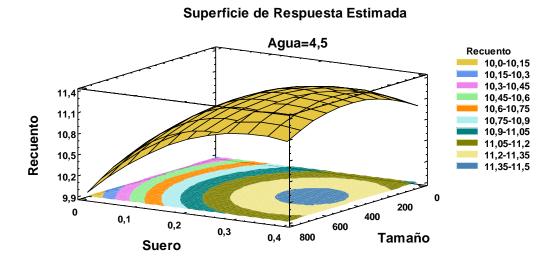


**Figura 1.** Efectos Significativos de los Factores utilizando Diagramas de Pareto Estandarizados para (A) Recuento de células viables, (B) Acidez titulable y (C) pH.

Luego de la fermentación llevada a cabo durante el diseño experimental, el LC mostró un crecimiento de al menos 6 ciclos log como se ve en la (**Tabla 1**). En la **Figura 2**, se puede observar cómo evoluciona el recuento de células viables, conforme se incorpore suero de queso al medio y se varíe el tamaño de la partícula de expeller, para una cantidad dada de agua equivalente a la del punto central. La cantidad de agua se mantuvo constante para este análisis ya que no presentó efectos significativos sobre el recuento. Se puede observar una curvatura, que se corresponde con el signo negativo de los coeficientes de la ecuación de predicción (**Tabla 2**) y un máximo en el rango de 11,3-11,38 UFC/ ml con una cantidad de suero de  $\approx$ 0,3 g y un tamaño de partícula de  $\approx$ 400 µm. Cabe señalar que el proceso de reducción de tamaño implica mayor consumo energético, mayores potencias o bien tiempos de molienda. El hecho de que ni el tamaño de partícula ni la cantidad de agua tengan un efecto significativo sobre el crecimiento del probiótico (**Figura 1A**), representaría una ventaja desde el punto de vista de la sustentabilidad del proceso aquí propuesto. Por otro lado, la necesidad de incorporar suero lácteo para incrementar el crecimiento de LC demuestra que la matriz de expeller como sustrato requiere ser suplementada. La suplementación con suero podría servir como fuente de carbono y/ o de nitrógeno (Genevois et al. 2016).

Si bien el objetivo del trabajo no fue específicamente la producción de ácido láctico, el mismo se genera como producto del metabolismo de las bacterias acido lácticas, estando su producción parcialmente asociada

al crecimiento celular (Aguirre-Ezkauriatza et al. 2010). De manera que se analizó la reducción del pH y el contenido de ácido láctico conforme se modificaron las variables del proceso (**Tabla 1, Figura 3A, B**).



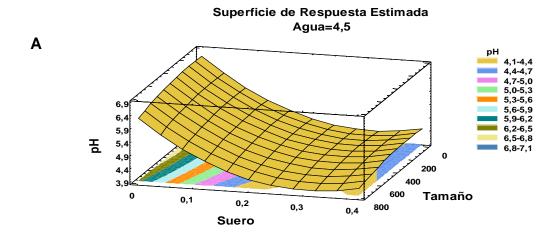
**Figura 2.** Superficie de respuesta que muestra el efecto de la cantidad de suero y el tamaño de partícula sobre el Recuento de *L. Casei*.

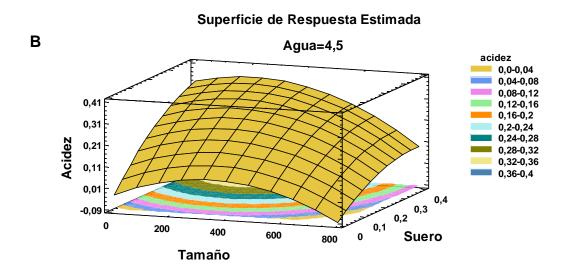
Los coeficientes de correlación producto de Pearson van de -1 a +1, y miden la fuerza de la relación lineal entre las variables. Este coeficiente para la correlación entre el pH y la acidez titulable resultó significativo (p< 0,05) tomando un valor de -0,8207, ello demuestra que la reducción del pH en la mayoría de las muestras se debe al ácido láctico producido por las bacterias durante la fermentación.

La cantidad de agua se fijó en la superficie de respuesta porque fue el factor que menor efecto presentó para la variable estudiada. En la **Figura 3A** se muestra la evolución del pH conforme se aumenta la adición de suero de queso o se varía el tamaño de la partícula de expeller, para una cantidad de agua constante equivalente a la del punto central. Se puede observar que la función depende fundamentalmente del factor suero, mostrando una concavidad que se corresponde con el signo positivo del coeficiente del término cuadrático del suero de la ecuación de predicción (**Tabla 2**). Si bien, el tamaño de partícula tuvo un efecto significativo sobre la modificación del pH, éste fue varios órdenes menor respecto al efecto observado del suero, como se desprende de los coeficientes de la ecuación de predicción de la **Tabla 2**. Ello explicaría que en la superficie de respuesta de la **Figura 3A**, el efecto del tamaño de partícula del expeller sobre el pH sea despreciable, frente al efecto del suero. La reducción del pH fue más pronunciada cuando se utilizó suero a valores entre 0,2 y 0,4 gr.

En cuanto a la acidez, se puede observar que los tres términos lineales y los cuadráticos respecto al suero y al tamaño de partículas resultaron significativos (**Figura 1B y Tabla 2**). Ello explicaría la concavidad de la curva que se observa en la **Figura 3B**. Para una determinada cantidad de suero, a un tamaño de partícula de  $\approx 400 \, \mu m$  la acidez llega a su punto máximo.







**Figura 3A y 3B.** Superficie de respuesta que muestra el efecto de la cantidad de suero y del tamaño de partícula sobre el pH (3A) y sobre la acidez titulable (3B).



**Tabla 2.** Coeficientes de regresión de la ecuación de predicción para las variables respuesta; Recuento de *L. casei*, pH y acidez, en función de las variables independientes:  $X_1 = tamaño (\mu m)$ ,  $X_2 = cantidad de agua (ml)$ ,  $X_3 = cantidad de suero (g)$ . Valores p < 0,05 indican el efecto significativo del coeficiente en la ecuación.

|                        |                                 |         | Valores d                               | e Respuesta |                                 |         |  |  |  |
|------------------------|---------------------------------|---------|---|-------------|---------------------------------|---------|--|--|--|
| Coeficiente            | Recuento                        |         | pН                                      |             | Acio                            | lez     |  |  |  |
|                        | Coeficiente<br>de<br>estimación | p-valor | Coeficiente<br>de p-valor<br>estimación |             | Coeficiente<br>de<br>estimación | p-valor |  |  |  |
| $\mathbf{a}_0$         | 9,76231                         |         | 6,47352                                 |             | -0,337312                       |         |  |  |  |
| $\mathbf{a}_1$         | -0,000356                       | 0,7263  | 0,00052499                              | 0,0004**    | 0,00084959                      | 0,01**  |  |  |  |
| $\mathbf{a}_2$         | 0,381111                        | 1       | 0,0713889                               | 0,0028**    | 0,111324                        | 0,023** |  |  |  |
| $\mathbf{a}_3$         | 4,98125                         | 0,0234* | -14,8458                                | 0**         | 1,03767                         | 0,001** |  |  |  |
| <b>a</b> <sub>12</sub> | 0,00033157                      | 0,3648  | -5,644E-05                              | 0,0202*     | -6,66E-05                       | 0,0612  |  |  |  |
| <b>a</b> <sub>13</sub> | 0,0010582                       | 0,6697  | 0,00026455                              | 0,0494*     | -0,0005504                      | 0,0512  |  |  |  |
| <b>a</b> <sub>23</sub> | 0,175                           | 0,6551  | -0,108333                               | 0,0078**    | 0,0820625                       | 0,0566  |  |  |  |
| <b>a</b> <sub>11</sub> | -1,87E-06                       | 0,4263  | -9,56E-07                               | 0,0032**    | -7,89E-07                       | 0,0203* |  |  |  |
| $\mathbf{a}_{22}$      | -0,0607407                      | 0,3234  | -0,005926                               | 0,0472*     | -0,009202                       | 0,0831  |  |  |  |
| <b>a</b> <sub>33</sub> | -9,72917                        | 0,0659  | 24,7292                                 | 0***        | -1,29722                        | 0,0148* |  |  |  |
| $R^2$                  | 95,4854                         |         | 99,8462                                 |             | 99,3699                         |         |  |  |  |
| falta de ajuste        |                                 | 0,8553  |   | 0,0055      |                                 | 0,3504  |  |  |  |

<sup>1:</sup> tamaño de la partícula de expeller, 2: cantidad de agua, 3: cantidad de suero

#### La optimización del proceso

Para maximizar el contenido de células viables del probiótico por unidad másica del producto final, se realizó una optimización de las condiciones de fermentación. En la **Tabla 3** se muestran las condiciones (tamaño de partícula, cantidad de agua y de suero de queso) que estadísticamente maximizarían las variables de respuesta recuento celular y acidez o minimizarían el pH. De acuerdo al modelo de predicción, las condiciones que maximizarían el crecimiento celular y consecuentemente el recuento final, se encuentran en 417 μm de tamaño de partícula, 4,7 ml de agua/ g de expeller seco y 0,32 g de suero/ g de expeller seco (**Tabla 3**). Cabe destacar, que estas condiciones se corresponderían aproximadamente a las ensayadas en el punto central del diseño planteado (**Tabla 1**). Como se observa en la **Tabla 1**, se obtuvo experimentalmente, un recuento de 11,4±0,2 log UFC/ g, que como se observa correspondería a la estimación estadística (**Tabla 3**).



<sup>\*:</sup> Significativo p<0.05

<sup>\*\*:</sup> Significativo p<0,01

**Tabla 3.** Condiciones de proceso predichas que maximizan las variables de respuesta, Recuento de *L. casei* y pH o minimizan la acidez total utilizando optimización individual.

| Variables Respuesta                | Estimado estadístico | Tamaño<br>(µm) | Cantidad<br>de Agua<br>(ml) | Cantidad de<br>Suero<br>(g) |
|------------------------------------|----------------------|----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Máximo Recuento (log UFC/g)        | 11,4                 | 416,7          | 4,7                         | 0,32                        |
| Mínimo Ph                          | 4,1                  | 630            | 6                           | 0,31                        |
| Máxima Acidez (meqác<br>láctico/g) | 0,42                 | 161,2          | 6                           | 0,4                         |

Por otro lado, se llevó a cabo un análisis de múltiples respuestas a fin de optimizar las tres propiedades. Vale decir, maximizar el recuento y el contenido de ácido láctico y minimizar el pH. Para ello se buscó la combinación de niveles de factores que maximiza la función de "deseabilidad" en la región indicada. El valor óptimo de deseabilidad resultó 0,9914, indicando que un proceso de fermentación con tamaño de partícula de 629,99 □m, un contenido de agua de 6,0 ml y 0,31 gramos de suero; resultaría estadísticamente un recuento de 11,29 log UFC/g; 0,21 meq de ácido láctico/g y un pH de 4,05. Las condiciones estadísticamente recomendadas se encuentran muy cercanas al sistema 12 ensayado en el diseño experimental. Se puede observar en la **Tabla 1** que también los valores predichos se aproximan a los registrados experimentalmente para el sistema 12, donde se encontró un recuento de 11,8±0,2 log UFC/g;

# **CONCLUSIONES**

De los resultados obtenidos se pudo analizar el efecto de los diferentes factores sobre el recuento celular, el pH y la acidez final. Además, se pudieron obtener ecuaciones de predicción dentro del rango estudiado que sirvan de base para futuros desarrollos. El suero de queso fue el único factor que mostró un efecto significativo (p< 0,05) y positivo sobre el recuento de células viables, lo que significa que su presencia es necesaria para el crecimiento de los probioticos. Por otro lado, los tres factores afectaron (p< 0,05) la acidez y consecuentemente el pH final. A través de un análisis de multiples respuestas se pudo determinar estadísticamente que las condiciones óptimas para maximizar el recuento de *LC* y la acidez titulable, minimizando el pH resultaron: 629,99 µm, 6,0 ml de agua/g de expeller y 0,31 gramos de suero/g de expeller. Estas condiciones se corresponderían aproximadamente al sistema 12 ensayado en el diseño experimental. Los resultados generados a partir de este estudio proporcionan datos de referencia para el aprovechamiento de este residuo vegetal para la obtención de ingredientes con mayor valor agregado.

#### BIBLIOGRAFÍA

Aguirre-Ezkauriatza E, Aguilar-Yáñez J, Ramírez-Medrano, Alvarez M. 2010. Production of probiotic biomass (*Lactobacillus casei*) in goat milk whey: Comparison of batch, continuous and fed-batch cultures. Bioresource Technology, 101(8): 2837–2844.

Calzada J, Rossi G. 2016. 84% de la soja argentina se exporta como grano, harina, aceite y biodiesel. Informativo Semanal de la Bolsa de Comercio de Rosario, Año XXXIII, N° 1750. Disponible en: https://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/informativosemanal\_noticias.aspx?pIdNoticia=55.

Gallardo M. 2011. Soja: harinas de extracción para la alimentación del ganado. INTA. Instituto Nacional Tecnología Agropecuaria. Disponible en: http://inta.gob.ar/documentos/soja-harinas-de-extraccion-para-la-alimentacion-del-ganado.

Genevois C, Flores S, de Escalada Pla M. 2016. By–product from pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) as a substrate and vegetable matrix to contain *Lactobacillus casei*. Journal of Functional Foods, 23: 210-219.

IERAL de Fundación Mediterránea. 2011. Disponible en: http://www.ieral.org/images\_db/noticias\_archivos/1890.pdf

Olagnero G, Genovois C, Irei V, Marcenado J. Bendersky S. 2007. Functional foods: Concepts, Definitions and Global Legal Frame. DIAETA, 25(119): 31-39.

Strada J, Vila IA. 2016. La producción de soja en Argentina: causas e impactos de su expansión. Disponible en: http://www.centrocultural.coop/revista/articulo/550/. ISSN 1851-3263.

# **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen la ayuda financiera de la Universidad de Buenos Aires GEF 2014-2017 20020130200237 y a la empresa R-Mix SRL proteico de Undinarrain, provincia de Entre Ríos por la donación del expeller utilizado en este trabajo.



Utilización de Okara para la obtención de un ingrediente funcional conteniendo *Lactobacillus casei*.

Castellanos Fuentes A. <sup>1</sup>, Torres V. <sup>1</sup>, Flores S. <sup>1,2</sup>, de Escalada Pla M. <sup>1,2</sup>

Dirección de e-mail: marina@di.fcen.uba.ar

#### **RESUMEN**

La okara es un subproducto del proceso de obtención de leche de soja y tofu. Se aplicó la metodología de superficie de respuesta para estudiar la influencia de los factores tamaño de partícula (157,50- 630,00 μm), cantidad de agua (2,0-5,0 ml de agua/g de okara seco), y cantidad de suero de queso en polvo (0,0-0,4 g suero/g okara seco) sobre las variables de respuesta: viabilidad celular del *L. casei*, pH y acidez total. El tamaño de las partículas no tuvo un efecto significativo en ninguna de las respuestas medidas, mientras que el suero fue el factor que mostró mayores efectos (p<0,05). El suero tuvo un efecto positivo sobre la acidez y el recuento, mientras que fue negativo para el pH. La cantidad de agua tuvo un efecto positivo sobre la acidez y negativo sobre el recuento. Las condiciones óptimas para simultáneamente maximizar el recuento y la producción de ácido; minimizando el pH, fueron identificadas como 628,35 μm, 6,0 ml de agua/g okara seco y 0,35 g de suero/g de okara seco. Estas condiciones son análogas a las ensayadas experimentalmente en el sistema 7 del diseño. Este estudio permite la reutilización de okara en la obtención de ingredientes funcionales conteniendo probióticos.

Palabras claves: Okara, Lactobacillus casei, Ingrediente Funcional, Subproductos Vegetales

#### **ABSTRACT**

Okara is a by-product of the process of obtaining soy milk and tofu. The response surface methodology was applied to study the influence of factors particle size (157.50-630.00  $\mu$ m), amount of water (2.0-5.0 ml of water / g of dry okara), And amount of whey powder (0.0-0.4 g cheese whey / g dry okara) on the response variables: cell viability of *L. casei*, pH and total acidity. Particle size did not have a significant effect on any of the measured responses, whereas cheese whey was the factor that showed greatest effects (p <0.05). The cheese whey had a positive effect on cell counting and acidity, whereas it was negative for pH. The amount of water had a positive effect on the acidity and negative on the cell count. Optimum conditions to simultaneously maximize cell count and acid production; minimizing pH, were identified as 628.35  $\mu$ m, 6.0 ml water / g dry okara and 0.35 g cheese whey / g dry okara. These conditions are analogous to those tested experimentally in system 7 of the design. This study allows the re-use of okara in obtaining functional ingredients containing probiotics.

Keywords: Okara, Lactobacillus casei, Functional Ingredient, Vegetable By-products

# INTRODUCCIÓN

La producción de soja en Argentina alcanzó 40 millones de toneladas en la cosecha 2011/2012 y para la campaña 2014/2015 osciló en los 60,1 millones de toneladas, cifra record a nivel histórico para nuestro país (Strada y Vila 2015, 2016). La molienda de soja podría crecer a una tasa ligeramente superior a la de la producción, lo que indica que cada vez más soja se destinará a la molienda (IERAL 2011). La harina de soja es el subproducto de la industria aceitera, mientras que la okara representa el residuo que se obtiene de la molienda húmeda del poroto de soja durante la preparación de bebidas o jugos a base de leche de soja. La industria de la molienda de soja es una actividad de márgenes muy reducidos, donde la materia prima principal, el poroto, es por lejos el principal costo de la industria.

Los subproductos con poca inserción en el mercado son los provenientes de leguminosas, como es el caso de la semilla de soja, (Kushi et al.1999, Messina 1999, Anderson y Major 2002, Guillon y Champ 2002). En particular, la okara, se destina a alimentación animal o es desechada. Contiene mayoritariamente fibra compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina, lo cual hace que este subproducto se pueda utilizar para la elaboración o el enriquecimiento de distintos productos alimenticios (O´Toole 1999; Redondo-Cuenca et al.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Departamento de Industrias, FCEN-UBA, Intendente Güiraldes 2160, CABA, Buenos Aires, Argentina.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Miembro de la Carrera del Investigador del CONICET

2007). Reutilizar los subproductos o residuos, transformándolos en insumos de mayor valor agregado, representaría un aporte tanto para el sector agroindustrial como para el medioambiente.

El objetivo del presente trabajo fue la obtención de ingredientes funcionales deshidratados a partir de okara, enriquecidos en fibra dietaria y conteniendo microorganismos probióticos (*L. casei*). Para ello se planteó estudiar el efecto de los factores: cantidad de suero, cantidad de agua y tamaño de partícula de la okara sobre el crecimiento del *Lactobacillus casei*, el pH y la acidez total como indicadores de desarrollo de los probióticos a través de una metodología de superficie de respuesta.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Materiales**

Los porotos de soja (*Glycinemax*) fueron adquiridos en un supermercado mayorista local. Se utilizó suero de queso (Mastellone, Buenos Aires, BA, Argentina), agar y caldo MRS (Biokar Diagnostics, Beauvais. OI, Francia). Los productos químicos empleados fueron de grado analítico (Research AG. S.A. Argentina).

# Diseño experimental y análisis estadístico

En el presente trabajo se utilizó un diseño de Box-Behnken en el cual se estudiaron los efectos de 3 factores en 15 corridas experimentales; en tres niveles para cada factor (**Tabla 1**). El diseño experimental se llevó a cabo en un solo bloque y los puntos centrales se realizaron por triplicado. El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante el uso del método de superficie de respuesta (RSM) en el nivel de confianza del 95%. Los datos experimentales se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden:

$$y = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{11} X_1^2 + a_{22} X_2^2 + a_{33} X_3^2 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3 + \varepsilon$$

Donde "y" es la función de respuesta,  $a_0$ ,  $a_1$ ,  $a_2$   $a_3$ ,  $a_{11}$ ,  $a_{22}$ ,  $a_{33}$ ,  $a_{12}$ ,  $a_{13}$ ,  $a_{23}$  son los coeficientes de los términos lineales, cuadráticos y de interacción del polinomio,  $X_1$  es el tamaño de partícula,  $X_2$  es la cantidad de agua y  $X_3$  es la cantidad de suero, y  $\varepsilon$  como término de error aleatorio. El parámetro estadístico R-cuadrado ( $\mathbb{R}^2$ adj> 79%) y la falta de ajuste no significativa (p> 0,05) se utilizaron para informar la bondad del modelo. El diseño experimental y los gráficos de superficie de respuesta se llevaron a cabo utilizando el programa Statgraphics Centurion XV (V 02/15/06, 2007, StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE.UU.). Se repitió el diseño completo con un segundo lote de porotos de soja, observándose las mismas tendencias. Se informan los resultados del diseño que arrojó los mejores ajustes.

#### Preparación de la Okara

Se pesaron 500 g de semillas de soja y se mezclaron con 500 ml de agua potable, se dejaron en remojo en una cámara a 25°C al menos 18 horas. Posteriormente, las semillas se lavaron con agua potable y se colocaron en un triturador (D-56 Moulinex, Buenos Aires, BA, Argentina). La mezcla obtenida se colocó en un recipiente de acero inoxidable, se adicionaron 2500 ml de agua, y se calentó con agitación constante hasta ebullición a fin de inhibir la tripsina. Se dejó enfriar y se midió el pH de la leche resultante (pH 6,41). El producto obtenido se filtró a través de un lienzo o gasa fina para separar el líquido (leche de soja) de la okara (O'Toole 1999). Finalmente, el secado de la okara húmeda se realizó en estufa de convección de aire a 60°C por un tiempo de 6 h hasta una humedad de 7%. El producto seco se molió (D-56 Moulinex, Buenos Aires, BA, Argentina) y se tamizó en un tren de tamices (Zonytest, Rey Ronzoni S.R.L., Bs As. Argentina). Se obtuvieron las siguientes fracciones en cuanto al tamaño de partícula promedio: 630,00; 393,75 y 157,50 μm. Finalmente, las fracciones, fueron envasadas al vacío y almacenadas a -18°C. Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente antes de su uso.

#### Preparación del inóculo

El inóculo se preparó mediante la transferencia de 1 ml del cultivo madre crio-conservado conteniendo *L. casei* ATCC 393, en un matraz de 250 ml que contenía 30 ml de caldo MRS estéril. El cultivo de células se incubó a 37°C durante 20 h en una cámara (Inquilab I-290, Argentina) con agitación constante de 120 rpm (Vicking, Argentina). El inóculo se consideró adecuado para los ensayos, cuando presentó un recuento en placa de al menos 9,00 log UFC/ml de *L. casei*.

# Preparación de los Sistemas

La okara fue distribuida en porciones de  $1,0004 \pm 0,0004$  g en tubos tipo Falcón. Se prepararon 15 sistemas, adicionando al gramo de okara, la cantidad de agua y suero de queso deshidratado, de acuerdo al diseño experimental propuesto (**Tabla 1**). Luego de esterilizados y enfriados, los sistemas fueron inoculados con

una suspensión de *L. casei* de 7x10<sup>4</sup> UFC/ml de caldo MRS (Biokar, Francia). Se incubaron a 37°C durante 24 h en una cámara (Inqilab I-290, Argentina) con agitación constante de 120 rpm (Vicking, Argentina). Posteriormente, el material fue centrifugado (Eppendorf, Alemania), lavado con agua destilada estéril y deshidratado al vacío (Martin ChristAlpha 1-4 LSD, Alemania) durante 36 h. Se almacenó en un desecador a temperatura ambiente, hasta la determinación del recuento.

#### Viabilidad celular de Lactobacillus casei

El recuento de células viables de *Lactobacillus casei* (LC) en el producto final deshidratado, se realizó mediante diluciones seriadas a partir de 1 g de producto seco en 9 ml de agua peptona estéril 0,1% (p/v) (BiokarDiagnostics, Beauvais, OI, Francia) por duplicado. Alícuotas de 100 µl de diluciones seleccionadas fueron sembradas en placas con agar MRS (Biokar Diagnóstico, Beauvais, OI, Francia) e incubadas a 37°C durante 72 h en condiciones aeróbicas. Los resultados fueron expresados como log (UFC/gde muestra seca), informando el valor promedio ± desvío estándar (DE) de las determinaciones.

#### Determinación del pH

La medición de pH se tomó sobre el sobrenadante obtenido luego de centrifugar y lavar dos veces con agua destilada estéril, utilizando un electrodo de superficie combinado de vidrio Ag°/ AgCl conectado a un pHmetro (Cole-Parmer,USA). Las mediciones fueron realizadas por duplicado para cada muestra. Antes de cada análisis, el pHmetro fue calibrado con soluciones buffer patrones de pH 7,0 y pH 4,0.

#### Determinación de acidez total

La acidez total fue determinada mediante titulación de alícuotas de 5 ml de sobrenadante con una solución de NaOH (0,01N) utilizando fenolftaleína como indicador. Las mediciones fueron realizadas por duplicado para cada sistema. El resultado fue expresado en miliequivalentes de ácido láctico / g del sistema, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$Acidez\ Total = \left\lceil \frac{V_{NaOH}\ N_{NaOH}}{V_{alfcuota}} \right\rceil \times \frac{V_{sobrenadate}}{P_{muestra}} \times 1000 \tag{1}$$

Dónde:  $N_{NaOH}(ml)$  = volumen NaOH gastado;  $N_{NaOH}$  = Normalidad del NaOH (0,01N) y  $V_{alícuota}$  (mL) = volumen de muestra titulado (5 ml).

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

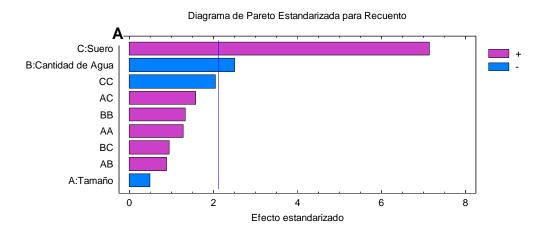
En la Tabla 1 se detalla el diseño de Box-Behnken empleado, con los niveles ensayados para cada variable independiente (tamaño de partícula, cantidad de agua y cantidad de suero de queso) y los valores obtenidos para cada una de las variables de respuesta (recuento de L. Casei, pH y acidez titulable). En la Figura 1, se observan los resultados del análisis de los efectos de los factores estudiados sobre cada respuesta a través de los diagramas de Pareto estandarizados. El tamaño de partícula no presentó efectos significativos sobre ninguna de las variables de respuesta medidas, mientras que la cantidad de suero afectó significativamente (p<0,05) a todas las variables estudiadas (**Figura 1**). El suero tuvo un efecto positivo sobre la acidez y el recuento pero negativo para el pH. Ello representa que mayores cantidades de suero, conducirían a mayores recuentos y mayores niveles de acidez y consecuentemente, menores pHs. La okara se caracteriza por un alto contenido de fibra dietaria insoluble y proteína pero muy bajo contenido de hidratos de carbono y de fibra dietaria soluble (O'Toole 1999, Surel y Couplet 2005, Redondo-Cuenca et al. 2008). Posiblemente la presencia del suero complemente una fuente de carbono más accesible al probiótico necesaria para su crecimiento y para la producción de ácido láctico (Bernárdez et al. 2008). El efecto cuadrático del suero fue significativo (p<0,05) y negativo respecto a la acidez, y positivo para el pH, observándose un máximo en la acidez y un mínimo para el pH en el rango de trabajo estudiado. La cantidad de agua afectó (p<0,05) al recuento final y a la acidez pero no al pH. Posiblemente, la capacidad buffer del suero explique que algunos efectos, como los del agua, no puedan ser registrados sobre el pH (Horackova et al. 2014). La cantidad de agua tuvo un efecto positivo sobre la acidez y negativo sobre el recuento. A su vez, el efecto cuadrático fue significativo (p<0,05) y negativo respecto de la acidez (**Figura 1B**).

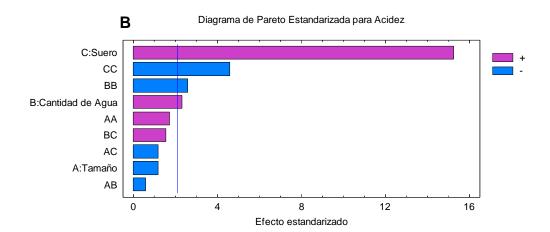
**Tabla 1.** Valores experimentales y codificados de las variables independientes y respuestas obtenidas del diseño de Box-Behnken.

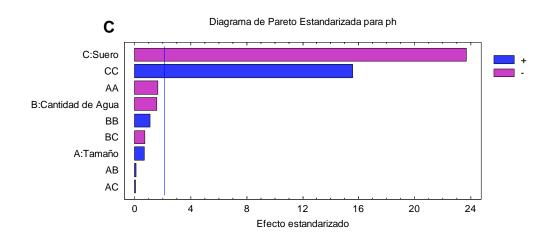
| -        | Varial         | oles Independie | ntes         | Variables de Respuesta |      |                       |  |
|----------|----------------|-----------------|--------------|------------------------|------|-----------------------|--|
| <u>.</u> | Tamaño<br>(µ)  | Agua<br>(ml)    | Suero<br>(g) | Recuento L. casei      | pН   | Acidez                |  |
| Sistemas |                | Codificados     |              | log (UFC/g)            |      | meq ac.<br>láctico /g |  |
|          | $\mathbf{X_1}$ | $\mathbf{X}_2$  | $X_3$        |                        |      | lactico/g             |  |
| 1        | 393,75(0)      | 4,5(0)          | 0,2(0)       | $9,677\pm0,009$        | 4,36 | $0,17\pm0,01$         |  |
| 2        | 393,75(0)      | 4,5(0)          | 0,2(0)       | $9,58\pm0,08$          | 4,48 | $0,161 \pm 0,004$     |  |
| 3        | 393,75(0)      | 4,5(0)          | 0,2(0)       | $10,1\pm0,1$           | 4,26 | $0,\!20\pm0,\!03$     |  |
| 4        | 393,75(0)      | 6,0(1)          | 0,4(1)       | $10,1\pm0,1$           | 4,31 | $0,22 \pm 0,04$       |  |
| 5        | 630,00(1)      | 3,0(-1)         | 0,2(0)       | $10,2\pm0,3$           | 4,42 | $0,151 \pm 0,004$     |  |
| 6        | 393,75(0)      | 3,0(-1)         | 0,4(1)       | $10,844 \pm 0,008$     | 4,59 | $0,\!14\pm0,\!02$     |  |
| 7        | 630,00(1)      | 4,5(0)          | 0,4(1)       | $10,743\pm0,008$       | 4,26 | $0,26 \pm 0,03$       |  |
| 8        | 157,50(-1)     | 4,5(0)          | 0,4(1)       | $10,2\pm0,3$           | 4,24 | $0,\!31\pm0,\!02$     |  |
| 9        | 630,00(1)      | 4,5(0)          | 0,0(-1)      | $9,2\pm0,3$            | 6,16 | $0,035 \pm 0,005$     |  |
| 10       | 393,75(0)      | 3,0(-1)         | 0,0(-1)      | $9,7\pm0,6$            | 6,57 | $0,016 \pm 0,002$     |  |
| 11       | 157,50(-1)     | 3,0(-1)         | 0,2(0)       | $10,741\pm0,008$       | 4,28 | $0{,}16\pm0{,}02$     |  |
| 12       | 630,00(1)      | 6,0(1)          | 0,2(0)       | $10,2\pm0,4$           | 4,25 | $0,\!20\pm0,\!01$     |  |
| 13       | 393,75(0)      | 6,0(1)          | 0,0(-1)      | $8,6\pm0,8$            | 6,64 | $0,020 \pm 0,001$     |  |
| 14       | 157,50(-1)     | 4,5(0)          | 0,0(-1)      | 9,2±0,3                | 6,35 | $0,034 \pm 0,008$     |  |
| 15       | 157,50(-1)     | 6,0(1)          | 0,2(0)       | $10,0\pm0,2$           | 4,22 | $0.17 \pm 0.04$       |  |

X<sub>1</sub> tamaño de la partícula de okara, X<sub>2</sub> cantidad de agua, X<sub>3</sub> cantidad de suero



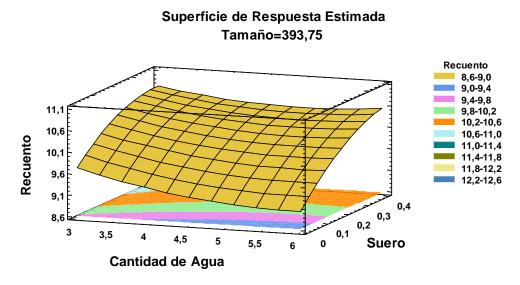






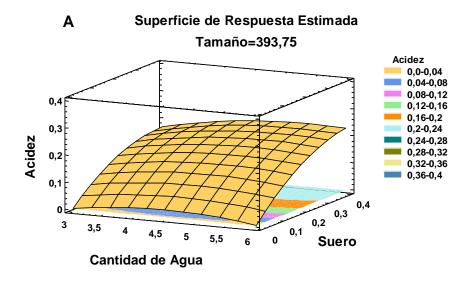
**Figura 1.** Efectos de los factores tamaño de partícula de okara, cantidad de agua y cantidad de suero, utilizando Diagramas de Pareto Estandarizados para las respuestas (A) Recuento de *L. Casei*, (B) Acidez y (C) pH.

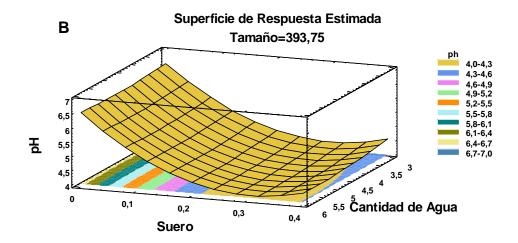
Los microorganismos necesitan la presencia de agua, en una forma disponible, para crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas (Brennan 2006). De acuerdo a los resultados del presente trabajo, luego de la fermentación llevada a cabo durante el diseño experimental, el LC mostró un crecimiento de al menos 4-6 ciclos log, habiendo partido de un inóculo inicial de 7x10<sup>4</sup> UFC/g (**Figura 1A**). Se observó que, para obtener un aumento en el recuento de bacterias, la cantidad de suero debe ser mayor (0,3-0,4 g) mientras que la cantidad de agua puede ser mínima (**Figura 2**). Esto representaría una reducción de consumo de agua potable y consecuentemente una ventaja adicional desde la sustentabilidad del proceso propuesto.



**Figura 2.** Superficie de respuesta del recuento de *L. casei* viables en función de la cantidad de agua y la cantidad de suero a tamaño de partícula constante igual al valor central (393,75 μm).

Los coeficientes de las correlaciones momento producto de Pearson, entre pares de variables va de -1 a +1, y miden la fuerza de la relación lineal entre las variables. En este trabajo, las correlaciones fueron significativas (p<0,05) para todos los pares ensayos. Por un lado, para el par: acidez titulable-recuento LC, se obtuvo un valor de 0,6760, mostrando de ese modo que la producción de ácido láctico se encuentra parcialmente asociada al crecimiento. Resultados similares se obtuvieron con el crecimiento de L. casei en otros medios (Aguirre-Ezkauriatza et al. 2010). La acidez desarrollada es consecuencia de la acción de las bacterias lácticas que producen un aumento de la concentración de ácido láctico durante la fermentación. En este caso se vieron aumentos considerables de la acidez cuando se aumentó la cantidad de suero (Figura 1B y 3A). En el caso de la cantidad de agua, si bien tuvo un efecto significativo (p<0,05) sobre la acidez (Figura 1B), el coeficiente de la ecuación de regresión resultó ocho veces menor que el observado para el suero (Tabla 2). Por esta razón, en la Figura 3A el efecto del agua es mucho menos marcado en comparación con el efecto del suero. Por otro lado, se encontró una correlación lineal (-0,9182) e inversa entre la acidez titulable y el pH. De manera que, la reducción del pH en la mayoría de las muestras se debe al ácido láctico producido por las bacterias durante la fermentación. En general, el pH inicial de la okara (6,41) se redujo para todos los sistemas ensayados a excepción de los sistemas 10, 13 y 14 (Tabla 1). La cantidad de suero es el único factor que afectó significativamente al pH (Figura 1C y Tabla 2). El tamaño de partícula de la okara al igual que la cantidad de agua no afectó en ningún momento al pH. Adicionalmente, se observó un efecto cuadrático significativo (p<0,05) y positivo para el suero, que coincidió con el signo del coeficiente de la ecuación polinómica (Tabla 2), lo que explicaría la curvatura que se observa en la superficie de respuesta (Figura 3B). Se ha reportado que el pH es el factor que más influye en la viabilidad celular en productos como el yogurt (Champagne et al. 2011). Sin embargo, de acuerdo a los resultados de nuestro trabajo, un descenso del pH hasta valores de 4,0 no tuvo una influencia negativa sobre la supervivencia del probiótico (Tabla 1). Estos resultados concuerdan con los reportados recientemente por Genevois et al. (2016) quienes desarrollaron un ingrediente funcional a base de subproducto de calabaza y contendiendo L. casei. De acuerdo a estos autores la resistencia de *L. casei* al bajo pH podría deberse al efecto protector provisto por la matriz vegetal. En nuestro caso la okara estaría cumpliendo un rol similar.





**Figura 3A y 3B.** Superficie de respuesta que muestra el efecto de la cantidad de agua y la cantidad de suero sobre (3A) la Acidez y (3B) sobre el pH.



**Tabla 2.** Coeficientes de regresión de la ecuación de predicción para las variables respuesta Recuento de*L. casei*, pH. Valores p < 0,05 indican el efecto significativo del coeficiente en la ecuación.

|                   |                           |         | Valores de Res                  | spuesta |                                 |          |  |  |  |  |
|-------------------|---------------------------|---------|---------------------------------|---------|---------------------------------|----------|--|--|--|--|
| Coeficiente       | Recuento                  |         | Ph                              | Ph      |                                 | Acidez   |  |  |  |  |
|                   | Coeficiente de estimación | p-valor | Coeficiente<br>de<br>estimación | p-valor | Coeficiente<br>de<br>estimación | p-valor  |  |  |  |  |
| $\mathbf{a}_0$    | 13,315                    |         | 6,92                            |         | -0,184                          | _        |  |  |  |  |
| $\mathbf{a}_1$    | -0,0049                   | 0,6234  | 0,0016                          | 0,4887  | -0,0002                         | 0,2486   |  |  |  |  |
| $\mathbf{a}_2$    | -1,0743                   | 0,0223* | -0,3224                         | 0,1289  | 0,1056                          | 0,0325*  |  |  |  |  |
| $\mathbf{a}_3$    | 2,4489                    | 0**     | -15,0021                        | 0**     | 0,8127                          | 0**      |  |  |  |  |
| $\mathbf{a}_{12}$ | 0,0003                    | 0,3844  | 1,7637E-05                      | 0,923   | -1,5319E-05                     | 0,5625   |  |  |  |  |
| a <sub>13</sub>   | 0,0043                    | 0,1305  | 0,0001                          | 0,9383  | -0,0002                         | 0,2485   |  |  |  |  |
| <b>a</b> 23       | 0,4073                    | 0,3541  | -0,1583                         | 0,466   | 0,0479                          | 0,1367   |  |  |  |  |
| a <sub>11</sub>   | 3,0669E-06                | 0,217   | -1,9746E-06                     | 0,1147  | 2,97E-07                        | 0,1016   |  |  |  |  |
| $\mathbf{a}_{22}$ | 0,0793                    | 0,199   | 0,0332                          | 0,2749  | -0,0110                         | 0,0191*  |  |  |  |  |
| a <sub>33</sub>   | -6,8472                   | 0,0559  | 25,8385                         | 0**     | -1,1020                         | 0,0003** |  |  |  |  |
| $R_{adj}^2$       |                           | 79,8054 |                                 | 97,8795 |                                 | 92,0827  |  |  |  |  |
| falta de ajuste   |                           | 0,8609  | 2                               | 0,873   |                                 | 0,123    |  |  |  |  |

1: tamaño de la partícula de okara, 2: cantidad de agua, 3: cantidad de suero

# Optimización del proceso

Con el objeto de buscar las condiciones de proceso que maximicen la producción de células viables de LC y en segunda instancia mejoren la producción de ácido láctico, se realizó la optimización de cada respuesta. En la **Tabla 3**, se observan los valores de tamaño de partícula, cantidad de agua y cantidad de suero que maximizan el recuento de *L. Casei* y la acidez titulable y, por otro lado, minimizan el valor de pH y los valores estadísticamente estimados para estas variables de respuesta, a partir de las ecuaciones de predicción. Puede observarse que tamaños de 157,50  $\square$ m, contenidos de agua entre 3,0 y 5,5 ml/g de okara y cantidades de suero entre 0,31 y 0,40 g/gramos de okara conducirían a valores óptimos del recuento, acidez y pH (**Tabla 3**). Los sistemas 6, 7 y 11 ensayados en el diseño experimental son los que presentaron mayor recuento celular, independientemente del tamaño de partícula empleado (**Tabla 1**). Ello se debe a que este último factor no presentó un efecto significativo sobre esta respuesta. En cuanto a la cantidad de agua y de suero de estos sistemas, están en concordancia con lo estimado estadísticamente. Por otro lado, experimentalmente el contenido de acidez titulable mayor, se obtuvo en el sistema 8 del diseño (**Tabla 1**), el cual fue llevado a cabo bajo parámetros similares a los predichos estadísticamente (**Tabla 3**).

A fin de maximizar el recuento y el contenido de ácido láctico minimizando el pH simultáneamente, se llevó a cabo un análisis de respuestas múltiples. Para ello se buscó la combinación de niveles de factores que maximiza la función de "deseabilidad" en la región indicada. El valor óptimo de deseabilidad resultó 0,9734, indicando que un proceso de fermentación con tamaño de partícula de 628,35 □m, un contenido de agua de 6,0 ml y 0,35 gramos de suero; resultaría estadísticamente un recuento de 10,86 log UFC/g; 0,22 meq de ácido láctico/g y un pH de 4,07. Entre los puntos de diseño ensayados experimentalmente, la "deseabilidad' máxima se alcanza para el sistema 7, tomando un valor de 0,9266. Las condiciones estadísticamente recomendadas se encuentran muy cercanas al sistema 7 ensayado en el diseño experimental.

<sup>\*:</sup> Significativo p<0,05

<sup>\*\*:</sup> Significativo p<0,01

**Tabla 3.** Condiciones de proceso predichas que maximizan o minimizan las variables de respuesta recuento de*L.casei*, pH y acidez total utilizando optimización individual.

| Variables Respuesta                | Valor | Tamaño<br>(µm) | Cantidad de Agua<br>(ml) | Cantidad de Suero<br>(g) |
|------------------------------------|-------|----------------|--------------------------|--------------------------|
| Máximo Recuento (UFC / g)          | 10,94 | 158,02         | 3,00                     | 0,31                     |
| Mínimo pH                          | 3,94  | 157,50         | 5,54                     | 0,31                     |
| Máxima Acidez (meq ac. láctico /g) | 0,27  | 157,50         | 5,56                     | 0,40                     |

#### **CONCLUSIONES**

El tamaño de partícula de la okara no tuvo efecto significativo sobre ninguna de las variables de respuesta (recuento de LC, pH y acidez). Por otro lado, el suero resulto el factor con mayores efectos en todas las variables estudiadas. Las condiciones óptimas para maximizar el recuento de probióticos, se identificaron como 158 μm, 3 ml de agua y 0,31 g de suero. Mientras que un proceso de fermentación con tamaño de partícula de 628,35 μm, un contenido de agua de 6,0 ml y 0,35 g de suero; permitiría simultáneamente maximizar el recuento y la producción de ácido láctico; minimizando el pH. Estas condiciones son análogas a las ensayadas experimentalmente en el sistema 7 del diseño.

Estos resultados permiten inferir que es factible la reutilización de la okara como sustrato/ soporte en la preparación de alimentos conteniendo probióticos como el *Lactobacillus casei*. Adicionalmente, el proceso propuesto como óptimo fue el de menor requerimiento de agua potable. Los resultados generados a partir de este estudio proporcionan datos de referencia para el uso de este subproducto vegetal aplicando una tecnología alternativa.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Aguirre-Ezkauriatza E, Aguilar-Yáñez J, Ramírez-Medrano, Alvarez M. 2010. Production of probiotic biomass (*Lactobacillus casei*) in goat milk whey: Comparison of batch, continuous and fed-batch cultures. Bioresource Technology, 101(8): 2837–2844.

Anderson JM, Major AW. 2002. Pulses and lipaemia, short-and long term effect: potential in the prevention of cardiovascular disease. Br J, Nutr, 88:263-271.

Bernárdez P F, Amado I R, Castro LP, Guerra NP. 2008. Production of a potentially probiotic culture of *Lactobacillus casei* subsp. casei CECT 4043 in whey. International Dairy Journal, 18(10-11): 1057–1065. Brennan JG. 2006. Manual del Procesado de los Alimentos, Editorial Acribia S.A. pág. 358.

Champagne CP, Ross RP, Saarela M, Hansen KF, Charalampopoulos D. 2011. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. International Journal of Food Microbiology, 149(3): 185–193.

Genevois C, Flores S, de Escalada Pla M. 2016. Byproduct from pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex poiret) as a substrate and vegetable matrix to contain *Lactobacillus casei*. Journal of Functional Foods, 23: 210–219.

Guillon F, Champ MM. 2002. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. Br J Nutr, 88(3): 293-3306.

Horackova S, Sedlackova P. Slukova M, Plockova M. 2014. Influence of Whey, Whey Component and Malt on the Growth and Acids Production of Lactobacilli in Milk. Czech Journal of Food Science, 32(6), 526–531 IERAL de Fundación Mediterránea. 2011. Disponible en: http://www.ieral.org/images db/noticias archivos/1890.pdf.

Kushi LH, Meyer KM, Jacobs DR. 1999. Cereals, legumes, and chronic disease risk reduction: evidence from epidemiologic studies. Am J ClinNutr, 70: 451-458.

Messina MJ. 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. Am J ClinNutr, 70:439-450.

O'Toole DK. 1999. Characteristics and use of okara, the soybean residue from soy milk production a review. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(2): 363-371.

Redondo-Cuenca A., Villanueva-Suárez MJ, Mateos-Aparicio I. 2008. Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fibre. Measurement by AOAC and Englyst methods. Food Chemestry, 108: 1009-1105.

Strada J,Vila IA. 2015. La producción de soja en Argentina: causas e impactos de su expansión. Disponible en <a href="http://www.centrocultural.coop/revista/articulo/550/">http://www.centrocultural.coop/revista/articulo/550/</a>

Surel O, Couplet B. 2005. Influence of the dehydration process on active compounds of okara during its fractionation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85: 1343-1349.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen la ayuda financiera de la Universidad de Buenos Aires GEF 2014-2017 20020130200237.



# Caracterización sensorial y tecnológica de lomos de cerdo salados elaborados con cantidades reducidas de sodio

Chesta, A. A.<sup>1</sup>, Gonzalez Estevez, V.<sup>1</sup>, Boiero, M. L.<sup>2</sup>, Montenegro, M. A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Villa María, Av. Universidad 450, Villa María, Córdoba, Argentina.

<sup>2</sup>CIT VM-CONICET, Universidad Nacional de Villa María, Av. Arturo Jauretche 1555, Villa María, Córdoba, Argentina.

Dirección de e-mail: chaldana@gmail.com

#### RESUMEN

El consumo excesivo de sal causa hipertensión, responsable, en gran medida, de las muertes por cardiopatías y accidentes cerebrovasculares. Los productos cárnicos constituyen una de las cuatro categorías que se considera que contribuyen en mayor medida a la ingesta de sal en Argentina. Pero, desde el punto de vista tecnológico, la sal resulta fundamental en el desarrollo de la textura, el sabor y el color de productos cárnicos y contribuye a su conservación. El objetivo de este estudio fue determinar la concentración mínima de cloruro de sodio que permite obtener lomos de cerdo salados con características sensoriales apropiadas para los consumidores. Para ello, se elaboraron productos con cuatro concentraciones distintas de sal, se los sometió a un análisis sensorial (panel no entrenado) y se midieron ciertas propiedades tecnológicas: textura, color, pH y contenido de humedad, parámetros en los que la sal cumple un rol fundamental. Por último, se realizó el recuento de los grupos microbianos más relevantes. Los resultados indican que incluso en el caso del tratamiento más pretencioso, es posible elaborar lomos de cerdo salados más saludables y con características sensoriales aceptables, lo que resultaría beneficioso tanto para consumidores como para la industria cárnica.

Palabras clave: lomos de cerdo salados, sodio, hipertensión, características sensoriales.

# **ABSTRACT**

Excessive intake of salt causes hypertension, responsible of several heart disease and stroke deaths. Meat products constitute one of the four categories considered to contribute the most to salt intake in Argentina. On the other hand, salt is essential in color, flavour and texture development in meat products and it contributes to their preservation. The aim of this study was to determine the minimum concentration of sodium chloride that allows to obtain salted pork loins with acceptable sensory characteristics. In order to achieve this, products with four different concentrations of salt were prepared. They were subjected to a sensory analysis (untrained panel) and certain technological properties were measured: texture, color, pH and moisture content; salt meets a fundamental role in these variables. Additionally, the microbial count of the most relevant microbial groups was performed. The results indicate that even in the case of the most pretentious treatment, it is possible to elaborate healthier salted pork loins with acceptable sensory characteristics, which would be beneficial to both consumers and the meat industry.

**Keywords:** salted pork loins, sodium, hypertension, sensory characteristics.

#### INTRODUCCIÓN

Las nuevas tendencias en la industria de alimentos, respondiendo a exigencias de mercado, se orientan hacia la elaboración de productos mínimamente procesados, saludables, elaborados sin preservantes químicos y en lo posible, que produzcan al consumidor algún beneficio adicional al estrictamente nutritivo. Pero al mismo tiempo, se demandan productos de alta calidad organoléptica, buenas características sensoriales y vida media larga. Esto supone un desafío para la industria que debe ser capaz de lograr un equilibrio entre estas exigencias, que implican decisiones completamente opuestas, para dar respuesta a esta demanda del mercado, al mismo tiempo que debe ser capaz de preservar las características sensoriales y tecnológicas propias de sus productos.

En los últimos tiempos, las enfermedades no transmisibles como las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la diabetes o las enfermedades pulmonares crónicas han superado a las enfermedades infecciosas como principales causas de mortalidad en el mundo (OMS 2013). Las enfermedades cardiovasculares, en particular, son responsables de prácticamente un tercio de las muertes mundiales totales anuales y, uno de los factores de riesgo clave en su aparición es la hipertensión, responsable de al menos el 45% de las muertes por cardiopatías y el 51% de las muertes por accidente cerebrovascular (OMS 2011). La relación entre el consumo de sal (cloruro de sodio) y las funciones renal y cardíaca ha sido documentada (He y MacGregor 2003, Lev-Ran y Porta 2005), existiendo estudios que confirman que la presión arterial se ve afectada de manera directamente proporcional al consumo de sal (He y MacGregor 2007, Mohan y Campbell 2009). El grado de consumo de sal, al igual que sus patrones de consumo, varía significativamente de un país a otro. Sin embargo, la población de la región de América Latina consume mucha más sal de la que debería. El consumo de sal por persona recomendado por la comunidad científica internacional es menor a 5 g por día, equivalente a 2000 mg de sodio (OMS y FSA 2010). En Argentina, según datos del Ministerio de Salud de la Nación, el consumo de sal por persona ronda los 12 g diarios, equivalente a 4800 mg de sodio (CSRSI 2010) y, entre el 65% y el 70% de ese consumo proviene de alimentos procesados o industrializados y alimentos preparados en restaurantes, rotiserías y puestos de comida. Como consecuencia de esto, organismos nacionales e internacionales recomiendan reducir el consumo de sal para prevenir o reducir la incidencia de la hipertensión.

En Argentina se aprobó a finales de 2013 la Ley Nº 26.905 de Reducción del Consumo de Sodio, que plantea la reducción progresiva de la sal contenida en los alimentos procesados hasta alcanzar los valores máximos fijados por la cartera sanitaria nacional, en grupos alimentarios definidos.

Pero desde el punto de vista tecnológico, la sal resulta fundamental en la elaboración de la mayoría de alimentos, en particular en el caso de los productos cárnicos, en los que desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la textura, el sabor, el color y contribuye a la conservación (reduciendo el desarrollo de microorganismos). De hecho, el contenido de sodio en los "productos cárnicos y sus derivados" es tan elevado por la importancia que tiene en sus características finales, que constituyen uno de los tres grupos alimenticios contemplados por la Ley 26.905 para la reducción de su contenido de sodio. Por todo lo anterior, es que la reducción del contenido de cloruro de sodio en este tipo de alimentos resulta especialmente dificultosa y, hacerlo sin descuidar las características sensoriales del producto final, constituye un desafío.

Una estrategia empleada en numerosas investigaciones para reducir los niveles de sodio en alimentos es la sustitución parcial del cloruro de sodio por otras sales de cloro, de manera individual o combinadas (Armenteros Cuesta et al. 2009, Campagnol et al. 2011) que contribuyen a las mismas funciones tecnológicas que el cloruro de sodio, al mismo tiempo que mantienen las características sensoriales del producto que resulta más saludable, no sólo por la reducción de la concentración de sodio, sino también por el aporte de minerales importantes y beneficiosos para el organismo (Gimeno et al. 2001a y 2001b). Por otro lado, se conoce que existe una cierta relación entre la ingesta de calcio, potasio y/ o magnesio y la reducción de la presión arterial a corto plazo (Hooper et al. 2002, He y MacGregor 2004).

El objetivo de este estudio fue determinar la concentración mínima de cloruro de sodio que permitiera obtener productos cárnicos con características sensoriales apropiadas para los consumidores. Para ello, se elaboraron los productos con distintas concentraciones de sal, sustituyendo parcialmente el cloruro de sodio por cloruro de potasio en cuatro tratamientos. Posteriormente, se los sometió a un análisis sensorial por parte de un panel no entrenado y se midieron ciertas propiedades tecnológicas: textura, color, pH y contenido de humedad (relevante microbiológicamente y por el rendimiento) parámetros en los que la sal cumple un rol fundamental. Por último, se realizó también el recuento de los grupos microbianos más relevantes.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Elaboración de lomos de cerdo salado

El lomo salado es un producto elaborado a partir del músculo íleo-espinal del cerdo (prácticamente libre de grasa externa, aponeurosis y tendones) salado, adobado y embutido en papel celofán, que se somete a un proceso de maduración apropiado.

Se utilizó el proceso de elaboración tradicional de lomos de cerdo salados que consiste en las etapas de acondicionamiento, salado, lavado, embutido, secado y maduración.

Los lomos de cerdo frescos se adquirieron en una empresa cárnica de Villa María (Argentina). Se seleccionaron ocho en base a un criterio de homogeneidad de peso (3000 g  $\pm$  400 g) y longitud (50,5 cm  $\pm$  1,5 cm). Los lomos utilizados fueron fraccionados en tres unidades menores.

La mezcla utilizada en la etapa de salado contenía principalmente cloruro de sodio (NaCl) y cloruro de potasio (KCl) en distintas proporciones de acuerdo a un diseño experimental elaborado a partir de bibliografía de referencia (Aliño et al. 2009 y 2010) y que consiste en cuatro tratamientos que se detallan en la **Tabla 1**. Otros ingredientes (nitrato de sodio, nuez moscada, azúcar y pimienta blanca molida) que formaron parte de la mezcla empleada en los tratamientos de salado, fueron adquiridos, al igual que las sales de cloro, en dos empresas abastecedoras de este tipo de insumos (Villa María, Argentina).

**Tabla 1.** Tratamientos de salado aplicados.

| Tratamiento de salado | NaCl  | KCl  |
|-----------------------|-------|------|
| I                     | 100 % |      |
| II                    | 65 %  | 35 % |
| III                   | 50 %  | 50 % |
| IV                    | 40 %  | 60 % |

Nota: El tratamiento I (100% NaCl) corresponde al salado tradicional de estos productos cárnicos.

# Análisis de propiedades tecnológicas

#### Medición de color

Las mediciones de color se realizaron con colorímetro CR-400/410 (Konica Minolta Sensing Inc., Japón) en muestras de todos los tratamientos de los productos terminados, utilizando el iluminante D65 y el observador estándar 2º. Debido a la característica de la muestra (superficie húmeda) se utilizó como accesorio al equipo un tubo de proyección de luz con vidrio. Por cada muestra se obtuvieron 3 submuestras (rodajas de 1 cm de espesor). Se realizaron 3 mediciones por submuestra haciendo un total de 9 mediciones por tratamiento.

Los parámetros de color analizados fueron: L\* (luminosidad): (0 = negro y 100 = blanco); a\* (tono): (negativo = verde, positivo = rojo); b\* (tono): (negativo = azul, positivo = amarillo).

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el software Minitab 15.

#### Análisis del perfil de textura

Las mediciones instrumentales de textura se realizaron a temperatura ambiente sobre tarugos de 3 cm obtenidos a partir de rodajas de 1 cm de espesor del centro de cada pieza de producto terminado (para todos los tratamientos).

Se realizó un Análisis de Perfil de Textura (TPA) con un 50% de compresión, una velocidad de test de 300 mm/min y una *trigger force* de 0,5 N; utilizando un texturómetro TMS-Pro (Food Technology, Estados Unidos). La celda de carga utilizada fue de 500 N y la sonda de medición, un plato de aluminio de 100 mm de diámetro.

Los parámetros que constituyen el TPA son dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad y masticabilidad.

### Medición de pH

El pH se determinó usando un pH-metro, método potenciométrico en mezcla de producto y agua destilada (1:1) según norma ISO 2917:1999. Las mediciones se realizaron en muestras de los productos elaborados para cada uno de los tratamientos en 4 oportunidades: al inicio de la elaboración, durante el proceso en dos instancias: luego de los 10 días de salado y a los 15 días del secado, y en el producto final (es decir a los 30 días de secado).

# Medición de humedad

La cantidad de agua presente en los productos finales se determinó siguiendo el procedimiento gravimétrico según método oficial (ISO 1442:1997) mediante su desecación en una estufa a 105°C a presión atmosférica, hasta la obtención de peso constante.

Durante el proceso de secado se controlaron los lotes de los 4 tratamientos por pérdida de peso, permitiendo observar si la deshidratación era afectada por la variación del contenido de NaCl.

#### Análisis microbiológicos

Se cuantificaron bacterias acidolácticas (importantes desde el punto de vista sensorial) por recuento en placa (ISO 7889:2003) y de coliformes a través de la técnica del número más probable (ISO 4831:2006), como se indica en el Capítulo VI del Código Alimentario Argentino (Ley 18.284/69) en donde se establecen también criterios microbiológicos.

#### Análisis sensorial

La evaluación sensorial de los productos terminados fue llevada a cabo a través de pruebas afectivas, también conocidas como estudios de consumidores.

Seguidamente de la etapa de secado-maduración, los lomos con los cuatro tratamientos fueron sometidos a una evaluación hedónica, una prueba de aceptación global y una de preferencia, con la finalidad de evaluar la influencia del reemplazo parcial de NaCl por KCl sobre características sensoriales.

A los lomos salados curados se les eliminó la red y el papel celofán y se los cortó en rebanadas de aproximadamente 5 mm de espesor. Las rebanadas se dejaron reposar en un plato plástico blanco por 30 minutos a una temperatura de 20-23°C antes de servirse. Las muestras fueron evaluadas por un panel no entrenado de 50 miembros en tres sesiones diferentes. A cada uno se le proveyó un vaso de agua y una galleta sin sal después de cada muestra. Cada panelista debió completar una hoja de evaluación que le fue suministrada.

Para la prueba de nivel de agrado se utilizaron escalas hedónicas estructuradas (**Tabla 2**) para cuantificar la magnitud de la aceptabilidad de los productos.

**Tabla 2.** Formato del formulario utilizado en la prueba de nivel de agrado

| 1 | Me disgusta mucho     |
|---|-----------------------|
| 2 | Me disgusta bastante  |
| 3 | Me disgusta levemente |
| 4 | Indiferente           |
| 5 | Me gusta levemente    |
| 6 | Me gusta bastante     |
| 7 | Me gusta mucho        |

Para la prueba de aceptación, cada panelista escogió su tratamiento favorito y el que consideró debía ser totalmente rechazado y los registró al final de la hoja de evaluación.

# Análisis estadístico de resultados

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente empleando el software Statgraphics Centurion XVI (v 16.1.18), mediante un análisis de varianza ANOVA simple. En el caso en que el efecto de los factores o de la interacción fuera significativo, las medias fueron comparadas utilizando el método de la diferencia mínima significativa de Tukey (HSD) (p<0,05).

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Color

Los valores de cada uno de los parámetros estudiados para los lomos obtenidos a partir de cada tratamiento se muestran en la **Tabla 3**.

**Tabla 3**. Parámetros de color de producto final de las cuatro formulaciones de salado.

| Tratamiento | a*                    | b*                  | L*                           |
|-------------|-----------------------|---------------------|------------------------------|
| I           | $10,70^{-a} \pm 0,81$ | $1,47^{a} \pm 0,33$ | 42,47 a ± 1,98               |
| II          | $10,37^{-a} \pm 0,86$ | 1,20 a ± 0,66       | $44,40^{\text{ b}} \pm 2,24$ |
| III         | 11,02 a ± 1,29        | $1,41^{a} \pm 0,74$ | 46,16 ° ± 1,68               |
| IV          | $10,37^{a} \pm 1,14$  | $1,79^{a} \pm 0,40$ | $44,88^{b} \pm 1,73$         |
| Valor p     | ns                    | ns                  | **                           |

Nota: \*\*\*p<0,001; \*\*p<0,01; \*p<0,05; ns (no significativo) p>0,05.

Letras diferentes en la misma columna corresponden a valores con diferencias significativas

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) en los parámetros a $^*$  y b $^*$  al comparar los valores obtenidos para los lomos salados elaborados con cada tratamiento. Sin embargo, existen diferencias significativas para el parámetro L $^*$ : la media para el Tratamiento I es menor que cualquiera de los otros tres tratamientos con sustitución parcial de NaCl por KCl.

Estos resultados coinciden con los encontrados por Aliño et al. (2010) quienes no observaron diferencias significativas para los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  para lomos salados con cuatro formulaciones diferentes, pero sí para el parámetro  $L^*$ .

Este comportamiento puede deberse a que al disminuir la concentración de NaCl, hay menor modificación de las cargas electrostáticas de las proteínas miofibrilares, menor disponibilidad de agua en la superficie aumentando así la reflexión de la luz y en consecuencia el parámetro L\*.

#### Perfil de textura

El análisis de textura se llevó a cabo en los productos terminados. Se observaron diferencias significativas (p<0,05) en la cohesividad y elasticidad (**Tabla 4**).

Tabla 4. Parámetros de textura de producto final de las cuatro formulaciones de salado.

| Tratamiento | Dureza           | Adhesividad         | Cohesividad           | Elasticidad         | Masticabilidad              |
|-------------|------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------------|
|             | $(kg m s^{-2})$  | $(kg m^2 s^{-2})$   |                       |                     | (kg)                        |
| I           | 104,96 a ± 15,61 | $6,42^{a} \pm 2,37$ | $0,60^{a} \pm 0$      | $4,12^{a} \pm 0,17$ | 264,77 <sup>a</sup> ± 52,49 |
| II          | 104,38 a ± 11,82 | $6,07^{a} \pm 0,95$ | $0.67^{\ b} \pm 0.05$ | $4,46^{b} \pm 0,11$ | 304,68 a ± 44,86            |
| III         | 101,20 a ± 13,67 | 4,32 a ± 1,37       | $0,60^{a} \pm 0$      | 4,14 a ± 0,11       | 245,37 a ± 26,59            |
| IV          | 108,06 a ± 13,51 | 4,06 a ± 1,89       | $0,60^{a} \pm 0$      | $4,24^{c} \pm 0,19$ | 270,68 a ± 30,05            |
| Valor p     | ns               | ns                  | **                    | **                  | ns                          |

Nota: \*\*\*p<0,001; \*\*p<0,01; \*p<0,05; ns (no significativo) p>0,05.

Letras diferentes en la misma columna corresponden a valores con diferencias significativas

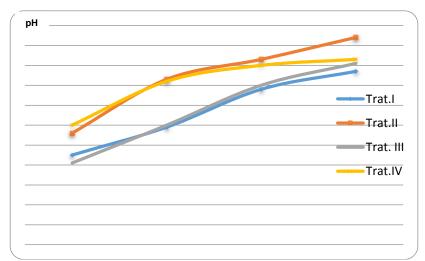
Resultados similares encontró Corral Silvestre (2010) en cuanto a la cohesividad de productos elaborados con diferentes tratamientos de salado. Gou et al. (1996) encontraron diferencias en la elasticidad de lomos con sustitución de NaCl por KCl del 50% y 60%, lo que coincide con los resultados de este estudio.

#### рH

Para productos como el lomo de cerdo salado, el pH de la pieza fresca para comenzar con el proceso de transformación debería oscilar entre 5,4 y 5,8 (Andújar et al. 2003).

El pH de salazones cárnicas tiende a aumentar ligeramente, tanto en superficie como en el interior, a lo largo del proceso (Sánchez-Molinero 2003). En la superficie del producto el pH suele fluctuar por factores aleatorios, por lo que las muestras fueron tomadas de lonjas internas de las diferentes piezas.

La evolución del pH desde la materia prima, durante el proceso de elaboración y hasta el producto terminado, con las cuatro formulaciones se muestra en la Figura 1. Se observa un incremento de pH durante el proceso de curado, en especial en el producto elaborado con el tratamiento III (p $H_{inicial}$ : 5,61; p $H_{final}$ : 6,11). Algo menos intenso es el incremento para el tratamiento I (p $H_{inicial}$ : 5,65; p $H_{final}$ : 6,07); es más ligero aún en el tratamiento II (p $H_{inicial}$ : 5,76; p $H_{final}$ : 6,24) y aún menos acentuado en el tratamiento IV (p $H_{inicial}$ : 5,80; p $H_{final}$ : 6,13).



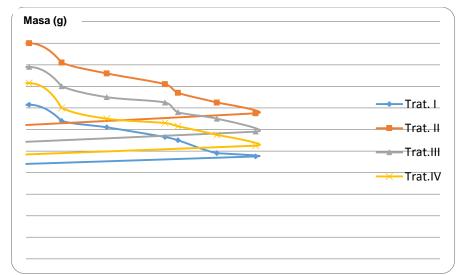
**Figura 1.** Evolución del pH durante el proceso de transformación de lomo fresco a lomo salado y curado con cuatro formulaciones de salado diferentes.

Como puede observarse en la Figura 1, el pH de la materia prima es adecuado. El valor promedio de pH de todos los lomos fue de  $5.71 \pm 0.09$ . El análisis estadístico de los valores de pH del producto final para cada tratamiento de salado aplicado, reflejó que no existen diferencias significativas entre ellos con un nivel de confianza del 95%.

Resultados similares obtuvieron Gelabert et al. (2003) y Campañol et al. (2011), que utilizaron KCl como sustituto sin encontrar influencia alguna sobre el pH en lomos curados y salame.

#### Contenido de humedad

En el caso de los productos elaborados, a lo largo del proceso de secado al que fueron sometidos se realizó el seguimiento de las pérdidas de peso, lo que permitió controlar la deshidratación de las piezas, hasta alcanzar una merma del 39%  $\pm$ 3% respecto al peso inicial del lomo fresco en el mismo período. La tendencia de esta progresiva deshidratación puede observarse en la **Figura 2**.



**Figura 2.** Evolución de la pérdida de peso durante su secado-estacionamiento de los lomos con cuatro formulaciones de salado diferentes.

La velocidad a la que debe de producirse la deshidratación debe ser tal que al cabo de dos semanas las pérdidas de peso sean de alrededor de 20% y 40%, para este tipo de productos. En la **Figura 2** se puede observar que los valores de humedad descendieron progresivamente al aumentar el tiempo de procesado, lo que concuerda con los resultados obtenidos por otros autores (Muriel 2003, Morcuende 2005). Se produjo un descenso significativo (p<0,05) de la humedad en las cuatro formulaciones a lo largo del proceso de curado. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Aliño et al. (2009 y 2010) y por Hernández Cazeres (2010) en su tesis doctoral.

La disminución de peso de las muestras en cada tratamiento es adecuada y la reducción de NaCl no afecta la velocidad de la deshidratación proporcionada del producto.

Se estudió, además, la merma en los cuatro tratamientos a los 20 días de maduración con la finalidad de verificar la velocidad de deshidratación, habiéndose encontrado que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 muestras con un nivel de confianza del 95%. Valores similares se presentan en el trabajo de Aliño et al. (2010).

#### Análisis microbiológicos

Los resultados de los recuentos microbiológicos (coliformes y BAL) se muestran en la **Tabla 5**. No se encontraron diferencias significativas (p<0,05) en los recuentos de los microorganismos estudiados entre las diferentes formulaciones de sal aplicadas. Esto podría estar relacionado a que el pH y el contenido de humedad de los productos finales tampoco sufrieron cambios significativos con el mismo nivel de confianza al sustituir parcialmente el NaCl por KCl.

Corral Silvestre (2010) y Aliño et al. (2009 y 2010) tampoco encontraron diferencias significativas para coliformes y BAL en distintos tratamientos de salado empleados en embutidos curados.

Estos resultados indican que el NaCl puede ser reemplazado por KCl en lomos hasta un 60% sin riesgos bromatológicos.

**Tabla 5.** Valores medios (± Desviación estándar) de análisis microbiológicos (log ufc/g) de coliformes y BAL en producto final de las cuatro formulaciones aplicadas.

| Tratamiento  | Coliformes    | BAL                  |
|--------------|---------------|----------------------|
| Tratamilento | (log10 ufc/g) | (log10 ufc/g)        |
| I            | < 1           | $2,46^{a} \pm 0,085$ |
| II           | < 1           | $2,49^{a} \pm 0,068$ |
| III          | < 1           | 2,45 a ± 0,072       |
| IV           | < 1           | $2,47^{a} \pm 0,061$ |
| р            | ns            | ns                   |

Nota: \*\*\*p<0,001; \*\*p<0,01; \*p<0,05; ns (no significativo) p>0,05.

Letras diferentes en la misma columna corresponden a valores con diferencias significativas

#### Análisis sensorial

La aceptación de los alimentos por parte del consumidor se debe principalmente a las características sensoriales que presenta, que son el resultado del empleo de una buena materia prima y un adecuado procesamiento. El salado es una etapa crítica en la elaboración de lomos de cerdo salados, a partir de la cual la pieza desarrolla características de aspecto, textura, sabor y aroma deseadas y propias del producto.

La **Tabla 6** y la **Figura 3** muestran los resultados de la prueba hedónica de consumidores realizada al final del proceso de los lomos elaborados con diferente contenido de sales, de acuerdo a la escala utilizada que se expuso en **Tabla 2**.

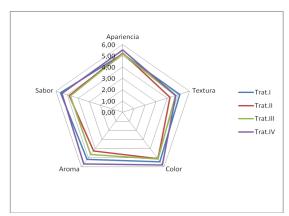
**Tabla 6.** Análisis sensorial de los lomos salados con las cuatro formulaciones diferentes.

| Tratamiento | Apariencia               | Textura              | Color                    | Aroma                | Sabor               |
|-------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|---------------------|
| I           | 5,18 <sup>a</sup> ± 1,31 | $5,14^{a} \pm 0,97$  | $5,43^{a} \pm 0,99$      | $5,18^{ab} \pm 1,22$ | $5,61^{a} \pm 1,23$ |
| II          | 5,25 a ± 1,74            | $4,25^{b} \pm 1,11$  | 5,11 <sup>a</sup> ± 1,03 | 4,25 a ± 1,84        | 4,82 a ± 1,83       |
| III         | 5,18 a ± 1,42            | $4,75^{ab} \pm 1,24$ | 5,14 a ± 1,56            | $4,64^{ab} \pm 1,83$ | 4,71 a ± 1,86       |
| IV          | 5,54 a ± 1,17            | $4,79^{ab} \pm 1,20$ | 5,79 a ± 1,03            | $5,68$ bc $\pm 1,28$ | 5,46 a ± 1,23       |
| р           | ns                       | **                   | ns                       | **                   | Ns                  |

Nota: \*\*\*p<0,001; \*\*p<0,01; \*p<0,05; ns (no significativo) p>0,05.

Letras diferentes en la misma columna corresponden a valores con diferencias significativas

El aroma y la textura fueron los atributos sensoriales afectados por la reducción de sal. Para ambos, pueden observarse valores más bajos en los tratamientos II y III respecto del control y el tratamiento IV. A este último le corresponden las mejores puntuaciones de apariencia, color y aroma, lo que se condice con los resultados del estudio de preferencia, en el que resultó el segundo más elegido por los consumidores (29%), después del control (32%).



**Figura 3.** Perfil sensorial de los lomos salados con cuatro Tratamientos de salado.

Las diferencias que encontró el panel en la textura del tratamiento II coinciden con los resultados de la determinación del perfil de textura, donde se habían encontrado diferencias significativas para la cohesividad y elasticidad para este tratamiento.

En cuanto a la aceptación general del producto final, el 57% de los consumidores consideró que ninguno de los tratamientos debía ser rechazado. Sólo el 4% rechazó el tratamiento IV y el 7%, el tratamiento I. Los tratamientos II (11%) y III (21%) fueron los más rechazados. Estos resultados son muy positivos, ya que indica que hasta el tratamiento más desfavorable no fue rechazado por los panelistas, por el contrario fue el segundo más elegido luego del control, como se comentó con anterioridad.

Campagnol et al. (2011) observaron una depreciación del aroma al emplear 50% de KCl como sustituto en lomo salado. Armenteros Cuesta et al. (2009) sólo encontraron diferencias significativas en sabor, textura y aroma para tratamientos en lomos con reemplazos del 70% de NaCl por KCl con respecto al control.

#### **CONCLUSIONES**

Tanto los análisis de las propiedades tecnológicas y los recuentos microbiológicos, como el análisis sensorial al que fueron sometidos los lomos de cerdo salados elaborados con los cuatro tratamientos propuestos, mostraron que una sustitución del 60% de NaCl con KCl, permite obtener productos con características sensoriales muy buenas. De hecho, este tratamiento fue seleccionado en segundo lugar de preferencia por el panel que evaluó sus características sensoriales y fue el menos rechazado, incluyendo el tratamiento control. Los resultados de la medición de los parámetros tecnológicos coinciden con las apreciaciones del panel que llevó a cabo el análisis sensorial. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas entre el pH y el contenido de humedad finales de los productos elaborados con los cuatro tratamientos, lo que se vio reflejado en el desarrollo de los grupos microbianos estudiados, que tampoco se afectó significativamente con el mismo nivel de confianza. Esto último es muy importante ya que significa que no se generan problemas bromatológicos al sustituir parcialmente al NaCl por KCl en la elaboración de lomos de cerdo salados.

A partir de todo lo anterior y, teniendo en cuenta el objetivo de esta investigación, es posible asegurar que el tratamiento de salado IV (40% NaCl – 60% KCl) presenta características sensoriales apropiadas para los consumidores, al mismo tiempo que la reducción en su concentración de sodio lo convierte en un alimento más saludable que su contraparte tradicional, lo que no sólo resulta beneficioso para los consumidores, sino que también constituye una solución para la industria cárnica en Argentina que debe adaptarse a la nueva legislación que exige reducir la concentración de sodio en los productos que elaboran.

# **BIBLIOGRAFÍA**

Aliño M, Grau R, Toldrá F, Blesa E, Pagán MJ, Barat JM. 2009. Influence of sodium replacement on physicochemical properties of dry-cured loin. Meat Science, 83: 423-430.

Aliño M, Grau R, Toldrá F, Blesa E, Pagán MJ, Barat JM. 2010. Physicochemical properties and microbiology of dry-cured loins obtained by partial sodium replacement with potassium, calcium and magnesium. Meat Science, 85: 580-588.

Andújar G, Pérez D, Venegas O. 2003. Química y bioquímica de la carne y los productos cárnicos. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Editorial Universitaria Ciudad de La Habana, Cuba.

Armenteros M, Aristoy MC, Barat JM, Toldrá F. 2009. Biochemical changes in dry-cured loins salted with partial replacements of NaCl by KCl. Food Chemistry, 117: 627-633.

Campagnol PCB, Santos BA, Wagner R, Terra NN, Pollonio MAR. 2011. The effect of yeast extract addition on quality of fermented sausages at low NaCl content. Meat Science, 87: 290-298.

Committee on Strategies to Reduce Sodium Intake (CSRSI). 2010. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (US). Henry JE, Taylor CL, Boon CS Editors. Strategies to reduce sodium intake in the United States. Washington DC: The National Academies Press.

Corral Silvestre S. 2010. Tesis de Magíster en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos: Efecto de la reducción de sal en la calidad de embutidos crudo curados. Universidad Politécnica de Valencia Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos.

Gelabert J, Gou P, Guerrero L, Arnau J. 2003. Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. Meat Science, 65: 833–839.

Gimeno O, Astiasarán I, Bello J. 2001a. Calcium ascorbate as a potential partial substitute for NaCl in dry fermented sausages: effect on color, texture and hygienic quality at different concentrations. Meat Science, 57: 23-29.

Gimeno O, Astiasarán I, Bello J. 2001b. Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl<sub>2</sub> on microbiological evolution of dry fermented sausages. Food Microbiology, 18: 329-334.

Gou P, Guerrero L, Gelabert J, Arnau J. 1996. Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. Meat Science, 42: 37-48.

He FJ, MacGregor GA. 2003. How far should salt intake be reduced? Hypertension, 42: 1093-1099.

He FJ, MacGregor GA. 2004. Effect of longer-term modest salt reduction on blood pressure. In: The Cochrane Database of Systematic Reviews, 1, Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.

He FJ, MacGregor GA. 2007. Dietary salt, high blood pressure and other harmful effects on health. Reducing salt in foods, practical strategies. Eds: Kilcast, D. and Angus. CRC Press, Estados Unidos: 19-53.

Hernández Cazares AS. 2010. Tesis doctoral: Control de calidad y seguridad de la carne y productos cárnicos curados mediante el uso de sensores enzimáticos. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Valencia, España.

ISO 1442:1997. Meat and meat products. Determination of moisture content (Reference method).

ISO 2917:1999. Meat and meat products. Measurement of pH. Reference method.

ISO 4831:2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms. Most probable number technique.

ISO 7889:2003. Yogurt. Enumeration of characteristic microorganisms. Colony count technique at 37° C.

Lev-Ran A, Porta M. 2005. Salt and hypertension: a phylogenetic perspective. Diabetes Metabolism Research and Reviews, 21: 118-131.

Ley 18.284/69 (Dto. 2126/71). Código Alimentario Argentino. Anexo I. 1969-1971. Capítulo VI: Alimentos Cárneos y Afines. Última actualización 2014.

Ley 26.905/13. Consumo de sodio. Valores Máximos.

Mohan S, Campbell NRC. 2009. Salt and high blood pressure. Clinical Science, 117: 1-11.

Morcuende D. 2005. Evaluación tecnológica de la carne de cerdo Duroc y sus cruces con el cerdo Ibérico destinada a la producción de carne fresca y su transformación en productos cárnicos curados. (Tesis Doctoral). Universidad de Extremadura, Facultad de Veterinaria. Cáceres, España.

Organización Mundial de la Salud. 2011. Causes of death 2008: data sources and methods. Ginebra.

Muriel E. 2003. Estudio comparativo de parámetros fisicoquímicos y sensoriales de Lomo Ibérico. (Tesis Doctoral). Universidad de Extremadura, Facultad de Veterinaria. Cáceres, España.

Organización Mundial de la Salud. 2013. Proyecto revisado y actualizado. Plan de acción mundial para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles 2013-2020.

Organización Mundial de la Salud; Food Standards Agency. 2010. Creating an enabling environment for population-based salt reduction strategies. Informe de la reunión técnica conjunta llevada a cabo por la OMS y la Food Standards Agency, Reino Unido, Julio 2010, 1: 3-42.

Sánchez-Molinero F. 2003. Modificaciones tecnológicas para mejorar la seguridad y calidad del jamón curado. (Tesis Doctoral). Universitat de Girona. Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària. Girona, España.

# **AGRADECIMIENTOS**

A la Ing. Esp. Viviana Silvia Renaud, coordinadora de la Unidad Técnica Tecnología y Desarrollo de Productos del Centro de Investigación y Tecnología Industrial de Carnes (INTI-Carnes), del Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI) por su colaboración en los ensayos de color y textura.



69

#### VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

# Valor nutricional de la harina de lombriz como fuente de proteínas y minerales

Cruz MF <sup>1</sup>, Giunta SA <sup>1</sup>, Zutara MS <sup>1</sup> y VelasquezGuzman EF <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ingeniería - Universidad Nacional de Jujuy, Ítalo Palanca 10, San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina.

<sup>2</sup> CONICET

Dirección de e-mail: cmarianafdv@gmail.com

#### **RESUMEN**

La lombricultura es una biotecnología de elevado interés ecológico y nutricional, con dos objetivos principales: primero como una alternativa de reciclaje de desechos orgánicos de diferentes orígenes; y segundo como una fuente de proteína no convencional de bajo costo. El objetivo de este trabajo fue determinar la composición nutricional de la harina de lombriz liofilizada (HL) para ser utilizada en productos alimenticios. Para realizar este estudio, las lombrices se convirtieron previamente en harina mediante la liofilización. Se realizó el análisis proximal (proteínas, lípidos, cenizas y fibras) de la HL por triplicado, aplicando los Métodos A.O.A.C. (1995). Los carbohidratos solubles se calcularon por diferencia (composición centesimal). Para la determinación de Ca, Fe, Mg, Zn, Cu, Mn y P se utilizó un espectrofotómetro UV/Visible. El contenido de lisina se determinó por HPLC. Los resultados demostraron que esta harina es una fuente potencial de proteínas de alto valor biológico y minerales para la fortificación de alimentos para consumo humano, representando una alternativa a nivel industrial.

Palabras Clave: Eisenia foetida, harina, proteínas, minerales.

#### ABSTRACT

Vermiculture is a biotechnology of high ecological and nutritional value, with two main objectives: first as a recycling alternative of organic waste from different sources; and second as a source of unconventional low cost protein. The aim of this study was to determine the nutritional composition of the freeze-dried meal worm (HL) for use in food products. For this study, the worms were turned into flour previously by lyophilization. Proximate analysis (proteins, lipids, ash and fiber) on HL was performed in triplicate, applying the A.O.A.C. Methods (1995). Soluble carbohydrates were calculated by difference (percentage composition). A UV / Visible spectrophotometer was used to determine Ca, Fe, Mg, Zn, Cu, Mn and P. Lysine content was determined by HPLC. The results showed that this flour is a potential source of proteins of high biological value and minerals to be used in the fortification of food for human consumption, representing an alternative at industrial scale.

**Keywords:** *Eisenia foetida*, flour, proteins, minerals.

#### INTRODUCCIÓN

La lombricultura es una biotecnología de elevado interés ecológico y nutricional, con dos objetivos principales: primero como una alternativa de reciclaje de desechos orgánicos de diferentes fuentes y segundo como una fuente de proteínas no convencional de bajo costo (Vielma et al., 2003).

La harina de lombriz es un producto que se caracteriza por poseer un elevado contenido de proteínas (70%) de interés nutricional, además de proporcionar aminoácidos esenciales como la lisina para la dieta humana, la cual es fundamental para un correcto y adecuado crecimiento: estimulando la hormona del crecimiento, mejorandola absorción de calcio y la inmunidad del organismo porque interviene en la producción de anticuerpos (FAO, 2010).

La obtención de harina es favorecida porque las lombrices se alimentan de desechos orgánicos, crecen a una alta velocidad y se multiplican rápidamente (Castillo et al., 2010).

Análisis proximales de la harina de este anélido reportan niveles de proteínas bastante elevados. Por ejemplo, García et al. (2009) señalan un nivel de 57,29%, Vielma Rondón y Medina (2006) citan porcentajes de 61,8 a 70% y Gabetta (2004) halla valores de 62 a 82%. Por otra parte, si se compara el aporte proteico de la harina de lombriz con otros rubros, como por ejemplo la leche y levaduras con 27,3 y 32% de proteínas

respectivamente, se podría observar que es bastante atractiva e invita a pensar que se puede producir un producto de altísima calidad, rentable y de muy bajo costo (Schuldt, 2006).

Es importante resaltar que, en la mayoría de los países, el prejuicio cultural y la falta de información de los beneficios que presenta esta lombriz son los que no han permitido su utilización oficial en el campo alimenticio humano. Sin embargo, algunos países orientales como China, Japón, Filipinas, Taiwán, la han incorporado al consumo humano (Schuldt, 2006).

Este recurso no convencional se podría utilizar como alternativa nutricional, dado que contiene los elementos esenciales para la alimentación humana; así como para la formulación de alimentos balanceados para animales, especialmente aves, cerdos y peces (Guillaume; 1999). Estos últimos son muy exigentes dentro de sus requerimientos básicos, necesitan para su desarrollo 40% de proteínas en su dieta, además de ácidos grasos esenciales, vitaminas y minerales (Phillips et al., 2008).

El objetivo de este trabajo fue determinar la composición nutricional de la harina de lombriz liofilizada (HL) para ser utilizada en productos alimenticios.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

Las muestras fueron obtenidas de la lombriz *Eisenia foetida* en estado adulto (3 meses) en el Laboratorio de Ensayos Biológicos (BIOLAB) de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Jujuy. Las lombrices fueron alimentadas con estiércol de caballo y residuos vegetales. A este compostaje se le controló la temperatura, humedad y pH para garantizar el óptimo crecimiento de las lombrices (Schuldt, 2006).

#### Pre-tratamiento de las muestras

Se seleccionaron aleatoriamente 300 lombrices, se lavaron profusamente y luego se conservaron durante 24 horas en un recipiente con agua e insuflación de aire. Luego se liofilizaron durante 3 días a -40°C y 1,33 mbar. Finalmente, las lombrices secas se sometieron a una molienda hasta el grado de un producto (HL) harinoso homogéneo (Vielma et al., 2003), el cual fue envasado al vacío.

#### Determinación de la composición química de la HL

Se realizó el análisis proximal (proteínas, lípidos, cenizas y fibras) de la HL por triplicado, aplicando los Métodos A.O.A.C. (1995). Los carbohidratos solubles se calcularon por diferencia (composición centesimal).

# Determinación de minerales y elementos trazas de la HL

Para la determinación de Ca, Fe, Mg, Zn, Cu y MnSe utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer. En la determinación de P se utilizó un espectrofotómetro UV/ visible Perkin Elmer Lambda 11.

Digestión de la muestra: Para la determinación de Ca, Fe, Mg, Zn, Cu y Mn, se pesaron 0,5 g de muestra de HL por triplicado y se digirieron siguiendo el método de Vielma Rondón et al., 2007. Para ello se agregaron 15 mL de ácido nítrico concentrado y se calentó a 150°C durante 1 h: 15 min, luego se agregaron 2 mL de peróxido de hidrógeno 30% (w/v) y la digestión se completó hasta 1 h: 20 min. Para la determinación de fósforo (P), se pesaron por duplicado 2 g de HL. Estas muestras fueron colocadas en crisoles de porcelana de 50 mL de capacidad y luego llevadas a una mufla a 550°C durante 24 horas (AOAC, 1995). Las cenizas obtenidas se disolvieron con 10 mL de ácido clorhídrico al 50% enseguida se calentó hasta obtener un volumen final de 2 mL, luego se agregó 10 mL de ácido clorhídrico al 10% y se trató de igual manera a la descripta anteriormente, finalmente se adicionó 10 mL de agua desionizada repitiendo el tratamiento anterior. Posteriormente, el residuo fue retomado con 25 mL de agua desionizada, filtrado en papel Whatman N° 42 y el filtrado fue llevado hasta volumen en un balón de 50 mL agua desionizada. De esta solución se tomaron 3 mL y se llevaron hasta volumen de 100 mL agua desionizada. Finalmente, a 5 mL de esta solución se le agregaron 5 mL de una solución de molibdato de amonio y 2 mL de solución de ácido amino naftol sulfónico (ANSA) y luego se enrasó hasta 50 mL agua desionizada (Boscan, 1977; Vielma Rondón et al., 2007).

Determinación analítica de los elementos: Los niveles de Ca, Fe, Mg, Zn, Cu y Mn fueron determinados usando el método de Análisis por Inyección de Flujo-Espectrometría de Absorción Atómica (FIA-EAA) (Burguera et al. 1986; León et al. 1986; Burguera et al. 1990). El contenido de P fue analizado por espectroscopia UV/ visible siguiendo la metodología de (Boscán 1977; Rodier 1990). Para la elaboración de la curva de calibración se prepararon patrones acuosos de concentración apropiada para cada elemento. La longitud de onda (nm) utilizada para los análisis de cada elemento fue la siguiente: (Ca: 422,7; Fe: 248,3; Mg: 285,2; Zn: 213,9; Cu: 324,8; Mn: 279,0 y P: 700,0 nm).

#### Determinación de lisina de la HL

El contenido de lisina se determinó por HPLC.Muestras de hidrolizados proteicos: Se pesó por duplicado 0,0200 g de HL. Cada una de las muestras se transfirió a una ampolla (de color ámbar) junto con 2 mL de ácido clorhídrico 12 M. La hidrólisis se realizó a 110°C durante 24 horas. Las ampollas se conservaron a – 20°C hasta el momento de preparar las soluciones de trabajo (1 a 2 semanas). El producto del hidrólisis ácida se transfirió a un balón de 25 mL de capacidad y se llevó a volumen con agua mili Q. Esta solución se filtró utilizando una membrana filtrante de 0,45 mm. Se midió 1 mL del filtrado, se transfirió a un balón de 10 mL junto con 6 mL de hidróxido de sodio 0,1 M y finalmente se enrasó con ácido acético 30 mM (muestras HL-1). A partir de estas muestras se prepararon las soluciones muestra HL-2 mediante diluciones 2:10 (v/v) con ácido acético 30 mM. Las disoluciones a ser ensayadas se prepararon inmediatamente antes de la derivatización de los aminoácidos.

*Preparación de las soluciones: Solución patrón de aminoácidos individuales (SP1):* se pesó por separado una muestra de cada aminoácido equivalente a 2 μM, y luego se prepararon soluciones de trabajo equivalentes a 20 mM utilizando solución de ácido acético 30 mM como disolvente. Todas las soluciones fueron transferidas a viales de color ámbar y sellados bajo atmósfera de nitrógeno y conservadas a – 20°C (1 a 2 semanas). Solución patrón de trabajo de una mezcla de aminoácidos (SP2): se preparó una serie de soluciones de una mezcla de aminoácidos individuales equivalentes a una concentración de 0, 2, 4, 8, 12, 16 y 32 μM para cada aminoácido, usando la metodología ya mencionada (Vielma Rondón et al, 2003).

Derivatización: Se transfirió 100 mL de la solución a ensayar (patrón o muestra) a un vial bajo atmósfera de nitrógeno y 200 μL del reactivo derivatizante (OPA). Exactamente después de 60 segundos se agregó 500 μL de una solución buffer 0,4 M de borato de potasio (pH 10) y seguidamente se selló y agitó. Dado que los aminoácidos derivatizados con OPA sólo son estables por un corto periodo de tiempo, las inyecciones en el cromatógrafo de los OPA-derivados se realizaron dentro de los dos minutos siguientes a la derivatización (Vielma Rondón et al. 2003).

*Parámetros cromatográficos:* Fase móvil A: 50 mM de fosfato monosódico ajustado a pH 7,2. Fase móvil B: metanol-buffer fosfato (70:30, v/v). Flujo: 2 mL/min. Temperatura de la columna: ambiente ( $\pm$  20°C). Volumen de inyección: 10 μL. Detector: Fluorescencia, filtro 1,5 y atenuación 16 x 100. Detección: excitación 340 nm y emisión 455 nm. Gradiente (T-%B-curva): (0-10-cóncava); (35- 65-cóncava); (45-90-convexa).

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar los resultados, expresados en base seca (BS), del análisis proximal de la HL (Tabla 1) observamos que presenta un contenido de humedad de 9,79%. Dicho valor se considera satisfactorio porque está por debajo del Límite Máximo de Humedad para harinas (15% = 15 g/100g) establecido por el Código Alimentario Argentino. Vielma Rondón et al. (2006) encuentran valores de humedad de 11,6% para HL, el cual supera al obtenido en este trabajo.

El nivel de proteínasde la muestra fue de 54,07%, dichas proteínas son de alta calidad ya que la liofilización se llevó a cabo a – 40°C, no produciendo pérdida alguna de este macronutriente. El valor anterior está por debajo del contenido de proteínas que exponen García et al. (2009) el cual corresponde a 57,29%, también Vielma Rondón et al. (2006) encuentran un valor de proteínas de 62,3% para HL. La diferencia entre el contenido proteico obtenido en esta investigación para este tipo de harina y el de dichos autores, puede estar relacionada al tipo de alimentación de las lombrices durante el periodo experimental, el nivel de nitrógeno de la dieta y la cantidad del mismo que fue asimilado por las lombrices (Vielma Rondón et al., 2003), variaciones en la precisión de las técnicas, así como al proceso usado para la obtención de la harina de lombriz. De todas maneras, el porcentaje de proteínas obtenido en este trabajo indica que la misma es un producto altamente proteico y disponible para la utilización en la alimentación animal y humana.

La Ingesta Diaria Recomendada (IDR) de proteínas por el Código Alimentario Argentino (CAA) en el año 2008 para hombres de 19 a 65 años (H), mujeres de 19 a 50 años (M), niños de 1 a 3 años (N1-3), niños de 4 a 6 años (N4-6) y niños de 7 a 9 (N7-9) es de 56, 46, 13, 19 y 34 g respectivamente. Por lo tanto, podemos decir que 100g de HL cubrirían más del 100% de proteínas respecto a la IDR para M, N1-3, N4-6 y N7-9, en tanto para H sólo cubrirían un 96,5%.

La muestra de HL también presentó 4,37% de contenido lipídico. García et al. (2009) informan un 4,81% de lípidos en lombrices alimentadas con estiércol bovino, valor próximo al encontrado en este trabajo. Sin embargo, Vielma et al. (2006) exponen un nivel de lípidos de 7,9% para HL, el cual está por encima del

resultado obtenido en esta investigación. La diferencia entre el contenido lipídico obtenido para HL y el de dichos autores, puede estar relacionada al tipo de alimentación de las lombrices durante el periodo experimental.

El porcentaje de fibras para HL fue de 2,12%. Dicho valor se aproxima al reportado por Vielma Rondón et al. (2006), elcual corresponde a 2% para HL, y por García et al. (2009) que exponen 2,82%. Esta mínima diferencia entre el resultado obtenido y los datos bibliográficos puede deberse al estado de madurez, procedencia y mal purgado de las lombrices.

La cantidad de cenizas para HL fue de 10,42%. Vielma Rondón et al. (2006) encuentra un porcentaje de cenizas de 7,9% para HL, el cual está por debajo del obtenido en esta investigación. El alto valor en cenizas de la harina analizada puede deberse a que las lombrices pudieron adsorber cuantiosamente minerales en el proceso de biotransformación de los desechos orgánicos de cada tipo de alimento suministrado (García et al., 2007). Sin embargo, García et al. (2009) informan que dicha harina presenta un porcentaje de cenizas entre 9,6 y 15,45%, en este rango se encuentran el resultado reportado en este trabajo.

El contenido de lisina para HL fue de 8,41 g/100 g de proteína. Este valor supera al obtenido por Vielma Rondón et al., (2003), el es de 4,3 g/100 g de proteína, y también a lo exigido por la FAO/OMS (1985), cuyo valor es de 4,2 g/100 g de proteína por día.

| Tabla 1. Composición química de la 112. |       |  |
|---|-------|--|
| Componente(% BS)                        | HL    |  |
| Humedad                                 | 9,79  |  |
| Proteínas                               | 54,07 |  |
| Lípidos                                 | 4,37  |  |
| Fibras                                  | 2,12  |  |
| Cenizas                                 | 10,42 |  |
| Carbohidratos                           | 19,23 |  |

Tabla 1. Composición química de la HL

Está comprobado que, para su desarrollo, los peces de agua fría necesitan 40% de proteínas, además de ácidos grasos esenciales, vitaminas y minerales (Guillaume; 1999). De acuerdo al resultado obtenido en esta investigación, la HL presentaun valor superior, 54,07%. Por lo tanto, es de resaltar que este recurso no convencional se podría utilizar como alternativa nutricional, ya que contiene un alto porcentaje de proteínas, lo cual es necesario para la formulación de alimentos balanceados para peces.

También, este tipo de alimento contiene los nutrientes esenciales en niveles satisfactorios para la alimentación humana porque el valor de proteínas obtenido en el análisis proximal de la HL resultó ser superior a los de algunos alimentos tradicionales reportados en las Tablas Nacionales de Composición de Alimentos (2010) para Argentina en las bases de datos FAO/INFOODS (Tabla 2).

**Tabla 2.** Composición química de diferentes alimentos tradicionales según las bases de datos FAO/INFOODS de composición de alimentos (2010).

| 1116/11/11 CODE de composicion de ammentos (2016). |                          |                      |                                   |
|--|--------------------------|----------------------|-----------------------------------|
| Componente (% BS)                                  | Harina integral de trigo | Harina de trigo 0000 | Harina de maíz<br>(polenta cruda) |
| Proteína cruda                                     | 11,4                     | 10,2                 | 11,1                              |
| Grasas totales                                     | 3                        | 2,6                  | 3,2                               |
| Fibra  | 12,6                     | 3,3                  | -                                 |
| Cenizas  | 1,81                     | 0,31                 | 1,10                              |



| Tabla 5. Composición de minerales de la FL. |                       |         |      |      |          |      |      |  |  |
|---|-----------------------|---------|------|------|----------|------|------|--|--|
| Minerales                                   | IDR por el CAA, 2008. |         |      |      |          |      |      |  |  |
|   | HL                    | HL*     |      |      | (mg/día) |      |      |  |  |
| (mg/ 100g)                                  |                       |         | Н    | M    | N1-3     | N4-6 | N7-9 |  |  |
| Ca  | 209,1                 | 211,26  | 1000 | 1000 | 500      | 600  | 700  |  |  |
| Fe  | 98,2                  | 104,99  | 14   | 29   | 6        | 6    | 9    |  |  |
| Mg  | 91,3                  | 91,70   | 260  | 220  | 60       | 73   | 100  |  |  |
| Zn  | 3,92                  | 4,39    | 7    | 4,9  | 4,1      | 5,1  | 5,6  |  |  |
| Cu  | 1,75                  | 1,90    | 0,9  | 0,9  | 0,34     | 0,44 | 0,44 |  |  |
| Mn  | 3,87                  | 4,92    | 2,3  | 1,8  | 1,2      | 1,5  | 1,5  |  |  |
| P   | 1001,2                | 1075,59 | 700  | 700  | 460      | 500  | 500  |  |  |

Tabla 3. Composición de minerales de la HL

En la Tabla 3 se puede observar que los valores de Ca, Fe, Mg, Zn, Cu, Mn y P de la harina analizada en este trabajo fueron inferiores a los resultados publicados por Vielma et al., 2007. La diferencia entre el contenido de minerales obtenido en esta investigación y el de dichos autores, puede estar relacionada al tipo de alimentación de las lombrices durante el periodo experimental.

También, en la Tabla 3 se visualiza que los contenidos de Fe, Mn y P de la HL superan la IGR recomendada por el CAA de dichos minerales para todas las edades evaluadas, mientras que los niveles de Mg, Zn y Cu no la superan. Además, los niveles de minerales de la HL no superan los Niveles de No Observación de Efectos Adversos (NOEA) establecidos por el CAA (2014), los cuales son: 1500 mg Ca, 60mg Fe, 400 mg Mg, 30 mg Zn, 9 mg Cu, 10 mg Mn y 1500 mg P, es por ello que este producto podría utilizarse como suplemento dietario para H, M, N1-3, N4-6 y N7-9, como así también para fortificar alimentos. También es importante resaltar que los balanceados para animales usados actualmente presentan una reducida variedad y bajo porcentaje de minerales, razón por la cual esta harina podría ser una alternativa para aumentar los niveles de minerales de dichos alimentos.

Los resultados obtenidos demostraron que la harina de lombriz es una fuente potencial de minerales para la fortificación de alimentos, tanto para consumo humano como para consumo animal.

#### CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demostraron que harina de lombriz es una fuente potencial de proteínas de alto valor biológico y minerales para la fortificación de alimentos, tanto para consumo humano como animal. Es importante resaltar que, en la mayoría de los países, el prejuicio cultural y la falta de información de los beneficios que presenta esta harina de lombriz son los que no han permitido su utilización en alimentos aprobados para consumo humano. Sin embargo, algunos países como México, China y Japón ya la han incorporado. Además, utilizando este recurso no convencional, se abre un interesante campo de investigación en lo que se refiere al enriquecimiento de alimentos con este tipo de harina no tradicional, representando una alternativa a nivel industrial.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Association of Official Analytical Chemists.(AOAC). 1995. Official Methods of Analysis. Arlington. Virginia. USA. (14a. Edición). Disponible en: <a href="http://www.cdts.espol.edu.ee/htm/proy7.htm">http://www.cdts.espol.edu.ee/htm/proy7.htm</a>. 2002. Fecha de consulta: Mayo de 2016.

Castillo H.; Hernández A.; Domínguez D. y Ojeda D. Efecto de la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) en la dinámica de nutrientes de una mezcla de materiales semicompostados. *Revista chilena de investigación agrícola*, 70(3):465-473. 2010.

Código Alimentario Argentino. Disponible en: <a href="http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\_alimentos\_caa.asp.2008">http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\_alimentos\_caa.asp.2008</a>

Fecha de consulta: Mayo de 2016.

Gabetta J. Lombricultura rentable. Manual teórico-práctico para la cría comercial de lombrices. Ediciones Continente. Buenos Aires, Argentina. 2004.

<sup>\*</sup>Vielma Rondón et al., 2007.

García M, Macías M, Martinez V, Rodríguez M, Mastrapa L, Dominguez L, Mederos C. Composición Química de dos Especies de Lombriz de tierra (*Eisenia foetida* y *Eudrilus Eugeniae*) Obtenida a partir de residuales porcinos Instituto Nacional de Investigaciones porcinas La Habana, Cuba. 2007.

García D. E., Cova L. J., Castro A. R., Medina M. G. y Palma J. R. Efecto del sustrato alimenticio en la composición química y el valor nutritivo de la harina de la lombriz roja (*Eisenia spp.*). *Revista Científica*, *FCV-LUZ* / Vol. XIX, Nº 1, 55 - 62. 2009.

Guillaume J, Kaushik S, Bergot P, Métailler R. Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. INRA. 1999.

International NetWork of Food Systems (INFOODS). 2010. Disponible en: <a href="https://www.fao.org/infoods/infoods/tablas-y-bases-de-datos/america-latina/es/">www.fao.org/infoods/infoods/tablas-y-bases-de-datos/america-latina/es/</a>.

Fecha de consulta: Mayo de 2016.

Phillips V., Tschida R., Hernández M., Aquino G., *Manual básico para el cultivo de trucha arco iris* (*Oncorhynchus mykiss*). Global Enviromental Management (GEM), Collage of Natural Resarces University of Wisconsin, estudios Rurales y Asesoría A. C., ITESM, Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO), Universidad Autónoma Chapingo (UACh), United Status Agencia International Development (USAID), HigherEducationforDevelopment (HED), GEM-TIES Cuencas Sanas y Modelos de Vida Sustentable. 2008. Schuldt M. *Lombricultura teoría y práctica*. Ediciones Mundi-prensa. Madrid – Barcelona – México. 2006. Vanaclocha, A. y Requena, J. *Procesos de conservación de alimentos*. Ediciones Mundi-prensa, España. 2003.

Vielma, R.; Ovalles, J.; León A. y Medina, A. Valor nutritivo de la harina de lombriz (*Eisenia foetida*) como fuente de aminoácidos y su estimación cuantitativa mediante cromatografía en fase reversa (HPLC) y derivatizacionprecolumna con 0 – ftalaldhido (OPA). *ArsPharmaceutica* 44 (1): 43 – 58. 2003.

Vielma Rondón, R. A. y Medina, A. L. Determinación de la composición química y estudios de solubilidad en la harina de lombriz *Eisenia foetida*. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela. *Revista de la Facultad de Farmacia*. Vol. 48 (1). 2006.

Vielma Rondón, R. A.; Carrero, P.; Rondón, C. y Medina, A. L. Comparación del contenido de minerales y elementos trazas en la harina de lombriz de tierra (*Eisenia foetida*) utilizando dos métodos de secado. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela. *Revista Saber*, Universidad de Oriente, Venezuela. Vol. 19. N° 1: 83-89. 2007.



**Rápida respuesta de compuestos bioactivos de brócoli ante tratamientos de radiación UV-B** Darré M.<sup>1</sup>, Ortiz L. C.<sup>1</sup>, Valerga L.<sup>1</sup>, Chaves A.<sup>1</sup>, Vicente A.<sup>1,2</sup>, Lemoine M. L.<sup>1,2</sup>, Concellón A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIDCA-Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. Facultad Cs. Exactas-UNLP. CCT La Plata-CONICET. Calle 47 y 116 S/N, La Plata, Argentina.

<sup>2</sup>LIPA-Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales, Fac. Cs Agrarias y Forestales-UNLP. Calle 60 y 119 S/N, La Plata, Argentina.

Dirección de e-mail: magalidarre\_87@hotmail.com

#### **RESUMEN**

Los consumidores se concientizaron de la importancia del consumo de brócoli por su contenido de compuestos beneficiosos para la salud. La radiación UV-B puede emplearse para lograr la acumulación de estos compuestos. El objetivo fue evaluar el efecto de la aplicación de distintas dosis e intensidades de radiación UV-B, sobre los compuestos bioactivos de brócoli mínimamente procesado a tiempos cortos post-tratamiento. Las inflorescencias se irradiaron empleando dosis de 2 y 12 kJ/m² a intensidades baja (3,2 W/m²) y alta (5,0 W/m²). Los controles no fueron irradiados. Se determinó el color, la capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y glucosinolatos a 0, 2, 6 y 18 h post-tratamiento. Los brócolis tratados con UV-B mantuvieron el color y no mostraron variación para Hue, L\* y b\*. Se observó una disminución inicial de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante para luego aumentar hasta alcanzar el máximo valor a las 6 h. Los tratados con 2 kJ/m² y la mayor intensidad acumularon un 30% más de antioxidantes que los controles. Los glucosinolatos alifáticos presentaron mayor respuesta a la exposición UV-B. Los resultados muestran que tratamientos de luz UV-B de alta intensidad logran una rápida respuesta aumentando los compuestos bioactivos de brócoli mínimamente procesado.

Palabras clave: Brassica oleracea L., capacidad antioxidante, fenoles totales, glucosinolatos, congelado.

## **ABSTRACT**

Consumers became aware of the importance of eating broccoli for its content of compounds beneficial to health. UV-B can be used to achieve the accumulation of these compounds. The objective was to evaluate the effect of the application of different doses and intensities of UV-B radiation on minimally processed broccoli to short post-treatment times on bioactive compounds. The inflorescences were irradiated using doses of 2 and 12 kJ/m² at low (3.2 W/m²) and high (5.0 W/m²) intensities. The controls were not irradiated. Color, antioxidant capacity, total phenolic content and glucosinolates to 0, 2, 6 and 18 h post-treatment was determined. Broccoli treated with UV-B kept the color and showed no variation for Hue, L\* and b\*. An initial decrease of antioxidant capacity and phenolics and a subsequent recovery was observed reaching a maximum at 6 h. Those treated with 2 kJ /  $m^2$  and higher intensity accumulated 30% more antioxidants than controls. Aliphatic glucosinolates had a higher response to UV-B exposure. The results show that treatment of UV-B high intensity achieve a quick response by increasing minimally processed broccoli bioactive compounds.

**Keywords:** Brassica oleracea L., antioxidant capacity, phenolic content, glucosinolates, freezing.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los consumidores se concientizaron de la importancia de consumir vegetales de la familia Brassicaceae ya que estos vegetales poseen alto contenido de vitaminas (C y E) y compuestos bioactivos (carotenoides, flavonoides, glucosinolatos). Se recomienda su consumo en fresco como una fuente para aumentar la ingesta diaria de sustancias promotoras de la salud (Schreiner 2009).

La aplicación de radiación UV es una tecnológica limpia, seca y de bajo costo (Civello et al. 2006). Pueden diferenciarse las radiaciones UV-C (200 a 280 nm), UV-B (280 a 320 nm) y UV-A (320 a 400 nm). Diversos estudios han observado que la exposición a los distintos tipos de luz UV causa respuestas diferentes en frutas y vegetales. La radiación UV-C es la más conocida y se emplea por su gran efecto germicida. Se conoce que la radiación UV-B, en bajos niveles, es un regulador importante del metabolismo secundario de las plantas

produciendo la acumulación entre otros, de compuestos fenólicos, carotenoides y glucosinolatos (Schreiner et al. 2009) por lo que se ha empleado como tecnología emergente en postcosecha de vegetales y frutas, incrementando el contenido de compuestos bioactivos, mejorando la calidad nutracéutica.(Castagna et al. 2014, Eichholz et al. 2011, Avena-Bustillos et al. 2012, Hagen et al. 2007).

No ha sido reportado en brócoli la influencia de la radiación UV-B sobre el comportamiento de los antioxidantes en tiempos cortos post irradiación, trabajos previos mostraron que la radiación UV-B retrasó la degradación de clorofila en inflorescencias tratadas con 8,8 y 13,1 kJ/m² almacenadas a 15°C (Aiamla-or et al. 2010). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de distintas dosis e intensidades de radiación UV-B, sobre los compuestos bioactivos de brócoli mínimamente procesado a tiempos cortos post-tratamiento.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## Material vegetal y almacenamiento

Se trabajó con cabezas de brócoli (*Brassica oleracea* L.) cortadas en ramilletes y colocadas en bandejas de plástico, irradiadas con luz UV-B y luego recubiertas con film PVC perforado, almacenadas a 20°C durante 0, 2, 6, 18 h. Los respectivos controles no fueron irradiados. Se realizaron 4 repeticiones (bandejas) para cada tratamiento en dos cosechas diferentes.

#### Tratamiento UV-B

Se empleó un banco de lámparas UV-B conteniendo 4 tubos (QFS-40 Philips) con encendido independiente y un estante de altura regulable para las muestras. Se ensayaron intensidades: I) Baja (3,2 W/m², 2 lámparas, 30 cm) con dosis de 2 kJ/m² (**B2**) y 12 kJ/m² (**B12**) y II) Alta (5 W/m², 4 lámparas, 15 cm) con dosis de 2 kJ/m² (**A2**) y 12 kJ/m² (**A12**) que fueron medidas con un radiómetro (UVITEC, RX-003, France), los tiempos de exposición de cada tratamiento se muestran en la **Tabla 1**.

Una vez que se obtuvo la mejor condición para la obtención de la capacidad antioxidante más alta (6 h), las muestras de brócoli se almacenaron en un congelador comercial a -18°C durante 30 días para determinar la estabilidad de los compuestos bioactivos inducidos después del almacenamiento congelado. Pasados los 30 días se evaluó la capacidad antioxidante.

Los tiempos necesarios para alcanzar las distintas dosis se detallan en la **Tabla 1**.

**Tabla 1**. Tiempos de exposición de luz UV-B a dosis 2 y 12 kJ/m² e intensidades bajas(3,2 W/m², 2 lámparas, 30 cm) y alta (5 W/m², 4 lámparas, 15 cm) en brócoli mínimamente procesado.

| Intensidad (W/m²) | Tiempos de<br>exposición<br>(min)/Dosis 2<br>(kJ/m²) | Tiempos de<br>exposición<br>(min)/Dosis 12<br>(kJ/m²) |
|-------------------|--|---|
| 3,2               | 11   | 67  |
| 5,0               | 7  | 43  |

#### Color superficial

Se utilizó un colorímetro (Minolta, modelo CR-400, Japón) obteniendo los valores de a\*, b\* y L\*. Se calculó el ángulo Hue como arco tangente de b\*/a\*. Se realizaron 20 medidas a cada bandeja para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### Compuestos fenólicos

Se pesó aproximadamente 1,2 g del triturado y se agregó 10 mL de etanol (96% v/v), se agitó en vortex durante 30 segundos. Luego, se centrifugó a 13.000 x g durante 10 minutos a 4°C y se separó el sobrenadante para realizar los análisis posteriores.

El contenido de compuestos fenólicos totales se determinó de acuerdo a Singleton et al. (1999), empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu. Se tomaron 50 μL de reactivo (1:1 v/v en agua) y se agregaron 100 μL de extracto etanólico y 750 μL de agua. Luego de 3 minutos de reacción a temperatura ambiente se añadieron 100 μL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% (m/v) en NaOH 0,1 M y 1.000 μL de agua destilada. La mezcla de reacción se agitó en vórtex y se incubó durante 90 min a temperatura ambiente. Finalmente se midió la absorbancia a 760 nm en espectrofotómetro (HITACHI U-1900, país). El contenido de compuestos fenólicos se calculó utilizando ácido clorogénico (CGA) como estándar. Se prepararon dos extractos para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento, y cada uno se midió por triplicado. Los resultados se expresaron como mg CGA kg<sup>-1</sup>.

## Capacidad Antioxidante contra el radical ABTS\*+

La determinación fue realizada de acuerdo a Arnao et al. (2001). Aproximadamente a 1,2 g de tejido congelado en  $N_2$  líquido y molido se le adicionaron 5 mL de etanol, se agitó durante 30 segundos y se dejó en reposo por 30 minutos. Luego se centrifugó a  $15.000 \times g$  por 10 minutos a 4°C. El sobrenadante se utilizó para las determinaciones. A 1 mL de solución del radical ABTS<sup>++</sup> (7 mM de ABTS con 2,45 mM  $K_2S_2O_8$ , absorbancia 0.700 +/- 0.05 a 734 nm) se le adicionaron 10  $\mu$ L del extracto. La mezcla se dejó reaccionar 6 minutos y se midió la absorbancia a 734 nm. Se utilizó Trolox como patrón y los resultados se expresaron como Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC) en mg  $kg^{-1}$ . Se realizaron tres replicados por cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

#### Glucosinolatos (GSs)

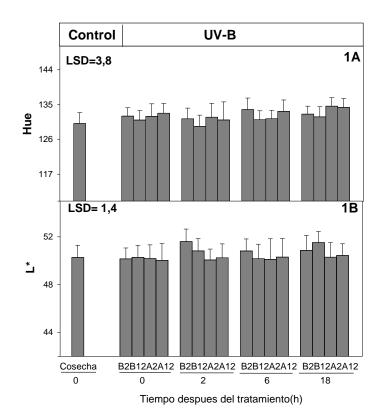
Se extrajeron y cuantificaron como describen Cargnel et al. (2014) usando tejido previamente liofilizado y sinigrin (2-propenil-glucosinolatos, Sigma-Aldrich, EE.UU.) como estándar. Los desulfoglucosinolatos se analizaron por HPLC (Knauer Euroline pais) empleando una columna Restek Pinnacle II C18 (5m, 4.6  $\mu$ , 150 mm) dcon disolventes A (agua) y B (20% de acetonitrilo), se eluyó con un gradiente de 1% de B a 0 minutos, 10% B en 10 minutos, 75% B en 22 a 24 minutos, con un tiempo de equilibrado de 10 minutos y una velocidad de flujo de 1 mL/ min. El volumen de inyección fue de 20 $\mu$ L, y la elución se controló con un detector de red de diodos a 229 nm. Para calcular las concentraciones molares de GSs individuales, se utilizaron factores de respuesta relativos para corregir la diferencia de absorbancia entre el patrón interno y otros compuestos.

#### Análisis estadístico

Los datos se analizarán por medio de un ANOVA y las medias se compararon con el test LSD de Fisher a un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ .

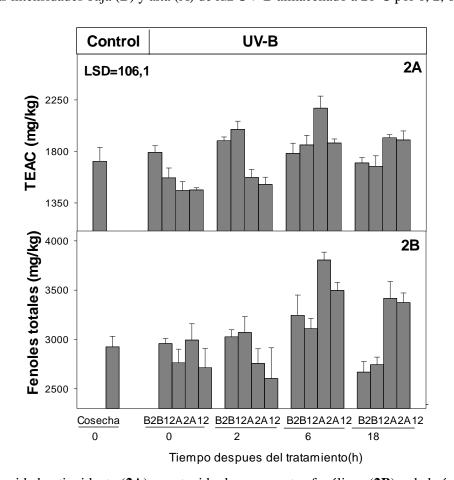
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El color no fue afectado por los tratamientos en las 18 horas siguientes a 20°C, no observándose diferencias significativas entre intensidades y dosis para los parámetros Hue y L\* respecto del control (**Figura 1A y 1B**), lo que es de fundamental importancia, dado que la calidad visual, para los consumidores, está dada principalmente por estos parámetros. Aiamla-or (2010) observó en brócoli tratado con una dosis de 8.8 kJ/m² de UV-B un retraso en la degradación de clorofilas y mayor valor del ángulo Hue luego de 6 días de almacenamiento a 15°C.





**Figura 1.** Hue (**1A**) y L\*(**1B**) de brócoli mínimamente procesado control y tratado con dosis de 2 y 12 kJ/m<sup>2</sup> a las intensidades baja (B) y alta (A) de luz UV-B almacenado a 20°C por 0, 2, 6, 18 h.

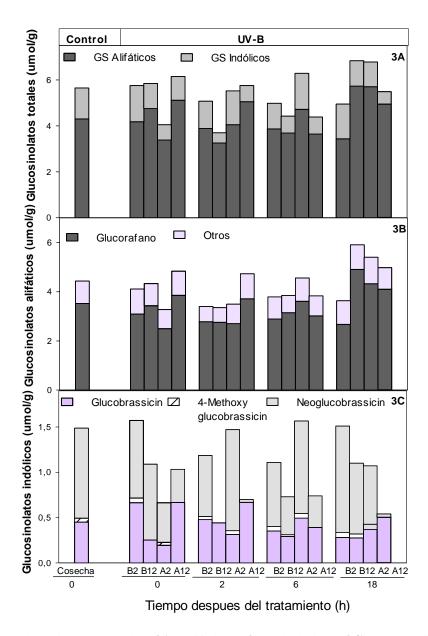


**Figura 2.** Capacidad antioxidante (**2A**) ycontenido de compuestos fenólicos (**2B**) y de brócoli mínimamente procesado control y tratado con dosis de 2 y 12 kJ/m² a las intensidades baja (B) y alta (A) de luz UV-B almacenado a 20°C por 0, 2, 6, 18 h.

Respecto a la capacidad antioxidante a tiempo 0 h se observó una rápida caída luego de la irradiación (**Figura 2A**) posteriormente hubo una recuperación, alcanzando un máximo a las 6 h post-tratamiento para todas las dosis e intensidades probadas, siendo los brócolis tratados con dosis de 2 kJ/m²y 12 kJ/m² y la mayor intensidad (5 W/m²) los que mostraron las variaciones más notorias, acumulando hasta un 30% más de antioxidantes respecto de los controles al inicio de la cosecha. Los compuestos fenólicos tuvieron un comportamiento similar (**Figura 2B**) a lo observado en TEAC, sugiriendo que este es el principal grupo de antioxidantes que se incrementa con el tratamiento.

Trabajos previos han informado que la radiación UV puede inducir enzimas clave en la vía de los fenilpropanoides tales como fenilalanina amonio liasa y chalconasintasa (Pombo et al. 2011). Tratamientos UV-B en espárragos llevaron a un aumento de la PAL dentro de las 2 h post-tratamiento (Eichholz et al. 2011). La falta de correlación completa entre fenólicos y TEAC indican que la radiación UV-B podría estar modulando otros grupos antioxidantes también.

Si bien se conoce que la radiación UV-B puede alterar el perfil de metabolitos secundarios de ciertas frutas (manzana, arándanos y vid) (Hagen et al. 2007; Eichholz et al. 2011;) y vegetales (tomate, zanahoria) (Castagna et al. 2013; Avena-Bustillos et al. 2012) los resultados de este trabajo indican que la obtención de compuestos fenólicos y antioxidantes de brócoli mediante tratamientos UV-B son factibles, en tiempos cortos y para alta intensidad de exposición.

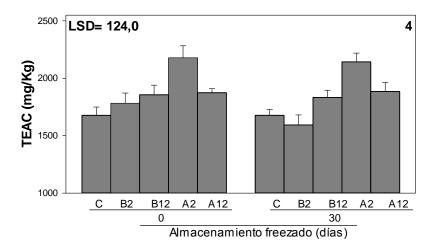


**Figura 3.** Contenido de glucosinolatos totales (**3A**), alifáticos (**3B**) e indólicos (**3C**) de brócoli mínimamente procesado control y tratado con dosis de 2 y 12 kJ/m² a las intensidades baja y alta de luz UV-B almacenado a 20°C por 0, 2, 6, 18 h.

Los glucosinolatos (GSs) son uno de los fitoquímicos más relevantes en el brócoli y las demás especies de Brassicaceas. Se ha informado que los niveles y tipos de GSs dependen del cultivar considerado (Bhandari y Kwak, 2015). En este trabajo la cantidad de los glucosinolatos alifáticos fue tres veces mayor que la de los indólicos (alifáticos e indólicos, 70 y 30%, respectivamente) al momento de la cosecha, aunque sólo recuperaron los niveles iniciales luego de 18h de retraso (**Figura 3A**).

Algunos estudios reportaron un aumento de la acumulación de GSs en respuesta al estrés abiótico (Variyar et al. 2014). En el caso de radiación UV las respuestas dependen mucho de las condiciones de irradiación. Wang et al. (2011) encontraron contenidos más altos de GSs en hojas de *Arabidopsis thaliana* después de 1 h de exposición a rayos UV-B, a pesar de una disminución significativa, sobre todo de GSs indólicos, después de 12 h de exposición a la radiación UV-B. En este trabajo, para la intensidad alta y dosis de 2 kJ/m² (A2) se redujo el contenido de GSs después de 2 h aunque tuvo un aumento posterior. Los valores más altos en los niveles de GSs se lograron después de 18 h del tratamiento UV-B (**Figura 3B y 3C**). El glucosinolato alifático glucorafanin que es el principal compuesto de importancia en el brócoli por reducir el riesgo de

cáncer (Cieslik, et al.2007) mostró la mayor inducción en respuesta a la exposición UV-B. Mewis et al. (2012) también encontraron un incremento preferencial de GSs alifáticos en brotes de brócoli irradiados con UV-B (0,3 kJ/m²).



**Figura 4.** Capacidad antioxidante de brócoli mínimamente procesado control (C) y tratado con dosis de 2 y 12 kJ/m² a las intensidades baja y alta de luz UV-B luego de 6h pos tratamiento almacenado a -18°C por 30 días. Las barras de error representan la desviación estándar de la media.

En un segundo ensayo, muestras tratadas con las mismas dosis e intensidades de UV-B y congeladas luego de 6 h pos-tratamiento, se almacenaron en freezer (-20°C) por 30 días simulando un procesamiento del tipo "congelado". Luego de 30 días, los brócolis controles y tratados (**Figura 4**) mantuvieron los niveles relativos de capacidad antioxidante logrados al inicio del almacenamiento.

## **CONCLUSIONES**

Los resultados muestran que la aplicación de tratamientos de luz UV-B de alta intensidad logró una rápida respuesta aumentando los compuestos bioactivos de brócoli mínimamente procesados luego de 6 h post-tratamiento y que dicho aumento se mantuvo luego de 30 días de congelado, lo que permite agregar valor y además, generar nuevas oportunidades para los productores y procesadores de alimentos.

# BIBLIOGRAFÍA

Aiamla-or S, Yamauchi N, Takino S, Shigyo M. 2010. Effect of UV-A and UV-B irradiation on broccoli (*Brassica oleracea*L. Italica Group) floret yellowing during storage. Postharvest Biology and Technology, 54: 177-179.

Arnao MB, Cano A, Acosta M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry, 73: 239-244.

Avena-Bustillos RJ, Du W, Woods R., Olson D, Breksa III AP, McHugh TH. 2012. Ultraviolet-B light treatment increases antioxidant capacity of carrot products. Journal of the Scienceof Food and Agriculture, 92: 2341-2348.

Bhandari SR y Kwak J. 2015. Chemical composition and antioxidant activity in different tissues of Brassica vegetables. Molecules, 20(1): 1228-1243.

Cargnel MD, Demkura PV, Ballaré CL. 2014. Linking phytochrome to plant immunity: low red: far-red ratios increase Arabidopsis susceptibility to *Botrytis cinerea* by reducing the biosynthesis of indolic glucosinolates and camalexin. New Phytologist, 204: 342-354.

Castagna A, Dall'Asta Ch, Chiavaro E, Galaverna G, Ranieri A. 2014. Effect of post-harvest UV-B irradiation on polyphenol profile and antioxidant activity in flesh and peel of tomato fruits. Food Bioprocess Technologies, 7: 2241-2250.

Civello PM, Vicente AR, Martínez GA. 2006. UV-C technology to control postharvest diseases of fruits and vegetables. En: Troncoso-Rojas R, Tiznado-Hernández M.E y González-León A. (Eds), Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits & Vegetables, pp: 71-102.

Cieslik E, Leszczynska T, Filipiak-Florkiewicz A, Sikora E, Pisulewski PM. 2007. Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetable. Food Chemistry, 105: 976–981.

Eichholz I, Rohn S, Gamm A, Besk N, Herppich WB, Kroh LW, Ulrichs C, Huyskens-KeilS. 2011. UV-B-mediated flavonoid synthesis in white asparagus (*Asparagus officinalis*L.): effect of spear development and irradiation dose on the activity of associated enzymes. Food Research International, 48: 196-201.

Hagen SF, Borge GI, Bengtsson GB, Bilger W, Berge A, Haffner K, Asbjørn Solhaug K. 2007. Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (Malus domestica Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation. Postharvest Biology and Technology, 45: 1-10.

Lemoine ML, Civello PM, Chaves AR, Martínez GA. 2008. Effect of combined treatment with hot air and UV-C on senescence and quality parameters of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea*L. var. Italica). Postharvest Biology and Technology, 48(1): 15-21.

Lemoine ML, Civello PM, Martínez GA, Chaves AR. 2007. Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). Journal of the Science of Food and Agriculture, 87: 1132-1139.

Lorenzen CJ, Jeffrey SW. 1980. Determination of chlorophyll in seawater. Unesco Technical Papers in Marine Science, 35: 20.

Mewis I, Schreiner M, Nguyen CN, Krumbein A, Ulrichs C, Lohse M, Zrenner R. 2012. UV-B irradiation changes specifically the secondary metabolite profile in broccoli sprouts: induced signaling overlaps with defense response to biotic stressors. Plant Cell Physiology, 53: 1546-1560.

Pombo MA, Martínez GA, Civello PM. 2011. Cloning of FaPAL6 gene from strawberry fruit and characterization of its expression and enzymatic activity in two cultivars with different anthocyanin accumulation. Plant Science, 181: 111-118.

Schreiner M, Krumbeina A, Mewis I, Ulrichs C, Huyskens-Keil S. 2009. Short-term and moderate UV-B radiation effects on secondary plant metabolism in different organs of nasturtium (*Tropaeolummajus*L.). Innovative Food Science and Emerging Technologies, 10: 93-96.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299: 152-178.

Variyar PS, Banerjee A, Akkarakaran J, Suprasanna P. 2014. Chapter 12: Role of glucosinolates in plant stress tolerance, In P. Ahmad and S. Rassol (Eds.) *Emerging Technologies andManagement of Crop Stress Tolerance* San Diego: Academic Press, pp: 271-291

Wang Y, Xu W, Yan X, Wang Y. 2011. Glucosinolate content and related gene expression in response to enhanced UV-B radiation in *Arabidopsis*. African Journal Biotechnology, 10: 6481-6491.



## Análisis del contenido fenólico de vinos tintos del noroeste argentino

Di Carlo B.M.<sup>1</sup>, Pérez N.P.<sup>1</sup>, Lenz R.M.<sup>1</sup>, Gómez R.V.<sup>1</sup>, Salomón R.<sup>2</sup>, Moyano F.<sup>1</sup>, Peñaranda S.S.<sup>1</sup>, Zerpa G.<sup>1</sup>, Navia F.<sup>1</sup>, Rabus P.<sup>1</sup>, Buttazzoni R.<sup>1</sup>

Dirección de e-mail: bertadcar@yahoo.com.ar

#### RESUMEN

En los Valles Calchaquíes del Noroeste argentino, se producen vinos tintos en Cafayate, San Carlos, Molinos (Colomé) y Cachi, en forma tradicional y orgánica de las variedades *Malbec, Cabernet Sauvignon, Tannat* y *Syrah*. Nuestro objetivo es analizar los componentes fenólicos de los vinos tintos varietales que afectan su calidad tecnológica y valor de comercialización. La determinación de fenoles totales se evaluó con la técnica de Folin-Ciocalteu, antocianos totales por variación del pH del medio y taninos totales por la técnica de Masquelier. Los resultados variaron entre 967 a 3105 mg/L ácido gálico para fenoles totales; 2,14 a 4,31g/L de taninos totales y 16,15 a 311 mg/L para antocianos. Las mayores diferencias regionales se registraron en los vinos de producción tradicional con máximos valores para *Malbec* de Angastaco y en los orgánicos para *Tannat* de Cafayate, con fenoles totales de 3105 y 2910 mg/L ácido gálico; 4,31 y 4,39 g/L de taninos, 311 y 113 mg/L de antocianos, respectivamente. Se concluye que los vinos con mayores contenidos fenólicos son los varietales tradicionales *Malbec* de Angastaco y los vinos orgánicos *Tannat* de Cafayate.

Palabras Claves: fenólico, vinos tintos, noroeste, Argentina.

#### **ABSTRACT**

In the Calchaquíes Valley of argentine northwest traditional and organic red wines *Malbec, Cabernet Sauvignon, Tannat* and *Syrah* variety are produce in Cafayate, San Carlos, Molinos (Colomé) and Cachi, our objective is analize the phenolic compounds of these red wines that determine their technological quality and marketing value. We determined the total phenol content using the technique of Folin-Ciocalteu; the analysis of total anthocyanin with pH variation and total tanins according the technique of Masquelier. The results presented total phenol contents between 967 to 3105 mg/L galic acid; total tannin values of 2.14 to 4.31 g/L and anthocyanin content of 16.15 to 311 mg/L. In traditional wines the *Malbec* from Angastaco and the organic wines Tannat from Cafayate have highest phenolic content with 3105 and 2910 mg/l galic acid, total tanins of 4.31 and 4.39 g/L, anthocyanin content of 311 and 113 mg/L, respectively. We concluded traditional wines of Malbec variety from Angastaco and organic wines of Tannat variety from cafayate have the maximum values of phenolic compounds.

**Keywords:** phenolic, red wines, northwest, Argentine.

## INTRODUCCIÓN

En los vinos tintos los compuestos fenólicos pertenecen a dos familias principales: flavonoides y no flavonoides, entre los flavonoides los mejor representados son los flavonoles, los flavanoles (catequinas y proantocianidinas) y los antocianos. En un vino joven, los flavonoides se encuentran en forma de dímeros o trímeros, mientras que en vinos más envejecidos los encontramos como polímeros de ocho a diez o más unidades. En general, los flavonoides caracterizan a los vinos tintos, constituyendo más del 85% de sus contenidos fenólicos (Jackson, 2000).

Las principales sustancias fenólicas encontradas en los vinos son el ácido cafeico, epicatequina, catequina, ácido gálico, cianidina, malvidina-3-glucósido, rutina, miricetina, quercetina, resveratrol. Los flavonoles se encuentran como monoglucósidos del kaempferol, de la quercetina y la miricetina, además también como monoglucuronósido de la quercetina y se hidrolizan fácilmente dando principalmente estas tres agliconas en estado libre (Frankel *et al.*, 1995; Simonetti *et al.*, 1997; Ghiselli et *al.*, 1998).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Universidad Nacional de Salta, Consejo de Investigación, Facultad de Ciencias Exactas, Avda Bolivia 5150, Salta, Argentina

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Universidad Nacional de Salta, Consejo de Investigación, Facultad de Ingeniería, Avda Bolivia 5150, Salta, Argentina 2. Facultad de Ingeniería, Argentina.

Estos compuestos afectan la apariencia, sabor, sensación en boca y el color de los vinos tintos, determinando su tipicidad y calidad. Generalmente, la composición fenólica de los vinos dependede varios factores como ser la variedad de las uvas, suelo, clima, prácticas agronómicas, proceso de elaboración, y añejamiento.

La riqueza en polifenoles (principalmente antocianos) es un factor preponderante en el establecimiento de la demanda y el precio de los vinos comercializados a granel, que llegan hasta duplicar su precio cuando los contenidos de antocianos son elevados, ya que poseen gran aptitud para los cortes. En el caso de los vinos tintos jóvenes, su color se debe principalmente a las antocianinas que provienen de la piel de las uvas, a sus glucósidos y a sus formas aciladas (Sommers *et al*, 1977; Ribéreau-Gayon *et al*, 1983)

En este trabajo se estudiaron los compuestos fenólicos de vinos tintos de los Valles Calchaquíes, que están integrados por los departamentos de Cafayate, San Carlos, Molinos (Colomé) y Cachi de la provincia de Salta, donde existen 26 bodegas que elaboran vinos tintos varietales *Cabernet Sauvignon, Malbec, Syrah* y *Tannat*. Es de importancia esta caracterización fenólica, dado que la cantidad y calidad de éstos compuestos depende de la variedad de la uva, dando la tipicidad a cada vino tinto respecto a su color y características organolépticas, las cuales inciden en su calidad tecnológica y valor de comercialización.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se analizaron 43 muestras de vinos tintos, 19 varietales *Malbec*, 15 de *Cabernet Sauvignon*, 6 de *Tannat* y 3 de *Syrah*, 27 provenientes de Cafayate y el resto de las regiones de Alto Cafayate, Molinos, Tolombón, Angastaco (4 muestras de cada una). La determinación de fenoles totales se evaluó con la técnica de Folin-Ciocalteu por medición de absorbancia a 700 nm (Singleton y Rossi, 1965), los antocianos totales por variación del pH del medio midiendo la diferencia en la absorción espectrofotométrica a 520 nm (Paronetto, 1977) y taninos totales por la técnica de Masquelier midiendo absorbancia a 550 nm de las antocianidinas formadas luego del calentamiento del vino en medio ácido (Ribéreu-Gayon *et al*, 2006).

En el análisis estadístico se aplicó el análisis de la varianza a los resultados y el test de Tukey para comparar medias y análisis de componentes principales mediante el programa estadístico InfoStat (2008).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados de los vinos regionales variaron entre 967 a 3105 mg/L ácido gálico para fenoles totales; 2,14 a 4,31 g/L de taninos totales y 16,15 a 311 mg/L para antocianos, como se puede observar en las figuras 1, 2 y 3. Las mayores diferencias regionales se registraron en los vinos de producción tradicional con máximos valores de fenoles totales, taninos y antocianos para los varietales *Malbec* de la zona de Angastaco, también en los varietales orgánicos *Tannat* de la zona de Cafayate. Para estos varietales (*Malbec* y *Tannat*) los valores fueron fenoles totales de 3105 y 2910 mg/L ácido gálico; 4,31 y 4,39 g/L de taninos, 311 y 113 mg/L de antocianos, respectivamente.

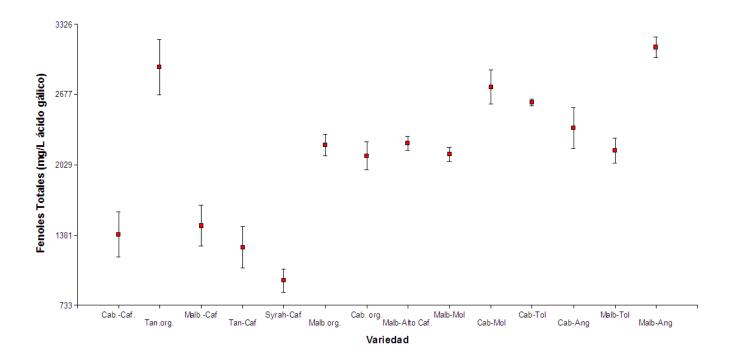
Los polifenoles totales a nivel mundial en vinos tintos varían entre 1.200 y 4.060 mg/L de ácido gálico y, en Argentina se determinaron valores entre 1.100 a 2.400 mg/L de ácido gálico en vinos tintos sanjuaninos y mendocinos. Esta variabilidad depende de la madurez de las uvas, las técnicas de vinificación y conservación de los vinos (Peynaud, 1996; Durán y Trujillo, 2008).

Los antocianos determinan el color rojo en el vino tinto, se encuentran como monoglucósidos, diglucósidos y derivados acilados de antocianidinas, entre las cuales la más importante es la malvidina, según trabajos investigativos de Ghiselli *et al.* (1998), quienes al estudiar la capacidad antioxidante de las distintas fracciones polifenólicas del vino sugirieron que las antocianinas tendrían un papel importante en la actividad antioxidante total.

A medida que se va añejando el vino tinto, van desapareciendo los pigmentos rojos por hidrólisis de los antocianos que son inestables, que por otro lado se condensan con los taninos.

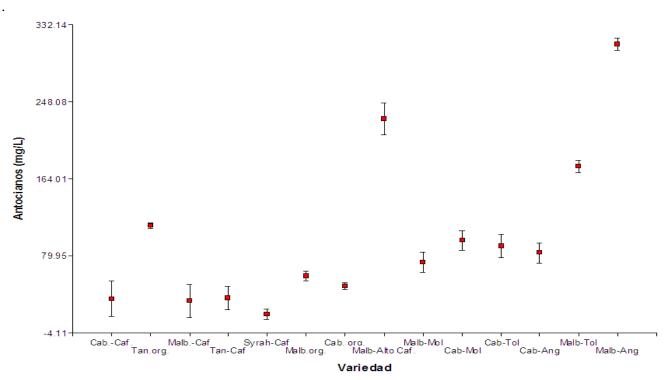
Los pigmentos antociánicos son los compuestos más importantes en las uvas y los vinos, debido a su participación en las características sensoriales de los mismos (Blouin *et al*, 2000).





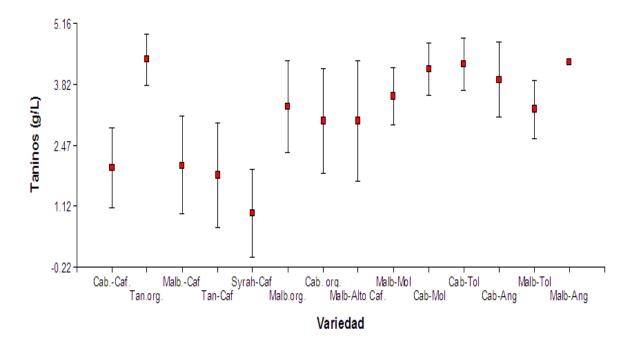
**Figura 1**. Contenido de fenoles totales en vinos tintos regionales Siglas: Mab (*Malbec*), Cab (*Cabernet*), Tan(*Tannat*), Caf(Cafayate), Mol(Molinos), Tol(Tolombón), Ang(Angastaco), org(orgánico)

En la **figura 2**, se muestra que el contenido de antocianos en vinos regionales producidos en forma tradicional en regiones como Angastaco, Molinos, Tolombón y Alto Cafayate es superior al de los vinos de la zona de Cafayate, que se cultivan a menos de 2000 metros de altura.



**Figura 2**. Contenido de antocianos totales en vinos tintos regionales Siglas: Mab (*Malbec*), Cab (*Cabernet*), Tan(*Tannat*), Caf(Cafayate), Mol(Molinos), Tol(Tolombón), Ang(Angastaco), org(orgánico)

Los antocianos totales variaron entre 16,15 mg/L para el varietal *Syrah* y con máximos valores para *Malbec* de Angastaco (311 mg/L), siguiendo en orden los varietales producidos con técnicas tradicionales *Malbec* de Alto Cafayate (231 mg/L) y Tolombón (177mg/L), en cuarto lugar, se ubica el varietal orgánico *Tannat* con 113 mg/L. Se determinaron contenidos de taninos totales de 2,14 a 4,39 g/L, siendo máximos para *Tannat* orgánico (4,39 g/L) y *Malbec* de Angastaco (4,31 g/L) entre los vinos con producción tradicional, siguiendo en orden *Cabernet Sauvignon* de Tolombón con 4,29 g/L, según se puede observar en la figura 3. Esta variabilidad depende de la madurez de las uvas, las técnicas de vinificación y conservación de los vinos, influyendo también la altura de la zona de cultivo de la vid.



**Figura 3**. Contenido de taninos totales en vinos tintos regionales Siglas: Mab (*Malbec*), Cab (*Cabernet*), Tan (*Tannat*), Caf (Cafayate), Mol (Molinos), Tol (Tolombón), Ang (Angastaco), org (orgánico).

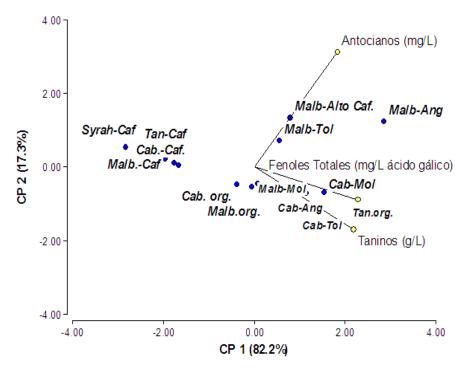
Los taninos son más abundantes en los vinos tintos, cuando en el proceso de vinificación el tiempo de remontado es más prolongado, por lo que se aconseja para obtener vinos menos astringentes, acortar el tiempo de remontado aumentando su frecuencia (García *et al*, 1997).

Con el objeto de completar los estudios anteriores, se realizó un Análisis de Componentes principales, del cual se encuentra que los dos primeros componentes del análisis multivariante, explican el 99,5% de la variabilidad en los resultados, según se muestra en la figura 4.

En este análisis multivariado se observa que la componente 1 participa con el 82,2% y la componente 2 con el 17,3%, también se determina la asociación de los vinos producidos con técnicas tradicionales de las variedades *Malbec*, *Cabernet Sauvignon*, *Tannat* y *Syrah* con bajos valores polifenólicos. Por otra parte, los mayores valores de antocianos, taninos y fenoles totales, se asocian con los varietales *Malbec* y *Cabernet Sauvignon* de las zonas vitivinícolas de Tolombón, Molinos, Angastaco, Alto Cafayate, otorgando buen color y contenido fenólico a estos varietales.

Además, se observa que los varietales orgánicos producidos en la zona de Cafayate registran mayores contenidos polifenólicos que los de producción tradicional, siendo el varietal *Tannat* orgánico el que se asocia con mejores valores fenólicos.

De este análisis multivariado, se destaca que los varietales *Malbec* de Angastaco y *Tannat* orgánico presentan mejores características polifenólicas, esto es de importancia si consideramos la capacidad antioxidante de estos componentes para el organismo, siempre que se realice un consumo moderado.



**Figura 4**. Análisis multivariante de vinos tintos regionales Siglas: Mab (*Malbec*), Cab (*Cabernet*), Tan (*Tannat*), Caf (Cafayate), Mol (Molinos), Tol (Tolombón), Ang (Angastaco), org (orgánico)

Se ha demostrado que los constituyentes fenólicos de los vinos tintos, en ensayos in vitro, han demostrado que inhiben la susceptibilidad de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) a la oxidación, causantes de lesiones vasculares arterioescleróticas. También, se han descripto efectos protectores en patologías como diabetes, cáncer, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, inflamaciones y hasta acción antialérgica (Martínez-Flores *et al*, 2002).

Los valores polifenólicos encontrados en los vinos tintos de los Valles Calchaquíes son superiores a los determinados en vinos tintos uruguayos, que presentaron valores promedios de hasta 1.100 mg/L de ácido gálico, excepto para el varietal *Syrah*, en los estudios efectuados en Uruguay se demostró que las variables cromáticas y la composición fenólica estarían condicionadas por la edad del vino, dado que el tiempo de conservación y envejecimiento influye en la naturaleza de los pigmentos presentes (González Neves *et al*, 1997)

Los polifenoles influyen en las características organolépticas de los vinos tintos, dado que las mismas resultan del balance entre los aromas derivados de la uva, del pasaje por madera y de los taninos, a causa de que éstos últimos enmascaran los aromas frutales; y puede haber, entonces, vinos con un aroma particular de la variedad, vinos con excesivo aroma fenólico, vinos balanceados con taninos suficientes para ser guardados que a la vez retienen la frescura del aroma primario (Peynaud, 1996).

Es de importancia, conocer el contenido polifenólico tanto en los vinos como en las uvas, ya que éste variará con el índice de maduración del fruto y con el manejo del viñedo, existiendo evidencias que indican que vinos procedentes de uvas de la misma parcela y de diferentes momentos de vendimia, presentan diferencias importantes en la intensidad colorante y el índice polifenólico total, haciendo que el color sea mejor en uvas maduras y de menor calidad en uvas sobremaduras o poco maduras (Pardo Minguez, 2002).

Además, se ha encontrado que los vinos tintos jóvenes, de 1 o 2 años de añejamiento, tienen mayor contenido fenólico que los vinos más viejos, lo que los hace química y sensorialmente muy complejos y con frecuencia muy diferentes. Estas diferencias determinan, muchas veces, la preferencia en su consumo por los degustadores (Guerra y Rosier, 1998).

Estos resultados de la caracterización fenólica realizada de vinos tintos regionales provenientes de los Valles Calchaquíes, Salta; será difundida a la comunidad y los resultados serán transferidos a las empresas vitivinícolas deesta zona vitivinícola, con un mayor valor agregado comercial para estos vinos, sumado a la posibilidad de lograr una futura denominación de origen controlada.

Es de interés este estudio, ya que los compuestos fenólicos son la causa principal de la diferencia en el color de los varietales, de este modo, Asselin y Ballester (1992) señalan que el color y la estructura polifenólica encontrada en las diferentes variedades de uvas son fundamentales para la definición de criterios de tipicidad y de calidad organoléptica de los vinos tintos.

Por otro lado, el consumo de vinos tintos jóvenes, como los varietales que se analizaron, de uno o dos años de duración está incrementándose en los hábitos de los consumidores, esto se debe a que presentan una muy buena relación de calidad y precio, destinándose con preferencia al consumo diario (Noriega Domínguez y Casp Vanaclocha, 2003).

#### **CONCLUSIONES**

Estos resultados contribuyen a caracterizar desde el punto de vista polifenólico a los vinos tintos de los Valles Calchaquíes de Salta, que es importante para su calidad comercial, ya que le confieren características organolépticas y cromáticas típicas para los vinos de esta región del noroeste argentino.

Los resultados de los vinos regionales variaron entre 967 a 3105 mg/L ácido gálico para fenoles totales; 2,14 a 4,31 g/L de taninos totales y 16,15 a 311 mg/L para antocianos. Las mayores diferencias regionales se registraron en los vinos de producción tradicional con máximos valores de fenoles totales, taninos y antocianos para los varietales *Malbec* de la zona de Angastaco, también en los varietales orgánicos *Tannat* de la zona de Cafayate. Para estos varietales (*Malbec* y *Tannat*) los valores fueron fenoles totales de 3105 y 2910 mg/L ácido gálico; 4,31 y 4,39 g/L de taninos, 311 y 113 mg/L de antocianos, respectivamente.

Se concluye que los vinos regionales tradicionales que presentan mayores contenidos fenólicos son los varietales *Malbec* de Angastaco, obtenidos con uvas que se cultivan a alturas mayores de 2000 m sobre el nivel del mar, así como para los varietales orgánicos *Tannat* con valores superiores a 2400 mg/L de ácido gálico encontrados en vinos sanjuaninos y mendocinos. Estas características polifenólicas son importantes considerando que estos compuestos tienen capacidad antioxidante para el organismo, siempre que se realice un consumo moderado. Estos resultados complementan estudios fisico-químicos realizados en estos vinos regionales, con la finalidad de lograr una denominación de origen controlada en el futuro, además de aumentar su valor de comercialización.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Asselin C, Ballester FF. 1991. Une caractérisation polyphenolique des raisins et des vins de *Cabernet franc*. Progrés Agricole. Et Votov, 109: 415-420.

Blouin J, Papet N, Stonestreet E.2000. Etude de la structure polyphenolique des raisins et des vins de *Cabernet franc*. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 34: 33-40.

Camussoni G, Carnevali E.2004. Determinación comparativa del contenido de polifenoles en vinos tintos de origen argentino. Invenio, 7,13:151-159.

De Ruvo C, Amodio R, Ageri S, Martelli N, Intilangelo A, D'Ancora GM, Esposito E. 2000. Nutritional antioxidants as antidegenerative agents. International Journal of Developmental Neuroscience, 18: 359-366.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Durán O, Trujillo N. 2008. Estudio comparativo del contenido fenólico de vinos tintos colombianos e importados. Redalyc vitae, 15: 17-24.

Frankel E, Kanner J, German JB, Parks JE. 1993. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. Lancet, 341: 454-457.

Frankel EA, Waterhouse E, Teissedre P. 1995. Principal Phenolic Phytochemicals in sellected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43: 890-894.

García T, Pardo F, Martínez F.1997. Influencia de la duración y frecuencia de los remontados en los parámetros de color de vinos tintos de uvas *Monastrell*. Viticultura Enología Profesional,52: 5-13.

Ghiselli A, Nardini M, Baldi A, Scaccini C. 1998. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an italian red wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 361-367.

González Neves, G.; Barreiro Medina, L.; Bochicchio visintin, R.; Curbelo Marrero, M.; Gatto Pesce, G.; Gil Montoli G, Tessore Vidal A. 1997. Composición fenólica y color de vinos blancos, rosados y tintos de Uruguay. Viticultura Enología Profesional, 52: 14-20.

Guerra C, Rosier JP. 1998. Sauvignon potentiel polyphenólique et quantitatif du raisin *Cabernet* de différentes origines géographiques dans le Sud du Brésil. Proc. XXIII Congres Mondial. de la vigne et du Vin. II: 27-32. Actas.

Martínez Flores S, González-Gallego J, Culebras JM y Tuñón MJ. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria XVII, 6: 271-278.

Noriega Domínguez MJ, Casp Vanaclocha A. 2003. Caracterización polifenólica y cromática de vinos tintos jóvenes variedad Tempranhillo de la D. O. Navarra. Vitivinicultura Enología Profesional, 88: 47-54.

Orgogozo JM, Dartigues JF, Lafont S, Letenneur L, Commenges D, Salomón R, Renaud S, Breteler MB. 1997. Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux Area. Revista de Neurología, 3: 185-192.

Pardo Minguez F. 2002. Valoración de la calidad de uvas tintas a la entrada de la bodega. Conferencia presentada en las XXIV Jornadas de Vitivinicultura y Enología. Tierra de Barros. Almendralejo 2002. Actas. Paronetto L. 1977. Polifenoli e tecnica enologica. Selepress. Milan.

Peynaud E.1996. Balance in wine. New York, USA: 2° Ed. John Wiley & Sons, Inc., pag 188.

Renaud S, Ruf JC. 1994. The French paradox: vegetables or wine. Circulation, 90: 3118-3119.

Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudrad P, Riberéreau-Gayon P. 2006. Ciencias y Técnicas del vino. Buenos Aires: hemisferio sur. pag 537.

Ribéreau-Gayon P, Pontallier P, Glories Y. 1983. Some interpretations of colour changes in young red wines during their conservation. Journal Science Food Aggricultural, 34: 505-516.

Simonetti P, Pietta P, Tetolin G. 1997. Polyphenol Content and total antioxidant potential of selected italian wines. Journal Agricultural Food Chemistry, 45: 1152-1155.

Singleton VL, Joseph A, Rossi J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.

Sommers C, Evans M. 1978. Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO2, "chemical age". Journal Science of Food and Agriculture, 28: 279-287.

Youdim KA, Spencer JP, Schroeter H, Rice Evans C. 2002. Dietary flavonoids as potential neuroprotectans. Biology Chemistry, 383: 503-519.



# Calidad nutricional y microbiológica en papas cortadas tratadas con agentes antioxidantes García Procaccini, L.M.<sup>1,2</sup>; Goñi, M.G.<sup>1,3</sup>; Huarte, M.<sup>4</sup>; Martinez, M.J.<sup>5</sup>

Dirección de e-mail: garciaprocacciniluz@gmail.com

#### **RESUMEN**

En el presente trabajo, se estudió el efecto de la adición de compuestos químicos saludables, ácido ascórbico (AA) y ácido cítrico (AC) sobre el contenido de fenoles totales, el color y la calidad microbiológica de los productos mínimamente procesados de papa. El ensayo se realizó en la variedad Spunta, ampliamente usado en el mercado de consumo fresco. Los tratamientos con mayor concentración de AA y AC mantuvieron el color, aumentaron el contenido de fenoles totales en el producto y no afectaron la calidad microbiológica.

Palabras claves: papas mínimamente procesadas, agentes antioxidantes, contenido de fenoles totales, color.

#### **ABSTRACT**

In the present work, the effect of adding healthy chemical compounds, ascorbic acid (AA) and citric acid (CA) on the content of total phenols, color and microbiological quality of minimally processed potato was studied. The trial was conducted in the variety Spunta, widespread in the market. The treatments with higher concentrations of AA and CA kept the color, increased total phenol content in the product and did not affect the microbiological quality.

**Keywords**: minimally processed potatoes, antioxidants, total phenol content, color.

#### INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado la demanda del agregado de valor a los productos de origen agropecuario y esto ha generado interés sobre los procesos de preservación de los productos mínimamente procesados (PMP). Los consumidores demandan alimentos frescos, saludables, con calidad nutricional, de fácil preparación, con inocuidad química y microbiológica y que a su vez tengan una larga vida útil en el anaquel.

Si bien el consumo de los vegetales es importante en la dieta humana, algunas especies se destacan especialmente por su riqueza en nutrientes tales como vitaminas, minerales y fibras y resultan especialmente atractivos presentados como mínimamente procesados. Tal es el caso de la papa, que es un vegetal con una velocidad de pardeamiento oxidativo alta, por lo que podría ser un referente en el control de las reacciones bioquímicas causantes del pardeamiento para otras hortalizas. El procesado mínimo de la papa, se basa en el lavado, pelado y cortado; esto implica lesiones en el tejido que inducen a varias respuestas bioquímicas que conducen a una reacción secundaria común: el desarrollo del pardeamiento. El pardeamiento enzimático es uno de los mayores problemas de los PMP, el cual se genera luego de la ruptura en la integridad celular, debida al corte, al entrar en contacto los polifenoles con el oxígeno del ambiente en una reacción catalizada por la enzima polifenoloxidasa (PPO) y lleva a la formación de polímeros pardos, rojizos o negros, de alto peso molecular, llamados melaninas (Moretti et al. 2002, Petri et al. 2008, Ma et al. 2010), las cuales son responsables de la pérdida de calidad organoléptica y nutricional (Tomás-Barberán y Espín 2001, Jeong et al. 2008). Por todo esto, dentro de los principales síntomas de deterioro mencionados anteriormente, el desarrollo de color, debido a reacciones de pardeamiento enzimático, es uno de los mayores problemas asociados al procesamiento y almacenamiento de estos productos.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Argentina.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Grupo de Investigación en Ingeniería en Alimentos, Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Balcarce, Argentina.

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires. CONICET. Buenos Aires, Argentina.

Algunos productos químicos que contienen grupos SH, incluyendo los sulfitos, se emplean comúnmente para prevenir el pardeamiento en los vegetales como las papas. Sin embargo, la aplicación de estos compuestos en productos recién cortados puede causar asma bronquial (Peroni y Boner 1995) y sabores no deseables, además de una reducción significativa en el valor nutricional de la papa (Chalom et al. 1995).

Por lo tanto, es fundamental el estudio de nuevas herramientas aplicables por la industria que garanticen la calidad y la mayor conservación de los mismos. Además, es de suma importancia la evaluación de la calidad nutricional de las hortalizas, tanto enteras como PMP, y su evolución durante el período de conservación, a fin de desarrollar estrategias que permitan su preservación durante este período.

En el procesamiento convencional de alimentos se previene el pardeamiento a través de la inactivación de PPO con calor, ya que la PPO es clasificada como una enzima de baja termoestabilidad. No obstante, el uso de calor también causa la destrucción de características de calidad de los alimentos, como la textura, el sabor y pérdidas nutricionales.

Otra manera eficaz para reducir el pardeamiento enzimático es la aplicación de agentes químicos antipardeantes (Sapers et al. 1989), los que se clasifican según los diferentes modos de acción, siendo los más conocidos los agentes reductores, acidulantes, quelantes y acomplejantes.

Entre los distintos agentes antipardeamiento, los compuestos químicos derivados del azufre, incluyendo el metabisulfito de sodio (MS), son ampliamente empleados (Laurila et al. 1998). Sin embargo, su utilización en productos de papa sólo es permitida a bajas concentraciones dado que pueden causar reacciones alérgicas en personas sensibles a este compuesto (FDA 1994) además de sabores indeseables, así como también una disminución importante en el valor nutricional del producto (Chalom et al. 1995).

Como alternativa al MB existen otros agentes antioxidantes, que se consideran dentro de los compuestos naturales y saludables para el bienestar del consumidor, como es el caso del ácido ascórbico y el ácido cítrico (Laurila et al. 1998, Limbo y Piergiovanni 2006, 2007, Rocculi et al. 2007).

Por otro lado, los problemas microbiológicos en PMP se deben a un crecimiento microbiano acelerado que produce características indeseables en los vegetales. Para disminuir o controlar dichos problemas de deterioro, existen métodos de escaldado químico, que se basan en la inmersión del vegetal en un determinado tiempo, en soluciones en donde se encuentran aditivos, que tienen carácter antimicrobiano y antioxidante, y que actúan sinérgicamente.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los parámetros de calidad nutricional y microbiológica durante el almacenamiento refrigerado de papas mínimamente procesadas tratadas con agentes antioxidantes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

#### **Materiales**

Se utilizaron papas de la variedad Spunta, ampliamente utilizada para consumo fresco, producidas en Balcarce, provincia de Buenos Aires. Se utilizó metabisulfito de sodio (MS), ácido ascórbico (AA) y ácido cítrico (AC) como agentes antioxidantes, todos de grado alimenticio.

## Preparación de las PMP

Luego de cosechadas, las papas fueron estacionadas en cámara (10°C) por 10 días; posteriormente fueron lavadas con una solución de NaClO (100 ppm durante 1 min) y cortadas en bastones de 1 cm de espesor.

Las muestras de PMP sin tratamiento con agente antioxidante fueron tomadas como control (C). Y el resto fueron sumergidas en soluciones de agentes antioxidantes: testigo (T): 0,1% de metabisulfito de sodio (MS); T1: 1% de ácido ascórbico (AA) + 0,5% de ácido cítrico (AC), T2: 1% de AA + 1% de AC. Las concentraciones de los agentes antipardeantes se definieron por ensayos preliminares y teniendo en cuenta trabajos anteriores (Ayerdi et al. 2005; Limbo y Piergiovanni, 2006). Finalmente, las papas fueron envasadas y almacenadas a 5°C durante 15 días.

# Determinación de parámetros de calidad

Se evaluaron parámetros de calidad durante el almacenamiento refrigerado (5°C) en los días 0, 5, 8, 12 y 15. **Fenoles totales:** El contenido de fenoles totales se determinó por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descripto por Blessington (2005). A partir de una muestra de papa picada, se extrajeron los fenoles con metanol. La concentración de polifenoles en el extracto fue expresada en µg de ácido gálico por gramo de peso fresco (µg AGE/g PF).

**Actividad de la Polifenoloxidasa:** Para la determinación de la actividad de la polifenoloxidasa (PPO) se pesó 5 g de papa recientemente picada, se mezcló con buffer fosfato de sodio 0,1 M. Se homogenizó a 11000 rpm por 1 minuto, se filtró y se centrifugó a 5000 rpm durante 15 minutos. Se recolectó el sobrenadante y se

agregó una alícuota sobre el catecol al 0,1%. Se mezcló y se procedió a leer la absorbancia a 410 nm, por intervalos de 5 segundos durante un minuto. Se graficó el cambio en la absorbancia respecto al tiempo y se expresó la actividad enzimática como la pendiente de esa recta, que representa la actividad enzimática.

**Color.** Para las determinaciones de color se utilizó un colorímetro Minolta modelo CR300 usando la representación en tres dimensiones CIE 1976 L\* a\* b\*. Se determinaron las coordenadas cromáticas L\*: luminosidad; a\*: enrojecimiento (rojo-verde) y b\*: amarillamiento (azul-amarillo). A partir de dichos parámetros se calculó el Índice de Color (IC) según la ecuación (1) desarrollada por Goñi et al. (2010).

$$IC= a* x 1000/(L*x b*)_{(1)}$$

**Análisis microbiológico.** Se realizó un recuento de bacterias mesófilas (MES) (Mossel y Moreno García 1985) durante el almacenamiento refrigerado (días 0, 5, 8, 12 y 15).

#### Análisis estadístico

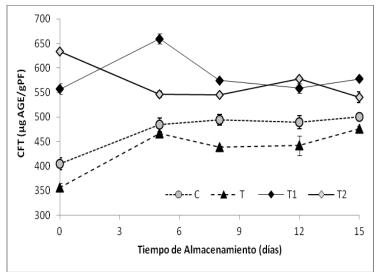
Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con arreglo factorial. Se realizó un ANOVA con interacción y cuando las diferencias fueron significativas (p<0,05) se realizaron comparaciones múltiples de las medias por Tukey-Cramer ( $\alpha$ <0,05). Los valores presentados corresponden a la media de tres repeticiones y su variación estándar. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con el Software Libre R.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# Contenido de fenoles totales (CFT)

En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos del estudio del CFT durante el almacenamiento refrigerado. Inmediatamente después del tratamiento (día 0), las papas T1 y T2 (557,15 y 633,63  $\mu$ g AGE/g PF respectivamente) presentaron un valor significativamente mayor de CFT respecto de C (38 y 56%, respectivamente) y T (56 y 78%, respectivamente). Estos altos valores de CFT iniciales para las PMP tratadas con AA y AC podría atribuirse a la acción reductora del AA que previene la alta degradación de los FT (Gil et al. 1998). Durante el almacenamiento refrigerado se observó que T1 mantuvo el CFT relativamente constante (valor promedio de 585  $\mu$ g AGE/g PF) mientras que T2 presentó una disminución significativa al día 5, en relación al día 0, y luego se mantuvo constante (valor promedio de 552  $\mu$ g AGE/g PF).

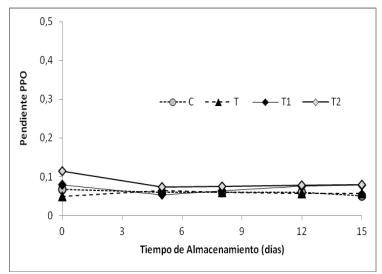
Por su parte, tanto C como T presentaron un incremento del contenido de FT en el día 5 de almacenamiento (492 y 455  $\mu g$  AGE/g PF, respectivamente) aunque durante todo el tiempo de almacenamiento sus valores se mantuvieron por debajo de los de T1 y T2. El aumento en la concentración de FT al inicio del almacenamiento podría deberse al daño ocasionado en el tejido, por efecto del corte.



**Figura 1**. CFT (μg AGE/g PF) durante el almacenamiento a 5°C de PMP, variedad Spunta, sin tratamiento (C), tratadas con MS (T), tratadas con 1% de AA + 0,5% de AC (T1) y tratadas con 1% de AA + 1% de AC (T2).

#### Actividad de la PPO

En la Figura 2 se muestran los resultados obtenidos del estudio de PPO durante el almacenamiento refrigerado. Un valor mayor de la pendiente PPO significa mayor actividad enzimática. Para cada tratamiento, no se observaron diferencias significativas en la actividad de la enzima durante el almacenamiento. Tampoco se obtuvieron diferencias significativas entre los distintos tratamientos, lo que indicaría que no hay un efecto de los tratamientos en la actividad enzimática.



**Figura 2**. Pendiente de la PPO durante el almacenamiento a 5°C de PMP, variedad Spunta, sin tratamiento (C), tratadas con MS (T), tratadas con 1% de AA + 0,5% de AC (T1) y tratadas con 1% de AA + 1% de AC (T2).

#### Color

Dentro de cada tratamiento, la luminosidad de las PMP, no se vio afectada durante el tiempo de almacenamiento pero sí se observaron algunas diferencias entre tratamientos (**Tabla 1**). Inmediatamente después de aplicar el tratamiento (día 0) no se observaron diferencias entre los tratamientos pero al día 5, las PMP con el tratamiento T presentaron valores de L\* significativamente mayores que C y T2. Durante el resto del almacenamiento se observaron algunas variaciones menores y finalmente al día 15 T mostró valores mayores al resto, pero dicha diferencia sólo fue significativa al compararla con las PMP T2.

**Tabla 1.** Valores de L\* durante el almacenamiento a 5°C de PMP, variedad Spunta, sin tratamiento (C), tratadas con MS (T), tratadas con 1% de AA + 0,5% de AC (T1) y tratadas con 1% de AA + 1% de AC (T2).

| Tratamiento | Día 1        | Día 5         | Día 8         | Día 12        | Día 15        |
|-------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| C           | 65,60±4,22Aa | 51,90±4,44Ac  | 52,25±6,35Ab  | 68,78±0,57Aa  | 62,98±0,84Aab |
| T           | 70,44±2,63Aa | 76,05±0,43Aa  | 73,93±0,35Aa  | 69,36±0,61Aa  | 73,24±2,27Aa  |
| T1          | 68,72±1,51Aa | 68,74±0,76Aab | 65,40±1,28Aab | 66,85±0,86Aab | 64,35±1,90Aab |
| T2          | 71,73±0,79Aa | 58,99±6,03Abc | 65,25±3,77Aab | 63,12±1,76Ab  | 60,16±4,94Ab  |

Letras mayúsculas iguales dentro de la misma fila indican que no hay diferencias estadísticas (Tukey  $\geq 0.05$ ).

Letras minúsculas iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias estadísticas (Tukey  $\geq 0.05$ ).

En la **Tabla 2** se muestran los valores de IC durante el almacenamiento refrigerado. Inmediatamente después de aplicados los tratamientos, todas las papas presentaron un valor bajo de IC, lo que indicaría una coloración amarillo más pálida. IC mostró una tendencia similar a la observada en el valor de L\*, ya que una disminución del valor de L\* durante el almacenamiento se traduce en un aumento del parámetro IC, debido a que en su cálculo están relacionados inversamente. Por eso, tanto T1 como T2 muestran un incremento de IC, mientras que para el tratamiento T, la tonalidad se mantiene constante y cercana al amarillo pálido (IC<sub>prom</sub>=2,58) durante todo el tiempo de almacenamiento. En las papas C, IC muestra tendencias variables lo

que indicaría una variación no uniforme del color, consistente con aparición de coloración focalizadas debido al pardeamiento.

**Tabla 2**. Valores del parámetro IC durante el almacenamiento a 5°C de PMP, variedad Spunta, sin tratamiento (C), tratadas con MS (T), tratadas con 1% de AA + 0,5% de AC (T1) y tratadas con 1% de AA + 1% de AC (T2).

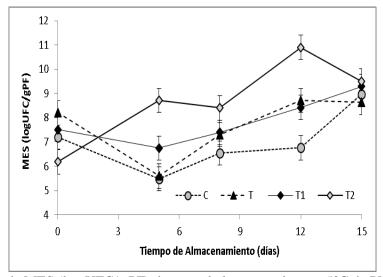
|             |              | -70          | ().              |             |              |
|-------------|--------------|--------------|------------------|-------------|--------------|
| Tratamiento | Día 1        | Día 5        | Día 8            | Día 12      | Día 15       |
| С           | 3,60±0,73Aa  | 6,24±1,11Aa  | 7,27±2,18Aa      | 3,41±0,10Ab | 4,24±0,44Aab |
| T           | 2,51±0,10ABa | 2,31±0,12Ba  | $2,27\pm0,04$ Ba | 2,99±0,20Ab | 2,84±0,22ABb |
| T1          | 2,30±0,15Ba  | 3,39±0,21ABa | $3,87\pm0,60$ Aa | 4,46±0,25Aa | 4,40±0,23Aab |
| T2          | 2,20±0,12Aa  | 6,08±1,71Aa  | 4,42±0,91Aa      | 5,16±0,25Aa | 5,71±0,85Aa  |

Letras mayúsculas iguales dentro de la misma fila indican que no hay diferencias estadísticas (Tukey  $\geq 0.05$ ).

Letras minúsculas iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias estadísticas (Tukey  $\geq 0.05$ ).

#### Análisis microbiológico

No se observaron diferencias notables en el recuento de MES entre tratamientos (Figura 3). Es importante resaltar que aún en el tiempo 0, tanto las PMP sin tratamiento antioxidante (C) como las PMP inmediatamente después de haber aplicado los tratamientos (T, T1 y T2) presentaron recuentos elevados (superiores a los máximos permitidos) de hecho, el valor promedio de MES de todas las muestras fue 7,27 log UFC/100 g PF. Estos resultados demuestran que resulta necesario realizar una modificación en la etapa de desinfección previa al procesamiento mínimo que sea más eficiente y permita obtener recuentos iniciales más bajos. Durante el almacenamiento, en general, los recuentos se incrementaron en todos los tratamientos, alcanzando luego de 15 días valores similares entre sí y superiores a 9 log.



**Figura 3**: Recuentos de MES (log UFC/g PF) durante el almacenamiento a 5°C de PMP, variedad Spunta, sin tratamiento (C), tratadas con MS (T), tratadas con 1% de AA + 0,5% de AC (T1) y tratadas con 1% de AA + 1% de AC (T2).

## **CONCLUSIONES**

Cabe destacar el notable incremento en el contenido de fenoles totales de las papas tratadas con antioxidantes naturales respecto de las C y T, sin afectar significativamente el color de los bastones por lo que se puede deducir que la calidad sensorial no se vería modificada en gran medida. Esto será verificado en una etapa posterior de este estudio donde está previsto el desarrollo de un análisis sensorial tanto de los PMP de papa durante su vida en anaquel a 5°C, como del producto listo para consumir, sometido a un proceso de fritura previo. Con respecto al estudio microbiológico, si bien los recuentos observados fueron altos, estos no

podrían atribuirse a los tratamientos con agentes antioxidantes ya que se observaron valores elevados desde el tiempo 0. Por lo tanto, dicho resultado podría deberse a una desinfección no eficiente previo a los tratamientos, por lo que en un ensayo posterior se plantearán nuevas estrategias de desinfección. Como conclusión, se puede afirmar que tratando las papas con soluciones antioxidantes de AA y AC se puede mejorar su calidad nutricional (en particular el CFT) sin afectar el color, ni la calidad microbiológica.

# **BIBLIOGRAFÍA**

Ayerdi C, Arroqui C, Virseda P. 2005. Efecto de la temperatura sobre la tasa de respiración en patata mínimamente procesada tratada con diferentes agentes conservantes. Alimentación, Equipos y Tecnología, 191: 93-96.

Blessington T. 2005. The effects of cooking, storage, and ionizing irradiation on Carotenoids, Antioxidant Activity, and Phenolics in Potato (*Solanum tuberosum* L.). Tesis Master of Science. Texas A&M University, 39-42.

Chalom S, Elrezzi E, Pena P, Astiarsaran I, Bello J. 1995. Composition of sulfited potatoes: comparison with fresh and frozen potatoes. Plant Foods Hum. Nutr, 47, 133-138.

FDA. 1994. Sulfiting agents: withdrawal of regulation revoking GRAS status for use on "fresh" potatoes served as sold unpackaged and unlabeled to consumers. U.S.Food and Drug Admin.

Gil MI, Gorny JR, Kader AA. 1998. Postharvest physiology and quality of 'Fuji' apple slices in response to ascorbic acid treatments and low-oxygen atmospheres. HortScience, 33(2): 305-309.

Goñi MG, Agüero MV, Moreira MR, Ponce A, Roura SI. 2010. Ring characterization of quality indices in butterhead lettuce cultivated under mulch and bare soil. Journal of Food Quality, 33(4):439-460.

Jeong HL, Jin WJ, Kwang DM, Kee JP. 2008. Effects of Anti-Browning Agents on Polyphenoloxidase activity and total phenolics as related to browning of fresh-cut 'Fuji' apple. ASEAN Food Journal, 15 (1): 79-87.

Laurila EK, Ahvenainen RT. 1998. Shelf life of sliced raw potatoes of various cultivar varieties-substitution of bisulfites. Journal of Food Protection, 64: 1363-1371.

Limbo S, Piergiovanni L. 2006. Shelf life of minimally processed potatoes. Part 1. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic browning. Postharvest Biology and Technology, 39: 254–264.

Limbo S, Piergiovanni L. 2007. Shelf life of minimally processed potatoes. Part 2. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on loss of some quality traits. Postharvest Biology and Technology, 43: 221–229.

Ma Y, Qingguo W, Gyunghoon H, Cantwell M. 2010. Reassessment of treatments to retard browning of fresh-cut Russet potato with emphasis on controlled atmospheres and low concentrations of bisulphate. International Journal of Food Science and Technology, 45:1486-1494.

Moretti CL, Araujo AL, Marquelli WA, Silva WLC. 2002. Respiratory activity and browning of minimally processed sweet potatoes. Hort Brasileira, 20 (3):407-500.

Mossel DA, Moreno García B. 1985. Microbiología de Alimentos. Acribia SA. pag 214–272.

Peroni DG, Boner AL. 1995. Sulfite sensitivity. Clinical & Experimental Allergy, 25: 680-681.

Petri E, Arroqui C, Angós I, Vírseda P. 2008. Effect of preservative agents on the respiration rate of minimally processed potato (*Solanumtuberosum* cv. Monalisa). Journal of Food Science, 73 (3):122-126.

Rocculi P, Gómez Galindo F, Mendoza F, Wadsö L, Romani S, Dalla Rosa M, Sjöholm, I. 2007. Effect of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. Postharvest Biology and Technology, 43: 151-157.

Sapers GM, Hicks KB, Phillips JG, Garzarella L, Pondish DL, Matulaitis RM, Mccormack TJ, Sondey SM, Seib PA. 1989. Control of Enzymatic Browning in Apple with Ascorbic Acid Derivatives, Polyphenol Oxidase Inhibitors, and Complexing Agents. Journal of Food Science, 54(4): 997-1002.

Tomas-Barberan FA, Espin JC. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. Journal Science Food Agriculture, 81: 953-876.



## Desarrollo de una bebida fermentada probióticade origen no lácteo

Genevois C.E. <sup>1,2</sup>, de Escalda Pla M.F. <sup>1,2</sup>, Flores S.K. <sup>1,2</sup>

#### **RESUMEN**

El objetivo del presente trabajo fue formular una bebida fermentada con leche de soja con el agregado de *Lactobacillus casei* (ATCC-393) soportado en una matriz vegetal de calabaza (PC con *L. casei*) utilizando la metodología de superficie de respuesta. Se evaluó la viabilidad del probiótico, la capacidad de retención de agua (WHC), la textura y el color de la bebida fermentada. Los resultados demostraron que los distintos niveles del PC con *L. casei* y el porcentaje de sólidos solubles de la leche de soja (%SS) afectaron positivamente la WHC y la firmeza de la bebida fermentada. La diferencia entre el recuento viable inicial y final de *L. casei* fue negativamente afectada por la concentración del PC con *L. casei*. El ángulo de tono y la luminosidad fueron positivamente afectados por el %SS, mientras que, la cromaticidad y b\* fueron positivamente afectados por el PC con *L. casei*. La función deseabilidad sugirió una formulación óptima para la bebida fermentada conteniendo leche de soja con 12,5 °Brix y PC con *L. casei* al 0,1% como la mejor combinación de estos componentes. La bebida se caracterizó por presentar un recuento viable de *L. casei*>10<sup>8</sup> UFC/mL, WHC>80%, firmeza 0,00115±0,0003 MPa, y valor de a\* 9,12±0,04.

Palabras clave: subproductos vegetales, bebida fermentada, Lactobacillus casei, alimento probiótico

#### ABSTRACT

The aim of this study was to formulate a fermented soy milk beverage with the addition of *Lactobacillus casei* (ATCC-393) supported in a vegetable matrix pumpkin (PC with *L. casei*) using response surface methodology. The viability of probiotic, water holding capacity (WHC), texture and color of the fermented beverage was evaluated. The results showed that different levels of PC with *L. casei* and the percentage of soluble solids in soy milk (%SS) positively affected the WHC and the firmness of the fermented beverage. The difference between the initial and final viable count of *L. casei* was negatively affected by the concentration of PC with *L. casei*. The hue angle and brightness were positively affected by the %SS. While the chromaticity and b\* were positively affected by the PC with *L. casei*. The desirability function suggested a fermented beverage containing soy milk with 12.5 °Brix and PC with *L. casei* 0.1% as the best combination of these compounds. The beverage was characterized by a viable *L. casei* count >108 CFU/mL, WHC >80%, firmness 0.00115±0.0003 MPa, and a value of a\* 9.12 ± 0.04.

Keywords: vegetable byproducts, fermented beverages, Lactobacillus casei, probiotic food

#### INTRODUCCIÓN

Los microorganismos probióticos son generalmente vehiculizados en matrices de alimentos lácteos, siendo el yogur el alimento probiótico más popular (Mishra Pandey y Mishra 2015). Actualmente existe una demanda creciente de alimentos probióticos no lácteos por parte de personas intolerantes a la lactosa o proteínas lácteas, dislipémicos, o personas con nuevos hábitos alimentarios como los veganos o vegetarianos (Ferragut et al. 2009).

La leche de soja es considerada una fuente de proteínas de alto valor biológico, no contiene colesterol ni lactosa y contiene ácidos grasos poliinsaturados (Içier et al. 2015). El proceso de fermentación de un producto a base de leche de soja es similar al de leche de vaca en la elaboración de yogur (Ferragut et al. 2009). Los productos fermentados a base de soja pueden proveer beneficios adicionales al consumidor debido a propiedades funcionales tales como hipocolesterolémico, anticolesterolémico, antiaterogénico, y alergenicidad reducida (Donkor et al. 2007, Mishra Pandey y Mishra 2015). Desde un punto de vista tecnológico, estos productos presentan baja tasa de acidificación y de crecimiento de los microorganismos adicionados, lo cual incrementa el tiempo de fermentación (Mishra Pandey y Mishra 2015). En general, el tiempo para reducir el pH a 4,5 requiere de 10 o más horas a 37°C (Champagne et al. 2009). En cuanto a la

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Departamento de Industrias, FCEN-UBA, Intendente Güiraldes 2160, CABA, Buenos Aires, Argentina.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CABA, Buenos Aires, Argentina. Dirección de e-mail: <a href="mailto:cgenevois@di.fcen.uba.ar">cgenevois@di.fcen.uba.ar</a>

estabilidad física durante el almacenamiento, esta propiedad es de particular interés en productos lácteos por su impacto en la aceptabilidad por parte de los consumidores dado que está relacionada a su apariencia. Una de las estrategias más utilizadas por la industria alimenticia para prevenir la sinéresis es a través del incremento en el contenido de sólidos o la adición de estabilizantes (Granato et al. 2010).

Con respecto al recuento de bacterias probióticas, de acuerdo a la regulación local vigente, para que un producto sea considerado probiótico al momento de su consumo debe contener un recuento de células probióticas >106 UFC/mL (ANMAT, 2011).

El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto del porcentaje de sólidos solubles de la leche de soja y del agregado de *Lactobacillus casei* (ATCC-393), soportado en una matriz vegetal formulada a partir de subproductos de calabaza, sobre la viabilidad del probiótico, la capacidad de retención de agua, la textura y el color en la obtención de una bebida fermentada

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

# Obtención de la matriz vegetal utilizada como soporte e inoculación con Lactobacillus casei

Para la obtención de la matriz vegetal inoculada con *L casei* (PC con *L. casei*) se utilizó un proceso optimizado y detallado previamente por los autores Genevois et al. (2016). a 10 g de subproducto de calabaza (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) deshidratados al vacío conteniendo cáscara y pulpa (70:30, p/p) (Martin Christ Alpha 1-4, Alemania) se le adicionó 100 mL de agua destilada. La mezcla fue esterilizada a 121°C durante 15 min. Luego, se adicionó 1 mL de caldo conteniendo una suspensión de *L. casei* (1,5-2 log (UFC/mL), e inmediatamente se llevó a incubación a 37°C con agitación orbital durante 24 h. El subproducto de calabaza tratado e inoculado fue centrifugado a 6°C a 10.000 rpm durante 15 min, el pellet fue lavado con solución fisiológica y posteriormente secado al vacío a 25°C a 4,5 Pa durante 24 h. Finalmente, el pellet seco fue molido, tamizado con una malla de acero inoxidable de tamaño de poro <840 μm y almacenado a temperatura ambiente.

# Preparación de la leche de soja

Aproximadamente 250 g de semillas de soja (*Glycine max*) se mezclaron con 250 ml de agua potable, dejándolas en remojo a 25°C durante por 18 h. Luego, las semillas hidratadas fueron trituradas con un procesador manual (Modelo D-56, Molinex, Argentina) hasta obtener una mezcla homogénea. Se adicionó 1.250 mL de agua y se llevó a ebullición durante 30 min con agitación constante. La mezcla se filtró a través de una gasa fina, separando el residuo sólido (okara) de la leche. Para obtener leche de soja con distintas concentraciones de sólidos solubles se utilizó un rotavapor (Modelo R-124, BÜCHI, Alemania) conectado a un baño térmico (Modelo B-840, BÜCHI, Alemania), las condiciones de evaporación fueron de 70°C y 20 rpm.La leche a base de soja se almacenó a 4°C sin la adición de conservantes durante 3 días, hasta su utilización para la preparación de la bebida fermentada.

#### Preparación de la bebida fermentada a base de leche de soja

Para la preparación de la bebida fermentada tipo yogurt, a ~35 mL de leche de soja con distintos niveles sólidos solubles (6-16 °Brix) se le adicionó esencia artificial de frutilla (1% (p/v; Sensaciones, Prindal, Argentina), pulpa de frutilla (10% p/v; Bahía Regional Trade S.A., Argentina), y edulcorante natural a base de estevia (1% p/v; Hileret Stevia, Argentina). Inmediatamente, todas las muestras fueron esterilizadas a 121°C durante 15 min y rápidamente enfriadas en baño de agua/hielo a 0°C. Seguidamente, se procedió con la incorporación de PC con *L. casei* (0,1-3,0%; p/v), según los niveles propuestos de la metodología de superficie de respuesta (MSR) (**Tabla 1**), y se realizó una homogeneización a una velocidad de 9.500 rpm durante 30 seg (T25 Ultra-Turrax® IKA, China). Posteriormente, las muestras obtenidas fueron incubadas a 37°C con agitación orbital a 60 rpm durante 20 h.

# Caracterización físico-química

El pH fue determinado con un electrodo combinado de vidrio Ag°/AgCl conectado a un pH metro (Cole-Parmer, USA).

El porcentaje de sólidos solubles se determinó utilizando un refractómetro portátil con compensación automática de temperatura (Modelo RHB-32, Cole-Parmer, China). Los resultados se expresaron en porcentaje de sólidos solubles (°Brix).

# Determinación de la viabilidad de L. casei

El recuento de células viables se realizó por recuento en profundidad mediante diluciones seriadas de agua peptona al 0,1% (p/v) (Biokar Diagnostics, Francia). Alícuotas de 0,1 mL de muestra fueron plaqueados en profundidad en agar de Man, Rogosa y Sharpe (MRS) (Biokar Diagnostics, Francia) seguidas de incubación

a 37°C durante 72 h. El incremento en la viabilidad de L. casei se expresó como la diferencia entre el recuento inicial y final ( $\Delta$ UFC) en la bebida.

## Estabilidad física a corto plazo

Aproximadamente 2 g de muestra fueron colocados en un eppendorf de 2,5 mL e inmediatamente llevados a incubación a 37°C durante 20 h. Una vez finalizado el proceso de fermentación, las muestras fueron refrigeradas a 8°C y luego se determinó la capacidad de retención de agua (WHC). Las muestras se centrifugaron a 6°C a 5.000 rpm durante 40 min, el sobrenadante fue cuidadosamente removido y el pellet fue pesado (Granato et al. 2010). La WHC se expresó en porcentaje, utilizando la Ecuación 1:

WHC (%) = 
$$\frac{Peso_{inicial} - Peso_{final}}{Peso_{inicial}} x 100$$
 (1)

#### Evaluación del color

La medición instrumental del color se realizó en el espacio CIE lab con un colorímetro (Minolta Co. Ltd., Japón), bajo el iluminante D65 y con un ángulo de observación de 2°. La luminosidad (L\*) se utilizó para cuantificar la oscuridad/claridad (0-100), la coordenada a\* para determinar el rojo/verde (+98,233; -86,183), y la coordenada b\* para el amarillo/azul (+94,478; -107,857). A partir de los parámetros a\* y b\* se calculó el valor de chroma (Chr) (Ecuación 2), y el ángulo de tono (Ecuación 3):

$$Chr = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})_{(2)}}$$

Ángulo de tono = arco tangente 
$$\frac{b^*}{a^*}$$

#### Textura de la bebida

La textura se evaluó mediante un ensayo de punción utilizando una máquina universal de testeo Instron (Modelo 3345, USA) equipada con una celda de carga de 100 N. Una punta de acero inoxidable fue introducida en la muestra a una velocidad de 5 mm/seg hasta lograr una deformación del 70%. En cada ensayo se registraron las curvas de esfuerzo ( $\sigma$ ) (Ecuación 4) en función de la deformación ( $\varepsilon$ ) (Ecuación 5) y a partir de estos datos se calculó la firmeza como el cociente entre  $\sigma/\varepsilon$  (MPa).

$$\sigma (MPa) = \frac{Fuerza (N)}{Area de la muestra (mm2)}^{(4)}$$

$$\epsilon \, (\%) = \frac{\text{Desplazamiento de la punta (mm)}}{\text{altura inicial de la muestra (mm)}} \times 100_{(5)}$$

#### Diseño experimental v análisis estadístico

Se utilizó un diseño central compuesto de dos factores (PC con *L. casei* y %SS), con cuatro niveles (-2; -1; +1; +2) y puntos centrales, utilizando la metodología de superficie de respuesta (MSR) para evaluar el efecto de los factores estudiados sobre las variables respuestas: Delta UFC, capacidad de retención de agua, firmeza y ángulo de tono. Los niveles propuestos para cada factor se determinaron en ensayos previos, los niveles establecidos para el PC con *L casei* fueron 0,1; 0,8; 1,5; 2,3 y 3 g/100 mL de leche de soja, y para el %SS en la leche a base de soja fueron de 4; 6,5; 9,0; 11,5 y 14,0 °Brix. Los valores decodificados y codificados se detallan en la **Tabla 1**. El punto central del diseño (0,0) se realizó por triplicado para calcular la reproducibilidad del método.

Los datos experimentales se ajustaron a una función polinómica de segundo grado (Ecuación 6):

$$\Psi = B_0 + B_1 X_1 + B_2 X_2 + B_{11} X_1^2 + B_{22} X_2^2 + B_{12} X_1 X_{2^{(6)}}$$

Donde,  $\Psi$  es la variable dependiente,  $X_1$  y  $X_2$  son las variables independientes;  $B_0$  es el valor de la respuesta ajustada en el punto central del diseño;  $B_1$  y  $B_2$  son los coeficientes de regresión lineal;  $B_{11}$  y  $B_{22}$  son los coeficientes de regresión cuadrático; y  $B_{12}$  es el coeficiente de interacción entre las variables independientes. Esta ecuación permite evaluar los efectos de los términos lineales, cuadráticos y de interacción de las variables independientes sobre las variables dependientes seleccionadas (Montgomery 2008).

La significancia estadística de los coeficientes de los términos de las ecuaciones de regresión para cada respuesta se analizó con un análisis de la varianza (ANOVA), considerando significativo un p≤0,05 con un nivel de confianza del 95%. La adecuación del modelo se evaluó a través del coeficiente de determinación (R²), el R² ajustado y la prueba de falta de ajuste. La función deseabilidad se utilizó para optimizar simultáneamente varias respuestas (Barros et al. 2003). Por último, para validar el poder de predicción de las ecuaciones, los datos experimentales de la formulación optimizada con diferentes proporciones de las variables independientes se compararon con los obtenidos experimentalmente a partir del diseño.

También se estudió el coeficiente de correlación de Pearson entre variables respuestas. El análisis de los datos, generación de superficies de respuesta, correlación y análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo con el programa Statgraphics Centurion XV (V 2.15.06, 2007, USA).

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Viabilidad del probiótico, estabilidad física, textura y color de la bebida fermentada no láctea

Los resultados de la viabilidad del *L. casei*, pH, capacidad de retención de agua (WHC) y firmeza se detallan en la **Tabla 1**, mientras que, los coeficientes de regresión de los factores del PC con *L. casei* y concentración de sólidos solubles de la leche de soja (%SS) se resumen en la **Tabla 3**.

Antes de iniciar el proceso de fermentación, los sistemas estudiados presentaron un pH inicial de 6,1±0,3 y luego de 20 h de incubación a 37°C, el pH se redujo en todas las muestras registrándose valores entre 4,5-4,9. El recuento viable de *L. casei* presentó valores entre 9,45-10,05 log (UFC/mL bebida fermentada), cumpliendo con la normativa vigente (ANMAT 2011).

El incremento en la viabilidad del L. casei ( $\Delta$ UFC) fue afectado negativamente ( $p \le 0,05$ ) por el término lineal del PC con L. casei. Además, el término cuadrático del mismo fue positivo y significativo ( $p \le 0,05$ ) sobre el  $\Delta$ UFC, lo cual significa que la función tiene un valor mínimo. El coeficiente del término interacción entre las variables independientes, resultó ser antagónico y significativo ( $p \le 0,05$ ). La **Figura 1** A ilustra el efecto de la concentración del PC con L. casei y del %SS sobre el  $\Delta$ UFC, dónde se puede observar que para el nivel más bajo del PC con L. casei se obtiene mayor  $\Delta$ UFC a medida que incrementa el %SS, esta tendencia se revierte a concentraciones altas del PC con L. casei. Mayores concentraciones del PC con L. casei, representan mayores concentraciones de UFC iniciales, y consecuentemente, menor  $\Box$ UFC. Por otro lado, en estas condiciones el incremento del %SS, tiende a reducir el pH del medio, afectando negativamente el crecimiento del probiótico. En cambio, cuando se parte de bajas concentraciones iniciales de PC con L. casei, los SS podrían ser utilizados como fuente de carbono y energía para incrementar la biomasa, lo que explicaría la interacción antagónica entre el PC con L. casei y el %SS.

La sinéresis se conoce como la expulsión de agua de un gel, y se percibe visualmente en los productos como agua superficial. La capacidad de retención de agua (WHC) es una herramienta útil para describir la habilidad de una matriz alimenticia de retener el agua libre cuando se aplica una fuerza exterior, y por ello algunos autores la utilizan como medida indirecta e inversa para el control de la sinéresis (Granatoet al. 2010). Las muestras presentaron valores de WHC entre 72,3±2,3 y 91±1%, demostrando que más del 70% del agua estuvo atrapada en la red tridimensional de gel de la bebida fermentada (Tabla 1). Se puede observar que la WHC fue afectada positivamente (p≤0,05) por los términos lineales del PC con L. casei y el %SS, siendo esta última variable independiente la de mayor efecto en el diagrama de Pareto. Por lo tanto, se espera que la presencia de SS ejerza el mayor efecto sobre la WHC en la formulación de la bebida. En la Figura 1 B se muestra el efecto de las variables independientes sobre la estabilidad física de la bebida, dónde se puede observar que a medida que se incrementa el PC con L. casei y el %SS aumenta la WHC, siendo mayor el efecto aportado por los SS. La muestra 4 del diseño, con el menor nivel de SS, presentó el valor más bajo (p≤0,05) de WHC, mientras que, la muestra 9, con el mayor nivel de SS, mostró el valor más alto (p≤0,05) de WHC (Figura 2). El aumento de la concentración de SS en la bebida podría estar relacionado con el incremento en el contenido proteico aportado por la leche de soja, lo cual está directamente asociado con la formación del gel (Ferragut et al. 2009).

En el yogurt, la firmeza está directamente relacionada con el contenido total de sólidos y proteínas lácteas. Un incremento en el contenido proteico favorece el grado de entrecruzamiento entre las proteínas, dando como resultado un gel de estructura más densa y rígida (Mishra Pandey y Mishra 2015). En las bebidas fermentadas la firmeza incrementó (p≤0,05) con el aumento del %SS y del PC con *L. casei* (**Figura 1 C**). Según el diagrama de Pareto, el mayor efecto sobre la firmeza fue causado por el %SS, lo cual puede explicarse por el incremento en el contenido proteico. Sin embargo, el coeficiente del término cuadrático del

%SS ejerció un efecto negativo (p≤0,05) sobre la firmeza del producto, lo que significa que existe un %SS que tendrá el máximo valor de firmeza, dentro del rango ensayado. Si bien, el incremento en los SS está directamente relacionado a un incremento en el aporte proteico, se observó una mayor firmeza de la bebida fermentada en los niveles centrales del factor SS, posiblemente porque existe un límite de sólidos y proteínas que pueden interaccionar en la red de gel (**Tabla 1, Figura 1 C**).

Con respecto al color de la bebida fermentada, se pudo observar que tanto el término lineal del PC con L. casei como el %SS afectaron positivamente (p≤0,05) el ángulo de tono, siendo el PC con L. casei el que mayor efecto ejerció sobre este parámetro. Como se observa en la Figura 1 D, a medida que se incrementa el contenido de PC con L. casei incrementa el ángulo de tono, y esto se traduce como un aumento en el tono amarillo (90°), mientras que, los niveles más bajo del PC con L. casei presentan un ángulo de tono menor que se asocia a un tono rojo (45°). En consecuencia, con estos resultados, se observó una correlación negativa entre la coordenada a\* y el ángulo de tono (coeficiente de correlación de Pearson, -0,84; p=0,0023), lo cual confirma la premisa anteriormente expuesta. Por ejemplo, la muestra 6 del diseño con el menor nivel del PC con L. casei fue la que menor valor de ángulo de tono presentó (Tabla 2, Figura 2). La cromaticidad (Chr), que se refiere a la intensidad del color, fue afectada positivamente (p≤0,05) por el término lineal del PC con L. casei. En la Figura 1 D se puede observar que a medida que se incrementa el PC con L. casei se intensifica el color de la bebida. El aumento en el valor de Chr está asociado al incremento en el color amarillo de la bebida resultante, y este hecho, se confirma por la correlación significativa y positiva entre la coordenada b\* y Chr (coeficiente de correlación de Pearson, 0,97; p=0,001). Por ejemplo, el valor de Chr más alto entre los sistemas del diseño se observó en la muestra 11 (Tabla 2, Figura 2). En cuanto a la luminosidad (L\*), este parámetro fue afectado positivamente (p≤0,05) por el %SS. Como se observa en la superficie de respuesta (Figura 1 E), en general cuando incrementa el %SS incrementa el valor de la L\* en la bebida. Por ejemplo, la muestra 4 del diseño con el menor nivel de SS (6 °Brix) presentó el menor valor de L\*, y en consecuencia, el mayor valor de a\*, mientras que, el sistema 7 con el mayor nivel de SS (16 °Brix) presentó el valor más alto de L\* y el menor valor de a\* (Tabla 2, Figura 2).

Los valores obtenidos para las variables respuestas de los puntos centrales del diseño experimental, en general, no presentaron diferencias significativas ( $p\ge0.05$ ). Sin embargo, se observó una leve pero significativa ( $p\le0.05$ ) diferencia en los valores de las respuestas del color. Estas diferencias no afectaron los coeficientes de determinación y, en consecuencia, el análisis del diseño de la MSR (Granato et al. 2010) (**Tabla 2**).

El modelo polinomial de segundo grado ajustado a las variables  $\Delta UFC$ , WHC, firmeza, ángulo de tono, chroma y L\*, presentó coeficientes de determinación >93% y coeficientes de determinación ajustados >86%. Por otro lado, se observó falta de ajuste con valores de  $p \ge 0,05$  y el estadístico DW presentó valores >1, confirmando la ausencia de autocorrelación serial en los residuos. Todo ello demuestra que los modelos propuestos son adecuados para describir la variabilidad de las respuestas estudiadas (**Tabla 2**) y por lo tanto, para obtener ecuaciones de predicción y rango del diseño experimental (**Tabla 3**). En general, los signos de los coeficientes de regresión coincidieron con los de los efectos observados en el diagrama de Pareto.



**Tabla 1**, Matriz del diseño experimental con las variables independientes y respuestas estudiadas para la optimización de la formulación de una bebida fermentada no láctea.

|          |    | Val<br>Indep   | riable<br>endie |        |                     | Variables Respuestas       |                         |                              |                      |
|----------|----|--|-----------------|--------|---------------------|----------------------------|-------------------------|------------------------------|----------------------|
| Muestras |    | Sólidos PC con solubles <sup>1</sup> L. casei <sup>2</sup> |                 | n H    |                     | pН                         | ΔUFC WHC <sup>3</sup>   |                              | Firmeza <sup>4</sup> |
| *1       | 0  | 11   | 0               | 0,5425 | $4,87\pm0,05^{efg}$ | $0,69\pm0,03^{\text{cde}}$ | 82,3±0,7 <sup>cde</sup> | 0,00204±0,00008 <sup>d</sup> |                      |
| 2        | -1 | 8,5  | 1               | 0,7969 | $4,71\pm0,05^{bc}$  | $0,88\pm0,07^{de}$         | $80,6\pm0,9^{cd}$       | 0,0014±0,0001°               |                      |
| 3        | -1 | 8,5  | -1              | 0,2889 | $4,72\pm0,05^{bc}$  | $0,73\pm0,03^{cde}$        | $76,5\pm0,5^{b}$        | $0,0008\pm0,0001^{b}$        |                      |
| 4        | -2 | 6  | 0               | 0,5425 | $4,52\pm0,05^{a}$   | $0,89\pm0,01^{e}$          | $72,3\pm2,3^{a}$        | $0,00043\pm0,00008^a$        |                      |
| 5        | 1  | 13,5   | -1              | 0,2880 | $4,90\pm0,05$ gh    | $0,41\pm0,06^{ab}$         | $84,6\pm0,2^{e}$        | $0,00205\pm0,00006^d$        |                      |
| 6        | 0  | 11   | -2              | 0,0357 | $4,98\pm0,05^{h}$   | $2,07\pm0,04^{g}$          | $80,36\pm0,02^{c}$      | $0,0012\pm0,0003^{bc}$       |                      |
| 7        | 2  | 16   | 0               | 0,5433 | $4,95\pm0,05^{gh}$  | $1,3\pm0,3^{f}$            | $89,1\pm0,2^{f}$        | $0,0026\pm0,0002^{e}$        |                      |
| *8       | 0  | 11   | 0               | 0,5425 | $4,82\pm0,05^{def}$ | $0,65\pm0,07^{c}$          | $83,4\pm1,8^{cde}$      | $0,0023\pm0,0002^{de}$       |                      |
| 9        | 1  | 13,5   | 1               | 0,7965 | $4,79\pm0,05^{cde}$ | $0,33\pm0,02^{a}$          | $91\pm1^{\rm f}$        | $0,0038\pm0,0003^{\rm f}$    |                      |
| *10      | 0  | 11   | 0               | 0,5425 | $4,77\pm0,05^{cd}$  | $0,7\pm0,1^{cd}$           | $83\pm5^{cde}$          | $0,0023\pm0,0001^{de}$       |                      |
| 11       | 0  | 11   | 2               | 1,0503 | $4,67\pm0,05^{b}$   | $0,58\pm0,05^{bc}$         | $84\pm2^{de}$           | $0,0026\pm0,0003^{e}$        |                      |

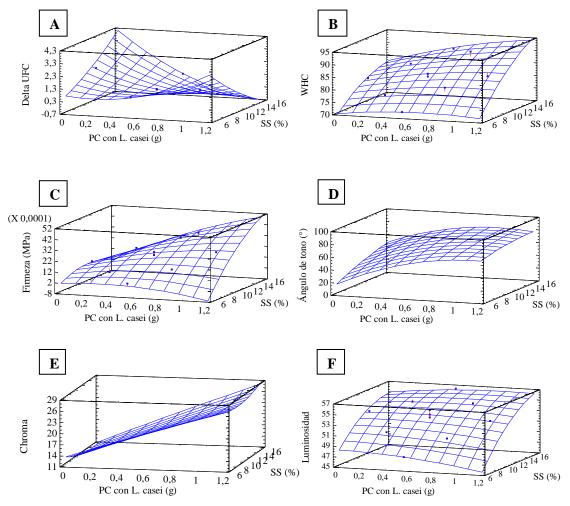
<sup>\*</sup> Sistemas centrales del diseño experimental; 1 Sólidos solubles (°B); 2 Niveles de PC con L. casei agregadas a 35 mL de leche de soja; 3 WHC (%); 4 firmeza (MPa).Letras diferentes entre filas para una misma columna indican diferencias significativas (p≤0,05) con un nivel de confianza del 95,0%.

**Tabla 2**, Matriz del diseño experimental con las variables independientes y respuestas de color para la optimización de la formulación de una bebida fermentada no láctea.

|          | optimization de la formatation de una bestati refinentation la facteur. |                             |                |                               |                        |                               |                                |                             |                    |  |  |
|----------|---|-----------------------------|----------------|-------------------------------|------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------|--|--|
|          |   | Var<br>Indepe               | iable<br>endie |                               |                        | Variables Respuestas de Color |                                |                             |                    |  |  |
| Muestras |   | lidos<br>ibles <sup>1</sup> |                | C con<br>. casei <sup>2</sup> | a*                     | b*                            | Ángulo de<br>tono <sup>3</sup> | Chroma                      | $\mathbf{L}^*$     |  |  |
| *1       | 0   | 11                          | 0              | 0,5425                        | 7,5±0,6 <sup>f</sup>   | 17,0±0,9 e                    | 66±3 ab                        | 18,6±0,5 e                  | 53±1°              |  |  |
| 2        | -1  | 8,5                         | 1              | 0,7969                        | 9,18±0,01 g            | 19,84±0,04 h                  | 65,21±0,05 b                   | 21,85±0,03 h                | $50,3\pm0,3^{b}$   |  |  |
| 3        | -1  | 8,5                         | -1             | 0,2889                        | $10,9\pm0,1^{h}$       | 11,29±0,02 b                  | $45,8\pm0,4^{e}$               | 15,75±0,08°                 | $50,92\pm0,06^{b}$ |  |  |
| 4        | -2  | 6                           | 0              | 0,5425                        | 11,29±0,04 h           | 16,24±0,08 <sup>d</sup>       | 55,2±0,227 <sup>d</sup>        | $19,78\pm0,05^{\mathrm{g}}$ | $47,57\pm0,08^{a}$ |  |  |
| 5        | 1   | 13,5                        | -1             | 0,2880                        | 6,7±0,2 <sup>e</sup>   | 13,1±0,3 °                    | 63±1 °                         | $14,7\pm0,2^{\mathrm{b}}$   | $54,71\pm0,06^{d}$ |  |  |
| 6        | 0   | 11                          | -2             | 0,0357                        | 9,12±0,04 <sup>g</sup> | 7,50±0,02 a                   | 39,4±0,05 <sup>f</sup>         | 11,80±0,05 a                | $53,57\pm0,03^{c}$ |  |  |
| 7        | 2   | 16                          | 0              | 0,5433                        | 4,9±0,2 <sup>b</sup>   | 18,5±0,2 g                    | 75,2±0,7 g                     | 19,1±0,1 <sup>f</sup>       | $56,4\pm0,4^{e}$   |  |  |
| *8       | 0   | 11                          | 0              | 0,5425                        | 5,77±0,04 <sup>d</sup> | 17,5±0,1 <sup>f</sup>         | 68±1 <sup>a</sup>              | 18,4±0,1 e                  | $54,4\pm0,3^{d}$   |  |  |
| 9        | 1   | 13,5                        | 1              | 0,7965                        | 4,5±0,2 a              | 21,4±0,2 i                    | $78,1\pm0,4^{h}$               | 21,8±0,3 h                  | $55,0\pm0,4^{d}$   |  |  |
| *10      | 0   | 11                          | 0              | 0,5425                        | $6,7\pm0,1$ e          | 16,40±0,01 <sup>d</sup>       | 67,8±0,4 a                     | 17,72±0,05 <sup>d</sup>     | $53,58\pm0,06^{c}$ |  |  |
| 11       | 0   | 11                          | 2              | 1,0503                        | 5,3±0,2 °              | $23,8\pm0,6^{j}$              | $77,4\pm0,7^{\text{ h}}$       | $24,4\pm0,5^{i}$            | 53,0±0,1°          |  |  |

<sup>\*</sup> Sistemas centrales del diseño experimental; 1 Sólidos solubles (°B); 2 Niveles de PC con L. casei agregadas a 35 mL de leche de soja. Letras diferentes entre filas para una misma columna indican diferencias significativas (p≤0,05) con un nivel de confianza del 95,0%.





**Figura 1** Superficies de respuesta de las variables respuesta **A**) Crecimiento de *L. casei* (ΔUFC), **B**) Capacidad de retención de agua (WHC), **C**) Firmeza, **D**) Ángulo de tono, **E**) Chroma, y **F**) Luminosidad.

**Tabla 3** Coeficientes de las ecuaciones de regresión correspondientes a los parámetros evaluados sobre el producto.

|                        | Coeficientes de regresión |            |                  |                          |        |             |  |
|------------------------|---------------------------|------------|------------------|--------------------------|--------|-------------|--|
| Coeficientes           | Δ UFC                     | WHC<br>(%) | Firmeza<br>(MPa) | Ángulo de<br>tono<br>(°) | Chroma | Luminosidad |  |
| Constante              | -0,23                     | 53,45      | -0,0027          | -14,48                   | 19,01  | 37,73       |  |
| A: PC con L. casei     | 2,40 *                    | 0,91 *     | -0,0019 *        | 96,86*                   | 10,01* | -2,48       |  |
| B: %SS                 | 0,09                      | 3,39 *     | 0,00064 *        | 6,03*                    | -1,28  | 2,15*       |  |
| $\mathbf{A}\mathbf{A}$ | 2,53 *                    | -4,24      | -0,0013          | -38,44                   | -0,60  | -1,45       |  |
| AB                     | -0,59 *                   | 0,84       | 0,00046          | -1,71                    | 0,29   | 0,32        |  |
| BB                     | 0,012                     | -0,097     | -0,000028 *      | -0,13                    | 0,048  | -0,066      |  |
| $\mathbf{R}^2$         | 98,7                      | 95,7       | 94,5             | 97,0                     | 99,6   | 97,6        |  |
| ${f R}^2$ ajustado     | 96,6                      | 91,4       | 88,9             | 93,4                     | 99,01  | 95,2        |  |
| Falta de ajuste        | 0,21                      | 0,10       | 0,15             | 0,47                     | 0,07   | 0,80        |  |
| DW                     | 2,63                      | 2,34       | 1,82             | 1,69                     | 1,62   | 1,94        |  |

<sup>\*</sup> Efecto significativo (p≤0,05) con un nivel de confianza del 95%.

R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación (%); R<sup>2</sup> ajustado: coeficiente de determinación ajustado. PC con *L. casei*: polvo de calabaza conteniendo *L. casei*; %SS: porcentaje de sólidos solubles de la leche de soja. A, B: términos lineales; AA, BB: términos cuadráticos; AB: término interacción.

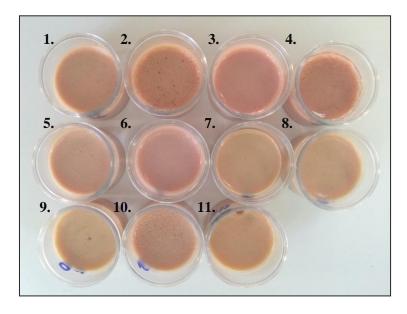


Figura 2, Muestras de las bebidas fermentadas tipo yogurt del diseño experimental.

## Optimización de la bebida fermentada no láctea

Una vez que se corroboró la similitud entre los valores predichos a partir del modelo polinomial de segundo grado y los valores experimentalmente obtenidos en el diseño experimental, se procedió a realizar la optimización de varias respuestas en simultáneo a través de la función deseabilidad. Para ello, se optimizaron las variables dependientes: firmeza, WHC y coordenada a\* del color, obteniendo un valor de deseabilidad de 0,7.

La combinación óptima de PC con *L. casei* y %SS maximizando las variables respuestas fueron: leche de soja con una concentración de sólidos solubles de 12,5 °Brix y una concentración de PC con *L. casei* de 0,1% (p/v). La formulación optimizada del producto resultó similar a la muestra 6 del diseño experimental. A partir de la formulación optimizada, se preparó un nuevo lote de producto con el objetivo de corroborar los resultados obtenidos estadísticamente en las ecuaciones de predicción con los valores obtenidos experimentalmente. La formulación optimizada presentó una firmeza de 0,00118±0,00006 MPa coincidiendo con el valor obtenido estadísticamente (0,001012 MPa). Mientras que, los valores de la WHC y la coordenada a\* fueron menores a los obtenidos a partir del ajuste al modelo, mostrando valores experimentales de 73,1±0,4% y 2,41±0,4, respectivamente. Los valores de WHC y a\* predichos estadísticamente fueron 81,3% y 8,47, respectivamente. La diferencia entre los valores estadísticos y los experimentales podría estar asociada al hecho de que para la elaboración de la formulación optima de la bebida fermentada se utilizó un nuevo lote de semillas de soja y/ o con el proceso de escalado efectuado. Cabe señalar que los sistemas del diseño central compuesto se elaboraron partiendo de 35 mL de leche de soja, mientras que cuando se elaboró el sistema óptimo se utilizaron 500 mL, vale decir más de un orden de magnitud respecto a lo originalmente ensayado. La idea fue elaborar material suficiente para más ensayos.

#### **CONCLUSIONES**

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que para formular una bebida fermentada a base de soja no láctea la mejor combinación de %SS de la leche de soja y del PC con *L. casei* fue de 12,5° y 0,1% p/v respectivamente. Las ecuaciones de predicción obtenidas pueden resultar de utilidad para el desarrollo de futuras formulaciones.

# BIBLIOGRAFÍA

ANMAT. Resolución Conjunta 261/2011 y 22/2011, Pub. L. No. 261/2011; 22/2011. 2011. Argentina. Barros NB, Spacino S I, Bruns R. 2003. Como Fazer Experimentos. Pesquisa e Desenvolvimento na Ciencia

e na Indústria. Sao Paulo, Brazil: Unicamp Editorial.

Champagne CP, Green-Johnson J, Raymond Y, Barrette J, Buckley N. 2009. Selection of probiotic bacteria for the fermentation of a soy beverage in combination with *Streptococcus thermophilus*. Food Research International, 42: 612–621.

Donkor ON, Henriksson A, Vasiljevic T, Shah NP. 2007. Rheological Properties and Sensory Characteristics of Set-Type Soy Yogurt. Agricultural and Food Chemistry, 55: 9868–9876.

Ferragut V, Cruz NS, Trujillo A, Guamis B, Capellas M. 2009. Physical characteristics during storage of soy yogurt made from ultra-high pressure homogenized soymilk. Journal of Food Engineering, 92: 63–69.

Genevois CE, Flores SK, de Escalada Pla MF. 2016. Byproduct from pumpkin (Cucurbita moschata Duchesne ex poiret) as a substrate and vegetable matrix to contain Lactobacillus casei. Journal of Functional Foods, 23: 210–219.

Granato D, Bigaski Ribeiro JC, Castro IA, Masson ML. 2010. Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. Food Chemistry, 12: 899–906.

Içier F, Günduz GT, Yilmaz B, Memeli Z. 2015. Changes on some quality characteristics of fermented soy milk beverage with added apple juice. LWT - Food Science and Technology, 63: 57–64.

Mishra Pandey S, Mishra HN. 2015. Optimization of the prebiotic & probiotic concentration and incubation temperature for the preparation of synbiotic soy yoghurt using response surface methodology. LWT - Food Science and Technology, 62: 458–467.

Montgomery DC. 2008. Design and analysis of experiments. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Agradecimientos por el soporte financiero brindado a UBACYT GEF 2014-2017 (20020130200237); ArgenINTA 2015 (Fundación ArgenINTA) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).



# Subproductos de calabaza como potencial vehículo de *Lactobacillus casei* para la formulación de alimentos: caracterización físico-química y funcional

Genevois C.E. 1,2, de Escalda Pla M.F. 1,2, Flores S.K. 1,2

#### **RESUMEN**

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar las propiedades físico-químicas y funcionales del subproducto de calabaza y analizar el efecto de la incorporación de *Lactobacillus casei* sobre sus propiedades. El subproducto de calabaza tratado fue inoculado con una suspensión de *L. casei*, seguido de un proceso de incubación, secado bajo vacío y tamizado para obtener finalmente un polvo con un tamaño de partícula < 840 µm (PC con *L. casei*). El recuento viable del probiótico en el PC con *L. casei* fue >106 UFC/g. La presencia del probiótico redujo la capacidad de hidratación y de absorción de aceite en el PC con *L. casei* respecto del PC sin inocular (control). La fracción del residuo insoluble en alcohol (AIR) fue menor en el PC con *L. casei* comparado con el control. La caracterización química del AIR del PC con *L. casei* presentó mayor contenido de proteínas respecto al control, mientras que, el contenido de lignina, celulosa, polisacáridos no celulósicos y ácidos urónicos no se modificó significativamente. A partir de los resultados se concluyó que la inoculación con bacterias probióticas del subproducto de calabaza no altera sustancialmente sus propiedades funcionales y físico-químicas y además, las propiedades nutricionales de la fracción rica en fibra dietaria no resultaron modificadas. Estos resultados indicaron que el subproducto de calabaza puede ser considerado como una potencial matriz soporte para el *Lactobacillus casei*.

Palabras clave: probióticos, subproductos vegetales, cucurbitáceas, fibra dietaria.

#### **ABSTRACT**

The objective of this study was to characterize the physico-chemical and functional properties of the byproduct of pumpkin and analyze the effect of the addition of *Lactobacillus casei* on their properties. The pumpkin by product was inoculated with a suspension containing *L. casei*, followed by an incubation process, dried under vacuum and sieved to finally obtain a powder with a particle size  $< 840 \, \mu m$  (PC *L. casei*). The viable count of probiotic in the PC *L. casei* was  $> 10^6 \, \text{CFU/g}$ . The presence of *L. casei* decreased the hydration capacity and oil absorption of the PC *L. casei* respect to the PC without inoculation (control). The alcohol-insoluble residue (AIR) was lower ( $p \le 0.05$ ) in the PC *L. casei* compared with the control. The chemical characterization of the AIR in the PC *L. casei* presented higher ( $p \le 0.05$ ) protein content respect to the control. While the lignin content, cellulose, non-cellulosic polysaccharides and uronic acids were not significantly ( $p \ge 0.05$ ) modified. It was concluded that the inoculation of pumpkin byproduct with probiotic bacteria does not substantially alter its functional and physicochemical properties. Besides the nutritional properties of the dietary fiber rich fraction were not modified. These results indicated that pumpkin byproduct can be considered as a potential support matrix for *Lactobacillus casei*.

**Keywords:** probiotics, vegetables byproducts, cucurbitaceae, dietary fiber.

## INTRODUCCIÓN

La actividad agropecuaria e industrial genera grandes cantidades de residuos, siendo su disposición final como abono, fertilizantes o para la producción de bio-diesel (Müller-Maatsch et al. 2016). Estos residuos agro-industriales podrían ser una fuente no convencional de fibra dietaria (FD). Varios autores han estudiado las propiedades funcionales junto con la composición química para el entendimiento del efecto fisiológico de las fibras y su utilización como ingredientes en la formulación de alimentos (de Escalada Pla et al. 2007, de Escalada et al. 2012). Incluso, autores como Guergoletto et al. (2010) y Saarela et al. (2006) han estudiado la factibilidad de vehiculizar y estabilizar microorganismos probióticos utilizando fibras vegetales. Los microorganismos probióticos deshidratados pueden encontrar diferentes aplicaciones en la industria alimenticia, se pueden mezclar con otros ingredientes secos como por ejemplo cereales, o se pueden utilizar

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Departamento de Industrias, FCEN-UBA, Intendente Güiraldes 2160, CABA, Buenos Aires, Argentina.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CABA, Buenos Aires, Argentina. Dirección de e-mail: <a href="mailto:cgenevois@di.fcen.uba.ar">cgenevois@di.fcen.uba.ar</a>

como *starter* de procesos de fermentación. Los polvos deshidratados tienen la ventaja de que se pueden comercializar en distancias largas dado que son livianos y fácil de transportar además, los costos por la cadena de frío se reducen drásticamente (Foerst et al. 2012, Santivarangkna 2016). Sin embargo, cuando los polvos deshidratados a su vez contienen microorganismos probióticos, éstos deben tolerar los procesos de elaboración y permanecer viables en un recuento >10<sup>6</sup>/g al momento de su consumo para garantizar el efecto benéfico en el consumidor (Tripathi y Giri, 2014). Recientemente, se pudieron evaluar las ventajas que resultan de la utilización de subproductos de calabaza como sustrato/soporte de *L. casei* (Genevois et al. 2016).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la presencia de *Lactobacillus casei* sobre las propiedades físico-químicas y funcionales de un polvo a base de residuos de calabaza.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## Preparación del inóculo

Los inóculos fueron preparados transfiriendo 1 mL del cultivo crio-preservado de *L. casei* (ATCC-393) en 30 mL de caldo MRS estéril (Biokar Diagnostics, Francia). El crecimiento celular se llevó a cabo durante 18-20 h a 37°C con agitación orbital (Vicking S.A., Argentina) a 45 rpm. El recuento viable de *L. casei* se realizó en profundidad en agar de Man, Rogosa y Sharpe (MRS).

## Obtención de la matriz vegetal utilizada como soporte e inoculación con Lactobacillus casei

Con el objetivo de obtener un lote de producto homogéneo, el subproducto de calabaza (*Cucúrbita moschata* Duchesne ex Poiret) conteniendo cáscara y pulpa (70:30, p/p) fue previamente triturado, secado al vacío (Martin Christ Alpha 1-4, Alemania) durante 24 h y almacenados a -20°C hasta su utilización. Para la preparación de la muestra inoculada (PC *con L. casei*), ~10 g del subproducto de calabaza tratado mezclado con 100 mL de agua destilada fue esterilizado a 121°C durante 15 min. Posteriormente, se realizó la inoculación de este sistema con 1 mL de caldo conteniendo una suspensión de *L. casei* (1,5-2 log (UFC/mL) y seguidamente, se procedió a la incubación a 37°C con agitación orbital durante 24 h. A continuación, este sistema inoculado fue centrifugado a 6°C a 10.000 rpm durante 15 min y el pellet obtenido fue lavado con solución fisiológica y secado al vacío a 25°C a 4,5 Pa durante 24 h. Finalmente, el pellet seco fue molido, tamizado con una malla de acero inoxidable de tamaño de poro < 840 µ y almacenado a temperatura de 22°C. La muestra control (PC sin inocular) se preparó siguiendo la misma metodología, pero omitiendo la etapa de inoculación con el probiótico.

## Viabilidad del Lactobacillus casei

El control de la viabilidad del probiótico se realizó mediante diluciones seriadas en agua peptona al 0,1% (p/v) (Biokar Diagnostics, Francia) y recuento en profundidad en agar MRS. El recuento viable se expresó como log (UFC/g calabaza).

# Característica físico-química y funcionales

Todas las determinaciones se realizaron teniendo en cuenta las técnicas descriptas en trabajos previos (de Escalada Pla et al. 2010). En todos los casos, se realizaron al menos por duplicado, partiendo de muestras independientes, e informando en los resultados el valor promedio ± desvío estándar (DE).

# Densidad aparente y volumen específico

La densidad aparente  $(\rho)$  y volumen específico (v) se determinaron midiendo el volumen (V) de  $\sim 0.5$  g de muestra en una probeta de 5 mL.

La ρ se calculó como:

$$\rho$$
 (g/cm<sup>3</sup>) = m/V<sub>(1)</sub>

El  $\upsilon$  se calculó como la inversa de  $\rho^{-1}$ :

$$v (cm^3/g) = V/m_{(2)}$$

Donde, m representa la masa de la muestra y V representa el volumen ocupado por dicha muestra.



#### Actividad de agua (aw)

La a<sub>w</sub> fue determinada mediante un medidor de la actividad de agua AquaLab Serie 3 (Decagon Devices Inc., USA).

# Capacidad de absorción de aceite (oil-holding capacity, OHC)

Una muestra de 0,2 g se mezcló con 1 mL de aceite de girasol. La mezcla se dejó en reposo a temperatura constante de 25°C durante 18 h. Luego, se centrifugó a 3.600 rpm durante 5 min y finalmente se descartó el sobrenadante y se pesó el pellet. La OHC se expresó como los gramos de aceite retenidos por gramo de muestra usando la siguiente expresión:

OHC 
$$(g/g) = O/R_{(3)}$$

Donde, O representa la masa de aceite retenido por la muestra y R representa la masa de la muestra.

## Propiedades de hidratación

## Capacidad de hinchamiento (SC)

Se pesó exactamente 0,05 g de muestra en una probeta de 5 mL. Se adicionaron 1,5 mL de agua destilada y se dejó hidratar a temperatura controlada de 25°C durante 18 h. Luego, se midió el volumen total alcanzado por la muestra hidratada. El parámetro SC se calculó usando la expresión:

$$SC (ml/g) = V_h/m_{s(4)}$$

Donde,  $V_h$  es el volumen ocupado por la muestra hidratada y  $m_s$  es el peso de la muestra.

# Capacidad de atrapamiento de agua (WHC)

Se pesó exactamente 0,05 g de muestra en un tubo de vidrio con marcación volumétrica y fondo cónico. Se adicionaron 1,25 mL de agua destilada y se dejó hidratar a 25°C durante 18 h. Luego, se dejó decantar, se separó el sobrenadante y la muestra fue transferida a un filtro de vidrio fritado (Borosilicate glass, IVA, Argentina), dejándola escurrir a presión atmosférica. Se registró el peso del residuo hidratado, y luego se liofilizó durante 48 h para obtener el peso del residuo seco. La WHC se calculó usando la siguiente expresión:

WHC(g/g) = 
$$(m_h - m_s)/(m_s)_{(5)}$$

Donde,  $m_h$ es el peso del residuo hidratado y  $m_s$  es el peso del residuo liofilizado.

#### Capacidad de retención de agua (WRC)

Exactamente 0,05 g de muestra fueron hidratados con 2 mL de agua destilada en un eppendorf de 2 mL, y se dejó hidratar a 25°C durante 18 h. Luego, la muestra se centrifugó a 4800 rpm durante 30 min, se separó el sobrenadante, se pesó el pellet húmedo (W) y luego se liofilizó durante 48 h. Finalmente, se pesó el pellet seco (R) y la WRC se calculó con la siguiente expresión:

$$WRC (g/g) = W/R_{(6)}$$

Donde, W representa la masa de agua y R representa la masa del pellet seco.

# Determinación de la temperatura de transición vítrea

La temperatura de transición vítrea (Tg) de las muestras se determinó mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) utilizando un equipo Mettler-Toledo 822 (Mettler-Toledo, Suiza) provisto de un sistema de análisis térmico STARe software versión 3.1 (Mettler-Toledo). Aproximadamente 8 mg de muestra deshidratada fue enfriada a -80°C y luego calentada hasta 140°C a una velocidad de 10°C/min; se utilizó como referencia una capsula vacía. La Tg se consideró en el punto medio de la temperatura de transición. El intervalo de confianza estimado para la temperatura fue de 2°C.

#### Composición química

#### Residuo insoluble en alcohol (AIR)

La obtención del AIR se realizó según Escalada Pla et al. (2007). ~2,0 g de muestra se mezclaron con 70 ml de solución de etanol (80%, v/v) y se llevó a ebullición durante 30 min con agitación constante. Luego, la suspensión se filtró y el solvente se descartó. Este mismo procedimiento se volvió a repetir, pero con un

tiempo de ebullición de 15 min. Luego, el residuo insoluble se mezcló con 50 mL de solución de etanol (80%, v/v) y se llevó a ebullición durante 15 min. La suspensión se filtró para separar el residuo insoluble y el solvente se descartó. Este mismo procedimiento se repitió 2 veces. Finalmente, el residuo insoluble fue liofilizado durante 48 h y a partir del AIR se cuantificó el contenido de ácidos urónicos, carbohidratos totales (no celulósicos), celulosa y lignina.

La hidrólisis de la celulosa y polisacáridos no celulósicos en el AIR se realizó de acuerdo a de Escalada Pla et al. (2007), por dispersión de la muestra en una solución de ácido sulfúrico al 72% (v/v) durante 3 h. Luego, la dispersión se llevó a ácido sulfúrico 1M mediante la adición de agua deionizada y se colocó en un baño de agua a 100°C durante 2,5 h. Finalmente la muestra fue enfriada y centrifugada, el sobrenadante se separó y se neutralizó con hidróxido de sodio. El residuo se liofilizó para determinar gravimétricamente el contenido de lignina.

Un segundo procedimiento se llevó a cabo, dónde se dispersó la muestra en una solución de ácido sulfúrico al 72% (v/v) e inmediatamente se añadió agua desionizada hasta una concentración de ácido sulfúrico1 M seguido de 2,5 h de calentamiento a 100°C. El residuo final se expresó como celulosa + lignina, mientras que, el sobrenadante fue constituido por polisacáridos no celulósicos. El contenido de carbohidratos totales se determinó por el método de fenol-sulfúrico usando estándar de glucosa como curva de calibración (Dubois et al. 1956).

El tercer procedimiento se realizó de igual forma que la técnica descripta en el 2<sup>do</sup> procedimiento, pero con 1 h de calentamiento a 100°C en baño de agua. Luego de la centrifugación, el sobrenadante se separó y neutralizó para determinar la concentración de ácidos urónicos por el método espectrofotométrico descrito por Filisetti-Cozzi y Carpita (1991).

#### Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante análisis de la varianza con un nivel de significancia (α) del 0,05 utilizando el programa Statgraphics Centurion XV (V 2.15.06, 2007, USA).

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Propiedades físico-químicas y funcionales

El PC con *L. casei* presentó un recuento viable >10<sup>6</sup> UFC/g, cumpliendo con las exigencias locales para que un producto sea considerado probiótico (Código Alimentario Argentino 2011). Los resultados correspondientes a las características físicas y funcionales del PC con *L. casei* se detallan en la **Tabla 1**. Con propósitos comparativos, también se incluyen valores obtenidos en fracciones ricas en fibra dietaria de distintas fuentes vegetales reportados por otros autores. La densidad aparente (□) y el volumen específico (υ) no presentaron diferencias significativas entre el PC con *L. casei* y la muestra control. De acuerdo a los resultados reportados en otras fracciones ricas en fibra obtenidas a partir de calabaza, membrillo y durazno, la □□de las muestras analizadas fue mayor, mientras que, el υ resultó menor (de Escalada Pla et al. 2007, 2010, 2012). Esto podría estar relacionado con el hecho de que en el presente trabajo se utilizó un tratamiento de secado bajo vacío en la preparación de las muestras, mientras que, en el trabajo publicado por de Escalada Pla et al. (2007, 2010, 2012) se aplicó un tratamiento de deshidratación convencional por convección a 50°C, condiciones que pudieron ocasionar colapso de la matriz vegetal (de Escalada Pla et al. 2007) y que, en este trabajo, fueron evitadas con la deshidratación al vacío a 25°C (**Tabla 1**).

La capacidad de absorción de aceite (OHC) depende de las propiedades de superficie y de la naturaleza hidrofóbica de los componentes de la matriz vegetal (Figuerola et al. 2005). La OHC se redujo significativamente (p≤0,05) en la muestra PC con *L. casei* respecto a la muestra control. Los valores de OHC del presente trabajo fueron similares a los reportados por Roongruangsri y Bronlund (2016) en polvos de calabaza secados por convección, mientras que, otras fracciones ricas en fibra, como por ejemplo membrillo y durazno, la OHC reportada fue menor a los valores registrados en el presente trabajo (de Escalada Pla et al. 2010, 2012)(**Tabla 1**).

Las propiedades de hidratación de fracciones vegetales ricas en fibra describen la habilidad de retener agua en su estructura, y también están asociadas al incremento del peso de las heces durante el tránsito intestinal y la reducción de la velocidad de absorción de nutrientes (Figuerola et al. 2005). La capacidad de hinchamiento (SC) se define como la relación del volumen ocupado por unidad de masa después de la inmersión en exceso de agua y su equilibrio al peso real (Raghavendra et al. 2004). Por lo tanto, este parámetro indica cuánta agua es retenida débilmente en las estructuras capilares de la fibra (Figuerola et al.

2005). La SC de la muestra PC con *L. casei* fue significativamente menor ( $p \le 0.05$ ) respecto al sistema de la muestra control (**Tabla 2**).

La capacidad de atrapamiento de agua (WHC) se define como la cantidad de agua retenida por la fibra sin la aplicación de una fuerza externa (Raghavendra et al. 2004), mientras que, la capacidad de retención de agua (WRC), es una propiedad que describe la cantidad de agua que permanece en la fibra hidratada después de la aplicación de una fuerza externa (presión o centrifugación), por lo tanto, incluye la proporción de agua fuertemente asociada a la matriz (Raghavendra et al. 2004). La WHC y WRC no fueron afectadas significativamente por la presencia del probiótico en la matriz, presentando un valor promedio de 24±2 g/g y 17,5±0,7 g/g, respectivamente. Los valores de la SC, WHC y WRC en la muestra control se encontraron en el orden de aquellos reportados para fracciones ricas en fibra de calabaza y durazno por de Escalada Pla et al. (2007, 2012) (**Tabla 1**).

Tabla 1 Propiedades físicas, funcionales y de hidratación del PC.

|                        | Propiedad            | des físicas-fun           | cionales          | Propiedades de hidratación |                |                            |  |  |
|------------------------|----------------------|---------------------------|-------------------|----------------------------|----------------|----------------------------|--|--|
| Muestras               | ρ                    | υ                         | ОНС               | SC                         | WHC            | WRC                        |  |  |
|                        | $(g/cm^3)$           | $(cm^3/g)$                | (g/g)             | (mL/g)                     | (g/g)          | (g/g)                      |  |  |
| PC con L. casei        | $0.181 \pm 0.01^{a}$ | $5,5 \pm 0,3^{\text{ a}}$ | $4,55 \pm 0.06$ b | $13.9 \pm 0.1$ b           | $23 \pm 1^{a}$ | $17,1 \pm 0,7^{\text{ a}}$ |  |  |
| Control                | $0,190 \pm 0,008$ a  | $5,3 \pm 0,2^{a}$         | $4,9 \pm 0,2^{a}$ | $15,90 \pm 0,04$ a         | $23 \pm 1^{a}$ | $17.8 \pm 0.5^{\text{ a}}$ |  |  |
| Calabaza <sup>1</sup>  | NR                   | $1,10 \pm 0,02$           | NR                | $25,0 \pm 0,2$             | $24 \pm 6$     | $23 \pm 6$                 |  |  |
| Membrillo <sup>2</sup> | $0,558 \pm 0,007$    | $1,79 \pm 0,02$           | $1,26 \pm 0,02$   | $6,40 \pm 0,09$            | $13 \pm 1$     | $5,6 \pm 0,3$              |  |  |
| Durazno <sup>3</sup>   | $0,486 \pm 0,009$    | $2,06 \pm 0,04$           | $1,81 \pm 0,02$   | $29 \pm 2$                 | $24 \pm 2$     | $14,3 \pm 0,4$             |  |  |

NR: no reportado.

Resultados expresados como valor promedio (n = 2)  $\pm$  DE. Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (p $\le$ 0,05) entre las muestras.

<sup>1</sup>Concentrado de fibra obtenido a partir de pulpa de calabaza (de Escalada Pla et al., 2007). <sup>2</sup>Concentrado de fibra de membrillo (de Escalada Pla et al. 2010). <sup>3</sup>Concentrado de fibra de durazno (de Escalada Pla et al. 2012).

Los resultados correspondientes a la caracterización química del residuo insoluble en alcohol (AIR) de las muestras se detallan en la **Tabla 2**. La fracción del AIR obtenida en la muestra PC con *L. casei* presentó un contenido significativamente ( $p \le 0.05$ ) menor [46,6±3 g/100 g de PC bs] comparado con la muestra control [52±1 g/100 g de PC bs]. Las muestras estuvieron constituidas principalmente por polímeros de pared celular. El contenido de proteínas de la fracción rica en material de pared celular de la muestra PC con *L. casei* fue de 12,2±0,1 g/100 g de PC bs, y resultó significativamente ( $p \le 0.05$ ) mayor que el de la muestra control (10,8±0,4 g/100 g de PC bs). El mayor contenido de proteínas en el PC con *L. casei* podría deberse al incremento de la biomasa del probiótico durante el proceso de incubación.

El contenido de lignina y celulosa no mostró diferencias entre la muestra control y la PC con *L. casei*, presentando valores de 5,6±0,3 y 5,6±0,5 g/100 g de PC bs, respectivamente.

Los carbohidratos no celulósicos del material de pared celular no presentaron diferencias significativas entre los sistemas estudiados, mostrando un contenido promedio de 59±4 g/100 g de PC bs. El elevado contenido de estos carbohidratos revela la naturaleza química hidrofílica de la matriz vegetal, que, a su vez, es consecuente con los valores obtenidos en las propiedades de hidratación de las muestras estudiadas (**Tabla 1**).

Con respecto al contenido de ácidos urónicos, no se observaron diferencias significativas entre las muestras, presentando un valor promedio 16±0,5 g/100 g de PC bs. El contenido de ácidos urónicos es de interés para la industria alimenticia por sus propiedades gelificantes, espesantes y estabilizantes (Müller-Maatsch et al. 2016). Además, existe evidencia de que retrasan el vaciamiento gástrico y la velocidad de absorción de los nutrientes en el intestino delgado, poseen moderado índice glucémico y reducido aporte calórico (Wicker y Kim 2016).

Tabla 2 Composición química de la fracción rica en material de pared celular en el PC.

| g/100 g de AIR                      | Control                | PC con L. casei    |
|-------------------------------------|------------------------|--------------------|
| Proteínas                           | $10.8 \pm 0.4^{\ b}$   | $12,2 \pm 0,1^{a}$ |
| Lignina                             | $5.5 \pm 0.7$ a        | $5,5\pm0,5$ a      |
| Celulosa                            | $5{,}14 \pm 0{,}08$ a  | $5,3 \pm 0,5$ a    |
| Polisacáridos no celulósicos        | $58 \pm 3^{\text{ a}}$ | $61 \pm 5^{a}$     |
| <ul> <li>Ácidos urónicos</li> </ul> | $17 \pm 1^{a}$         | $15.8 \pm 0.7$ a   |

AIR: residuo insoluble en alcohol.

Letras diferentes entre columnas en una misma fila indican diferencias significativas (p≤0,05) entre las muestras.

La temperatura de transición vítrea (Tg) es la temperatura de transición de un sistema en estado vítreo al estado gomoso, o a la inversa, debido a cambios de temperatura y/o humedad (Santivarangkna 2016). Durante el almacenamiento, los polvos deshidratados pueden adsorber agua del medio reduciendo la Tg, lo cual provoca que la matriz pase del estado vítreo al gomoso. Este cambio de fase, está asociado a varias transformaciones estructurales como consecuencia de la disminución de la viscosidad y el aumento de la movilidad molecular (Telis y Martínez-Navarrete 2010). La Tg se determinó en la muestra control, en el PC con *L. casei* y en las células aisladas y deshidratadas al vacío de *L. casei*. Los parámetros característicos de la Tg determinados por calorimetría diferencial de barrido (DSC) y la aw se muestran en la **Tabla 3**.

**Tabla 3** Parámetros de a<sub>w</sub> y temperatura de transición vítrea en el PC.

| Muestras  | $\mathbf{a}_{\mathrm{w}}$ | Tg Inicio<br>(°C) | Tg Punto medio<br>(°C) | Tg Punto final<br>(°C) |
|-----------|---------------------------|-------------------|------------------------|------------------------|
| PC con LC | $0.12 \pm 0.03$           | -17,60            | -6,84                  | 5,77                   |
| Control   | $0.10 \pm 0.02$           | -31, 63           | -23,21                 | -12,96                 |
| L. casei  | ND                        | -13,18            | 2, 64                  | 10, 65                 |

L. casei: células libres del probiótico. Tg: temperatura de transición vítrea. ND: valor no determinado.

La muestra de PC con *L. casei* y el control presentaron valores de a<sub>w</sub> menores a 0,20. Estas condiciones mejoran la estabilidad de la matriz de vehiculización del probiótico durante el almacenamiento dado que el reducido contenido de agua libre disminuye la movilidad molecular y el crecimiento microbiano (Santivarangkna 2016).

En la **Figura 1** se muestran los termogramas de las curvas de flujo de calor en función de la temperatura en las muestras estudiadas. Se observó que la curva de la muestra PC con *L. casei* fue muy similar a la obtenida a partir de las células libres del probiótico; y respecto del sistema control, el PC con *L. casei* mostró un corrimiento y una tendencia a mayores valores de Tg (**Figura 1**, **Tabla 3**). A priori, estos resultados podrían sugerir una ventaja desde el punto de estabilidad del polvo deshidratado durante el almacenamiento. Sin embargo, se requieren más estudios para confirmar que la presencia del probiótico podría mejorar la estabilidad del polvo deshidratado.

Por otro lado, en la muestra control se observó la presencia de un pico endotérmico a 64,21°C, que podría estar relacionado con la gelatinización del almidón (Donovan et al. 1983). La ausencia del pico endotérmico en el PC con *L. casei* podría explicarse a que probablemente fue utilizado como fuente de carbono y energía por los probióticos durante el período de incubación (Gänzle y Follador 2012, Petrova et al. 2013).



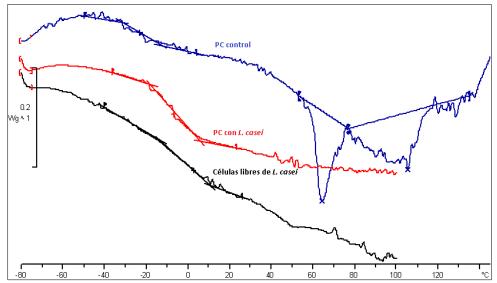


Figura 1 Termograma de las curvas de flujo de calor en función de la temperatura.

## **CONCLUSIONES**

La presencia del probiótico no modificó sustancialmente las características físicas, funcionales y la composición química de la fibra dietaria en la matriz soporte obtenida a partir de subproducto de calabaza, manteniéndose de este modo la calidad nutricional de la misma y aportando mayor estabilidad al producto resultante.

Se pudo concluir que el polvo deshidratado a base de subproductos de calabaza con fibra dietaria y microorganismos probióticos y de buenas propiedades de hidratación, podría ser utilizado como espesante y/o estabilizante para la formulación de alimentos funcionales, especialmente aquellos de origen no lácteo.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Código Alimentario Argentino. 2011. Resolución Conjunta 261/2011 y 22/2011. Buenos Aires, Argentina. Secretaria de Políticas, Regulación e Institutos y Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. pp. 1-4.

de Escalada MF, González P, Sette P, Portillo F, Rojas AM, Gerschenson LN. 2012. Effect of processing on physico-chemical characteristics of dietary fibre concentrates obtained from peach (Prunus persica L.) peel and pulp. FRIN, 49: 184–192.

de Escalada Pla MF, Ponce NM, Stortz CA, Gerschenson LN, Rojas AM. 2007. Composition and functional properties of enriched fiber products obtained from pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret). LWT - Food Science and Technology, 40: 1176–1185.

de Escalada Pla MF, Uribe M, Fissore EN, Gerschenson LN, Rojas AM. 2010. Influence of the isolation procedure on the characteristics of fiber-rich products obtained from quince wastes. Journal of Food Engineering, 96: 239–248.

Donovan JW, Lorenz K, Kulp K. 1983. Differential Scanning Calorimetry of Heat-Moisture Treated Wheat and Potato. Cereal Chemistry, 60: 381–387.

Figuerola F, Estévez AM, Chiffelle I, Asenjo F. 2005. Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. Food Chemistry, 91: 395–401.

Foerst P, Kulozik U, Schmitt M, Bauer S, Santivarangkna C. 2012. Storage stability of vacuum-dried probiotic bacterium *Lactobacillus paracasei* F19. Food and Bioproducts Processing, 90: 295–300.

Gänzle MG, Follador R. 2012. Metabolism of oligosaccharides and starch in *lactobacilli*: A review. Frontiers in Microbiology, 3: 1–15.

Genevois CE, Flores SK, de Escalada Pla MF. 2016. Byproduct from pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex poiret) as a substrate and vegetable matrix to contain *Lactobacillus casei*. Journal of Functional Foods, 23: 210–219.

Guergoletto KB, Magnani M, Martin JS, Andrade CGTDJ, Garcia S. 2010. Survival of Lactobacillus casei

(LC-1) adhered to prebiotic vegetal fibers. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11: 415–421.

Mora YN, Contreras JC, Aguilar CN, Meléndez P, De la Garza I, De Rodríguez R. 2013. Chemical Composition and Functional Properties from Different Sources of Dietary Fiber. American Journal of Food and Nutrition, 1: 27–33.

Müller-Maatsch J, Bencivenni M, Caligiani A, Tedeschi T, Bruggeman G, Bosch M, Sforza S. 2016. Pectin content and composition from different food waste streams. Food Chemistry, 201: 37–45.

Petrova P, Petrov K, Stoyancheva G. 2013. Starch-modifying enzymes of lactic acid bacteria – structures, properties, and applications. Starch - Stärke, 65: 34–47.

Raghavendra SN, Rastogi NK, Raghavarao KSMS, Tharanathan RN. 2004. Dietary fiber from coconut residue: effects of different treatments and particle size on the hydration properties. European Food Research Technology, 218: 563–567.

Roongruangsri W, Bronlund JE. 2016. Effect of air-drying temperature on physico-chemical, powder properties and sorption characteristics of pumpkin powders. International Food Research Journal, 23: 962–972.

Saarela M, Virkajärvi I, Nohynek L, Vaari A, Mättö J. 2006. Fibres as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals. International Journal of Food Microbiology, 112: 171–178.

Santivarangkna C. 2016. Storage Stability of Probiotic Powder. In Foerst P. & Santivarangkna C. (Eds.), Advances in Probiotic Technology (pp. 286–310). New York, US: Taylor & Francis Group, LLC.

Telis VRN, Martínez-Navarrete N. 2010. Application of compression test in analysis of mechanical and color changes in grapefruit juice powder as related to glass transition and water activity. LWT - Food Science and Technology, 43: 744–751.

Tripathi MK, Giri SK. 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. Journal of Functional Foods, 9: 225–241.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Agradecimientos por el soporte financiero brindado a UBACYT GEF 2014-2017(20020130200237); Argen INTA 2015 (Fundación ArgenINTA) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

111



# Formulación y caracterización de una bebida fermentada a base de leche de soja Genevois C.E. <sup>1,2</sup>, Castellanos A.P. <sup>1</sup>, Flores S.K. <sup>1,2</sup>, de Escalda Pla M.F. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Industrias, FCEN-UBA, Intendente Güiraldes 2160, CABA, Buenos Aires, Argentina.

#### **RESUMEN**

El objetivo del trabajo fue evaluar las propiedades nutricionales, funcionales y organolépticas de una bebida fermentada a base de leche de soja con *Lactobacillus casei* (ATCC-393). La cepa de *L. casei* fue previamente inmovilizada en una matriz vegetal (PC con *L. Casei*). La bebida se preparó con leche de soja (12,5°Brix), pulpa de frutilla (10% v/v), esencia artificial de frutilla (1% v/v) y estevia (1% p/v). Luego de la esterilización, se adicionó el PC con L. casei (0,1% p/v) como *starter* del proceso de fermentación. La bebida fermentada presentó un recuento viable del probiótico >10° UFC/mL, dónde el 86±6% de las células sobrevivió a la digestión gastrointestinal *in vitro*. El contenido de ácido fítico, rafinosa y estaquiosa se redujo después de la fermentación. El 72±2% del contenido acuoso del producto estuvo retenido en una estructura de gel estable, el gel fue débil de acuerdo al resultado del espectro mecánico. La firmeza presentó un valor de 0,00122±0,00006 MPa. La aceptabilidad de la bebida fermentada se evaluó considerando atributos de color, aroma y cremosidad, y aceptabilidad global. La puntuación recibida fue de 6 puntos en una escala de 9 puntos, siendo calificada como *"me gusta ligeramente"*.

Palabras clave: Lactobacillus casei, bebida fermentada, leche de soja, propiedades nutricionales, calidad.

## **ABSTRACT**

The aim of this work was to assess the nutritional, functional and organoleptic properties of a fermented soy milk beverage with *Lactobacillus casei* (ATCC-393). The *L. casei* strain was previously immobilized in a vegetable matrix (PC *L. casei*). The beverage was prepared with soy milk (12.5°Brix), strawberry pulp (10%, v/v), artificial strawberry flavour (1%, v/v), and stevia (1%, w/v). After the sterilization, the PC *L. casei* (0.1%, w/v) was added as starter of the fermentation process. The fermented beverage presented a viable probiotic count >10° CFU/mL, where 86±6% of the cells survived the *in vitro* gastrointestinal digestion. The content of phytic acid, raffinose and stachyose were reduced after the fermentation. A water content of 72±2% was retained in the stable gel structure; the gel was weak according the results of mechanical spectrum. The firmness presented a value of 0.00122±0.00006 MPa. The acceptability of the fermented beverage was evaluated considering attributes of color, aroma and creaminess, and overall acceptability. The score received was 6.0 on a 9-point scale, being described as "*like slightly*".

**Keywords:** Lactobacillus casei, fermented beverage, soy milk, nutritional properties, quality.

# INTRODUCCIÓN

La soja es una materia prima de excelente calidad para el desarrollo de alimentos probióticos de origen vegetal; sin embargo, muchas veces su aceptación se obstaculiza por el flavour a poroto y por la presencia de compuestos no deseables como el ácido fítico, rafinosa y estaquiosa, limitando su aplicación en los alimentos (Içier et al. 2015). Algunos autores han reportado que el proceso de fermentación mejora notablemente el flavour y las propiedades nutricionales de estos productos (Donkor et al. 2007, Wang et al. 2003). El proceso de fermentación de un producto a base de leche de soja es similar al de leche de vaca en la elaboración de yogur (Ferragut et al 2009). Los productos fermentados a base de soja pueden proveer beneficios adicionales al consumidor debido a propiedades funcionales tales como hipocolesterolémico, anticolesterolémico, antiaterogénico, y alergenicidad reducida (Donkor et al. 2007, Mishra Pandey y Mishra 2015).

La presencia de rafinosa y estaquiosa está relacionada a la disconformidad abdominal. Estos compuestos pueden ser hidrolizados por la enzima  $\alpha$ -galactosidasa presente en bacterias ácido lácticas, previniendo el efecto de distensión abdominal sin eliminar el efecto probiótico (Gänzle y Follador 2012). Una alternativa simple y económica es utilizar bacterias que sinteticen esta enzima y sean capaces de reducir su contenido

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CABA, Buenos Aires, Argentina. Dirección de e-mail: <a href="mailto:cgenevois@di.fcen.uba.ar">cgenevois@di.fcen.uba.ar</a>

durante el proceso de fermentación. Sin embargo, el grado de hidrólisis de estos oligosacáridos en la leche de soja es dependiente de la cepa utilizada y de la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa (Donkor et al. 2007).

Con respecto a los alimentos que vehiculizan microorganismos probióticos, el beneficio en la salud del huésped se obtiene cuando la cepa probiótica alcanza el sitio de acción en un estado metabólicamente activo y en un número suficiente (Saad et al. 2013). Por lo tanto, la capacidad de los microorganismos probióticos de permanecer funcionalmente activos durante almacenamientos prolongados es uno de los requisitos nutricionales más importantes en la preservación de alimentos funcionales (Champagne et al. 2011). En Argentina, el Código Alimentario Argentino establece que un alimento probiótico debe presentar un recuento de células probióticas >10<sup>6</sup> UFC/mL al momento de su consumo (ANMAT 2011).

El presente trabajo tuvo como objetivo formular una bebida fermentada a base a leche de soja con *Lactobacillus casei* (ATCC 393) y evaluar las propiedades nutricionales, funcionales, reológicas y sensoriales en el producto final.

# MATERIALES Y MÉTODOS

# Preparación del ingrediente a base de calabaza conteniendo Lactobacillus casei

Aproximadamente 10 g de subproductos de calabaza *Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret conteniendo cáscara y pulpa (70:30, p/p) previamente triturados y deshidratados al vacío (Martin Christ Alpha 1-4, Alemania) fueron adicionados con 100 mL de agua destilada. La mezcla fue esterilizada, luego se adicionó 1 mL de caldo conteniendo una suspensión de *L. casei* (1,5-2 log (UFC/mL) e inmediatamente se llevó a incubación a 37°C durante 24 h. El sistema fue centrifugado, el pellet fue lavado con solución fisiológica y posteriormente secado al vacío a 25°C a 4,5 Pa durante 24 h. Finalmente, el polvo de calabaza conteniendo *L. casei* (PC con *L. casei*) fue molido, tamizado con una malla de acero inoxidable de tamaño de poro < 840 μ y almacenado a temperatura ambiente.

# Preparación de la leche de soja

Aproximadamente 250 g de semillas de soja (*Glycine max*) se mezclaron con 250 mL de agua potable (p/v), dejándolas en remojo a 25°C durante por 18 h. Luego, fueron trituradas con un procesador manual (Modelo D-56, Molinex, Argentina) hasta obtener una mezcla homogénea. Se adicionó 1.250 mL de agua y se llevó a ebullición durante 30 min con agitación constante. La mezcla se filtró a través de una gasa fina, separando el residuo sólido (okara) de la leche. Para obtener leche de soja con una concentración de sólidos solubles de 12,5 °Brix se utilizó un rotovapor (Modelo R-124, BÜCHI, Alemania) conectado a un baño térmico (Modelo B-840, BÜCHI, Alemania) bajo condiciones de evaporación a temperatura de 70°C a 20 rpm. La leche a base de soja se almacenó a temperatura de 4°C sin la adición de conservantes durante 3 días, hasta su utilización en la preparación de la bebida a base de leche a base de soja fermentada.

## Preparación de la bebida a base de leche de soja fermentada

La combinación óptima de sólidos solubles (12,5 °Brix) y el ingrediente conteniendo el *L. casei* (PC con *L. casei*) fue previamente definida a partir de un diseño central compuesto utilizando la metodología de superficie de respuesta. La leche de soja se mezcló con esencia artificial de frutilla (1% p/v; Sensaciones, Prindal, Argentina), pulpa de frutilla (10% p/v; Bahia Regional Trade S.A., Argentina) y edulcorante natural a base de estevia (1% p/v; Hileret Stevia, Argentina). Luego la mezcla fue esterilizada a 121°C durante 15 min y rápidamente enfriada. Seguidamente, se adicionó el ingrediente conteniendo el probiótico (0,1%; p/v) y se homogeneizó a una velocidad de 9.500 rpm durante 30 seg (T25 Ultra-Turrax® IKA, China). La bebida se llevó en incubación a 37°C con agitación orbital a 60 rpm durante 20 h.

# Caracterización físico-química

El pH fue determinado con un electrodo combinado de vidrio  $Ag^{\circ}/AgCl$  conectado a un pH metro (Cole-Parmer, USA).

El porcentaje de sólidos solubles se determinó utilizando un refractómetro portátil con compensación automática de temperatura (Modelo RHB-32, Cole-Parmer, China). Los resultados se expresaron en porcentaje de sólidos solubles (°Brix).

La acidez titulable se determinó por titulación con hidróxido de sodio 0,01 M y fenolftaleína como indicador, y los resultados fueron expresados como g de ácido láctico/100 mL.

La capacidad de retención de agua (WHC) se determinó centrifugando ~ 2 g de muestra a 6 °C a 5.000 rpm durante 40 min. El sobrenadante fue cuidadosamente removido y el pellet fue pesado (Granato et al. 2010).

La WHC se expresó en porcentaje, utilizando la Ecuación 1:

WHC (%) = 
$$\frac{Peso_{inicial} - Peso_{final}}{Peso_{inicial}} \times 100_{(1)}$$

## Determinación de la viabilidad de L. casei

El recuento de células viables se realizó por recuento en profundidad mediante diluciones seriadas de agua peptona al 0,1% (p/v) (Biokar Diagnostics, Francia). Alícuotas de 0,1 mL de muestra fueron plaqueadas en profundidad en agar de Man, Rogosa y Sharpe (MRS) (Biokar Diagnostics, Francia) seguidas de incubación a 37°C durante 72 h. La viabilidad de *L. casei* se expresó como log (UFC/mL bebida fermentada).

# Evaluación de la resistencia del L. casei a la digestión gástrica e intestinal in vitro

La resistencia del *L. casei* en la bebida fermentada se determinó siguiendo la metodología descripta por Genevois et al. (2016). A 2 mL de la bebida fermentada se le adicionaron 2,5 mL de saliva artificial y la mezcla fue homogenizada durante 2 min. Luego, se verificó la digestión gástrica mediante la adición de 15 mL de una solución de ácido clorhídrico-pepsina [pepsina al 0,3% (p/v) (Merck, 0,7 FIP-U/mg) en ácido clorhídrico 0,01 N] seguido de incubación a 37°C con agitación orbital a 120 rpm durante 2 h. Seguidamente, el pH de la solución gástrica se ajustó a 7,5-8,0 con una solución estéril de hidróxido de sodio 2 M, y finalmente, 15 mL de solución intestinal (buffer de fosfato de potasio monobásico 0,05 M) conteniendo sales biliares (0,6% p/v) fueron adicionadas, seguido de incubación a 37°C con agitación orbital a 120 rpm durante otras 2 h.

Las condiciones de digestión gastrointestinal simuladas se realizaron por duplicado a partir de muestras independientes. La viabilidad de *L. casei* se expresó en % de supervivencia, mediante el cociente entre log (UFC/mL bebida fermentada) final e inicial x 100, informando el valor promedio ± desvío estándar (DE). El recuento inicial correspondió al recuento viable del probiótico en la bebida fermentada antes de la digestión gastrointestinal y el recuento final correspondió al recuento viable después de la digestión gástrica o intestinal.

# Contenido de ácido fítico, rafinosa y estaquiosa

El contenido de ácido fítico se evaluó mediante una técnica colorimétrica siguiendo la metodología descripta por Gao et al. (2007) y Lai et al. (2013), con modificaciones. ~0,25 g de muestra liofilizada fue resuspendida en 5 mL de ácido clorhídrico (2,4%, v/v) seguido de agitación durante 16 h. Luego, la muestra fue centrifugada y 1 mL del sobrenadante fue diluido en 24 mL de agua bidestilada. A una alícuota de 750  $\mu$ L de esta dilución se adicionó 750  $\mu$ L de agua bidestilada y 500  $\mu$ L del reactivo de Wade (0,03% de cloruro de hierro hexa hidrato y 0,3% de ácido sulfosalicílico.2H<sub>2</sub>O), seguido de agitación durante 1 min. La curva de calibración se realizó con un estándar de ácido fítico ( $C_6H_{18}O_{24}P_6\cdot xNa^+\cdot H_2O$ , Sigma-Aldrich, Suiza) y la absorbancia se midió utilizando un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1800, Japón) a una longitud de onda de 500 nm.El contenido de ácido fítico se expresó en mg de ácido fítico/g de bebida fermentada (bs).

El contenido de rafinosa y estaquiosa se analizó utilizando una columna de polyamine II YMC-Pack (YMC Co., Japón) de acuerdo a la metodología descripta por Kim et al. (2013), con modificaciones. Aproximadamente 0,5 g de muestra liofilizada fue re-suspendida en etanol al 20% (v/v) y colocada en un baño térmico a 35°C durante 60 min con agitación constante. Luego, la muestra fue centrifugada a 6°C a 4.830 rpm durante 20 min. El sobrenadante fue recogido y filtrado a través de un cartucho Sep-Pak® Plus NH<sub>2</sub> (Waters, USA), y luego llevado a sequedad bajo vacío (Martin Christ Alpha 1-4, Alemania) durante 24 h, y almacenados en un recipiente hermético a -20°C hasta su utilización.

El residuo seco sólido fue re-suspendido en agua destilada, filtrado por un filtro de nailon de 0,25  $\mu$ m, y finalmente 20  $\mu$ L fueron inyectados en el equipo de HPLC conectado a un desgasificador en línea (Modelo AF, Waters, USA), a una bomba de suministro del solvente de la fase móvil (Modelo 1525, Waters, USA) y a un detector de índice de refracción (Modelo 2414, Waters, USA). Las condiciones de corrida se realizaron con la columna a 35°C, el detector a 39°C, fase móvil acetonitrilo: agua (70:30, v/v; Biopack, Argentina) y velocidad de flujo de 1,0 mL/min. Las curvas de calibración se realizaron con los estándares de rafinosa y estaquiosa (Sigma-Aldrich, USA). Los resultados se expresaron como mg/g bebida fermentada (bs).

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado, partiendo de muestras independientes e informando en los resultados el valor promedio  $\pm$  DE.

## Caracterización reológica

#### **Textura**

La textura se evaluó mediante un ensayo de punción utilizando una máquina universal de testeo Instron (Modelo 3345, USA) equipada con una celda de carga de 100 N. Una punta de acero inoxidable fue introducida en la muestra a una velocidad de 5 mm/seg hasta lograr una deformación del 70%. En cada ensayo se registró las curvas de esfuerzo ( $\sigma$ ) (Ecuación 2) en función de la deformación ( $\varepsilon$ ) (Ecuación 3), y a partir de estos datos se calculó la firmeza como el cociente entre  $\sigma/\varepsilon$  (MPa).

$$\sigma \, (\text{MPa}) \, = \frac{\text{Fuerza (N)}}{\text{Area de la muestra } (mm^2)^{(2)}}$$
 
$$\epsilon \, (\%) = \frac{\text{Desplazamiento de la punta (mm)}}{\text{altura inicial de la muestra (mm)}} \, \times \, 100 \quad _{(3)}$$

# Evaluación del comportamiento viscoelástico

Para evaluar el comportamiento viscoelástico de la bebida fermentada se llevaron a cabo barridos de frecuencia mediante un reómetro dinámico de tensión tangencial controlada (Paar Physica MCR 300, Antón Paar, Alemania) con una geometría de cono y plato de 75 mm de diámetro (Modelo CP75-2) con un ángulo de 2°. Todas las mediciones se realizaron a temperatura constante de 10°C. Primeramente, se llevaron a cabo barridos de esfuerzo entre 10 y 1000 Pa a frecuencias constantes de 6 s<sup>-1</sup> para determinar el rango de viscoelasticidad lineal. De acuerdo al rango obtenido, se seleccionó el valor de deformación de la muestra y se realizaron los barridos de frecuencia en el rango de 0,1 a 10 s<sup>-1</sup> para obtener el espectro mecánico.

#### Evaluación sensorial

La evaluación sensorial fue realizada por un panel sensorial no entrenado de 62 voluntarios, consumidores frecuentes o no frecuentes de productos a base de soja. Cada panelista recibió una porción individual de ~ 5 mL de la bebida fermentada en un vaso codificado con 3 números asignados aleatoriamente. La muestra se ofreció a 8°C. El panel fue instruido para evaluar la bebida según el grado de agrado o desagrado en atributos de color, aroma, cremosidad en la boca, y aceptabilidad global usando una escala hedónica semi-estructurada de 9 puntos (Lawless y Heymann 2013). En los resultados se informa el valor promedio ± DE del nivel de percepción de cada atributo evaluado y de la aceptabilidad global del producto.

#### Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante análisis de la varianza con un nivel de significancia (α) del 0,05 utilizando el programa Statgraphics Centurion XV (V 2.15.06, 2007, USA).

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# Características físico-químicas y nutricionales de la bebida fermentada a base de leche de soja

La bebida fermentada presentó un pH de 4,73±0,04 y una acidez titulable de 0,71±0,05 g de ácido láctico/100 mL. El descenso del pH respecto del valor inicial en la leche de soja (6,1±0,3) se debe a la producción de ácido láctico a partir de la fermentación de los carbohidratos por parte de los microorganismos probióticos (Bedani et al. 2014). La reducción del pH produjo un gel débil pero estable presentando una WHC del 72±2%, la cual mide indirecta e inversamente el control de la sinéresis en el producto final (Granato et al. 2010).

Antes de iniciar el proceso de fermentación, la carga inicial del *L. casei* en la bebida fue de 5,2 log (UFC/mL). Luego del proceso de fermentación, la bebida presentó un recuento viable de células probióticas de 9,54 ± 0,09 log (UFC/mL). Durante 21 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración (8°C), la viabilidad del probiótico no presentó cambios significativos, lo que indica que el producto representa un medio adecuado para la vehiculización del probiótico. Tanto el recuento inicial como final del almacenamiento, estuvieron por encima del valor mínimo de células probióticas viables (>10<sup>6</sup> UFC/mL) que debe tener un alimento para ser considerado probiótico al momento de su consumo según el Código Alimentario Argentino (ANMAT 2011).

La funcionalidaddel *L. casei* se corroboró a través del ensayo de resistencia del probiótico a las condiciones simuladas de digestión gastrointestinal. Los resultados mostraron que el 86±6% de las células probióticas en la bebida fermentada lograron sobrevivir a las condiciones simuladas de digestión gastrointestinal luego de 21 días de almacenamiento a 8°C. Por lo tanto, se podría inferir que un porcentaje significativo del *L. casei* 

(>10<sup>8</sup> UFC/mL) podría llegar viable al lumen intestinal y, de ese modo, ejercer su efecto probiótico. Según un estudio realizado por Wang et al. (2009) la supervivencia del *Lactobacillus casei* a las condiciones gástricas e intestinales en leche de soja fermentada fue superior comparado con el sistema conteniendo las células libres del probiótico, demostrando la potencialidad de esta matriz para el crecimiento y vehiculización de microorganismos probióticos.

En la **Tabla 1** se detalla el contenido de ácido fítico, rafinosa y estaquiosa en la leche de soja y en la bebida fermentada, tanto al inicio como al final del almacenamiento.

**Tabla 1** Contenido de ácido fítico, rafinosa y estaquiosa en la leche de soja y en la bebida fermentada.

| Muestra           | Ácido fítico <sup>1</sup> |           | Rafinosa <sup>2</sup>  |           | Estaquiosa <sup>3</sup> |              |
|-------------------|---------------------------|-----------|------------------------|-----------|-------------------------|--------------|
|                   | Día 1                     | Día 21    | Día 1                  | Día 21    | Día 1                   | Día 21       |
| Leche de soja     | 9,2±0,3 a                 | ND        | 7,80±0,02 <sup>d</sup> | ND        | 21,15±0,2 <sup>f</sup>  | ND           |
| Bebida fermentada | 4,5±0,5 b                 | 1,9±0,1 ° | $6,0\pm0,2^{e}$        | 6,2±0,2 e | 26,72±0,04 g            | 14,08±0,04 h |

<sup>1, 2, 3</sup> valores expresados como mg/g muestra (bs). Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05) con un nivel de significancia del 95,0%. ND: no determinado. Leche de soja (7°Brix). Bebida fermentada (12,5°Brix).

El ácido fítico (AF) o fitato (myo-inositol hexafosfato) se encuentra presente en el poroto de soja y en sus productos derivados, como la leche de soja. El AF forma complejos con proteínas e iones metales, especialmente hierro, zinc, magnesio y calcio, reduciendo su absorción en el intestino (Tang et al. 2010). Por lo tanto, su cuantificación en el producto final resulta de interés desde un punto de vista nutricional. Como se observa en la **Tabla 1**, el contenido de AF se redujo significativamente (p≤0,05) después del proceso de fermentación en la bebida, comparado con el contenido inicial en la leche de soja. Después de 21 días de almacenamiento a 8°C, la bebida presentó un descenso significativo (p≤0,05) del contenido de AF respecto del valor observado después de la fermentación, lo cual representa una reducción adicional del 57±7%. La reducción del AF en la leche de soja fermentada probablemente se podría explicar por la presencia de fitasa en el *Lactobacillus casei* inmovilizado en la matriz de calabaza. En un estudio llevado a cabo por Tang et al. (2010) se comprobó la presencia de fitasa en *Lactobacillus casei* ASCC290 en un medio nutritivo MRS, observándose que un medio ácido (pH 5,0) acelera la actividad enzimática.

Con respecto al contenido de oligosacáridos en la bebida fermentada, la rafinosa se redujo significativamente ( $p\le0,05$ ) después de la fermentación de la leche de soja. Luego de 21 días de almacenamiento, el contenido de rafinosa en la bebida no mostró cambios significativos (**Tabla 1**), mientras que, la reducción del contenido de estaquiosa en la bebida fermentada, se observó fundamentalmente durante el almacenamiento, lo que se traduce en una reducción del 47,1±0,2%. En línea con los resultados reportados en el presente trabajo, autores como Wang et al. (2003) reportaron que el contenido inicial de rafinosa y estaquiosa en la leche de soja se redujo después de la fermentación con *Lactobacillus acidophilus en* un 11,3-19,0 y 35,6-40,2%, respectivamente. Por otro lado, de acuerdo a LeBlanc et al. (2004) la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa en *Lactobacillus plantarum* en leche de soja podría favorecerse con el proceso de fermentación debido a la reducción del pH del medio.

# Propiedades reológicas de la bebida fermentada a base de leche de soja

La textura es un grupo de propiedades físicas obtenidas de la estructura del alimento y de la forma en que sus ingredientes interactúan (Guggisberg et al. 2009). En la **Figura 1** se puede apreciar la curva característica de esfuerzo-deformación de la bebida fermentada a base de leche de soja. La bebida mostró la ruptura del gel a valores de esfuerzo de 1,9x10<sup>-4</sup>±3,3x10<sup>-6</sup> MPa y deformación del 15,8±0,7%, presentando un valor promedio de firmeza de 0,00122±0,00006 MPa. Estos resultados, a priori, podrían demostrar que el sistema estudiado presentaría un comportamiento similar al de yogur tipo firme o un gel (Fiszman et al.1999).



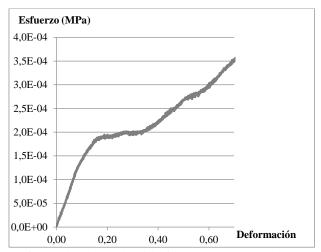
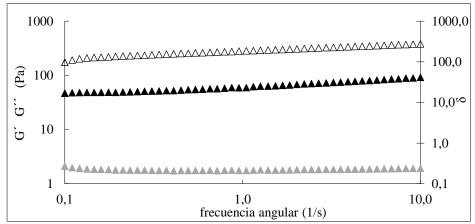


Figura 1 Curva de esfuerzo-deformación de la bebida fermentada a base de leche de soja almacenada a 8°C.

Para la caracterización de la estructura reológica de las muestras se utilizó el ensayo oscilatorio a pequeños esfuerzos de corte en función del barrido de frecuencia. El módulo de almacenamiento (G´) y el módulo de pérdida (G´´) son considerados parámetros que describen el comportamiento elástico y viscoso del producto respectivamente (Kristo et al. 2003). El espectro mecánico de la bebida fermentada se representa en la **Figura 2**, dónde se pudo observar un predominio de la componente elástica sobre la viscosa (G´ > G´´) en el rango de frecuencia analizado, lo que demuestra que estos sistemas son geles (Guggisberg et al. 2011, Kristo et al. 2003).

La contribución relativa de cada uno de estos módulos a la viscoelasticidad de la estructura del gel es expresada como la tangente del ángulo de desfasaje (tan  $\delta$ ). Este parámetro describe las propiedades viscoelásticas de la estructura del sistema, ya que relaciona la contribución de la componente elástica y viscosa (Kristo et al. 2003). En la bebida fermentada el valor de G' fue superior al de G'', y consecuentemente, el valor de  $\delta$  fue menor a uno.

Tanto en el módulo de almacenamiento como en el de pérdida, presentaron una leve dependencia con la frecuencia angular, observándose un incremento en los valores de G´y G´´a medida que se incrementó la frecuencia. Ello denota un comportamiento reológico del tipo de un gel débil. Estos resultados fueron similares a los reportados por Donkor et al. (2007) y Ferragut et al. (2009), quienes evaluaron el espectro mecánico de yogur de soja tratado térmicamente y suplementado con fibra, respectivamente.



**Figura 2** Barrido de frecuencia de la bebida fermentada a base de leche de soja almacenada a 8°C. Los símbolos  $\Delta$ ,  $\triangle$  y  $\triangle$ , representan el módulo de almacenamiento (G'), el módulo de pérdida (G''), y la tangente del ángulo de desfasaje, respectivamente.

# Evaluación sensorial de la bebida fermentada a base de leche de soja

La evaluación sensorial de la bebida fermentada se llevó a cabo mediante un Ensayo Afectivo con el objetivo de evaluar el nivel de agrado/ desagrado de los atributos sensoriales aceptabilidad general, color, aroma y cremosidad en la boca, utilizando una escala hedónica semi-estructurada de 9 puntos. La escala hedónica

asume que existe una preferencia en el consumidor y permite categorizar esa preferencia de acuerdo a las respuestas obtenidas (Lawless y Heymann 2013).

Del total de los evaluadores (n=62), el 75,8% correspondió a mujeres y el 24,2% a hombres. La edad de los participantes estuvo comprendida entre 20 y 55 años. La evaluación sensorial de la bebida obtuvo una puntuación de 6±2 en la escalada de 9 puntos en los atributos color, aroma y cremosidad en la boca, y en la aceptabilidad global, siendo calificada por los consumidores como "gusta ligeramente". En los ensayos afectivos los productos que obtienen calificaciones altas tienen más probabilidades de tener éxito en el mercado, sin embargo, es interesante resaltar que la mayor parte de los panelistas (39%) reportó consumir "casi nunca" productos a base de soja. El resto de los panelistas reportó consumir productos a base de soja, principalmente milanesas de soja o jugo a base de leche de soja, 3% "todos los días", 16% "2-4 veces por semana", 34% "1 vez por semana" y 7% "nunca".

En un trabajo realizado por Granato et al. (2010) para formular un postre a base de soja con jugo de guayaba, la puntuación obtenida por parte de los panelistas (consumidores frecuentes de alimentos a base de soja) para los atributos sensoriales color, cremosidad y aceptabilidad general fue menor a 6 en una escala de 9 puntos.

# **CONCLUSIONES**

La bebida fermentada a base de leche de soja presentó un recuento viable de *L. casei>10*8 UFC/mL durante 21 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración. Los ensayos *in vitro* demostraron que un porcentaje elevado (>86%) del probiótico logró llegar metabólicamente activo al intestino. El proceso de fermentación y/o el tiempo de almacenamiento redujeron el contenido de ácido fítico, rafinosa y estaquiosa en el producto final. La caracterización reológica reveló un gel de estructura débil pero que resultó estable y con baja sinéresis. El producto final presentó buena aceptabilidad general, recibiendo una calificación 6 de puntos en una escala de 9 puntos.

# **BIBLIOGRAFÍA**

ANMAT. Resolución Conjunta 261/2011 y 22/2011, Pub. L. No. 261/2011; 22/2011. 2011. Argentina.

Bedani R, Silva Vieira AD, Rossi EA, Isay Saad SM. 2014. Tropical fruit pulps decreased probiotic survival to in vitro gastrointestinal stress in synbiotic soy yoghurt with okara during storage. LWT - Food Science and Technology, 55: 436–443.

Champagne CP, Ross RP, Saarela M, Hansen KF, Charalampopoulos D. 2011. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. International Journal of Food Microbiology, 149: 185–193.

Donkor ON, Henriksson A, Vasiljevic T, Shah NP. 2007. Rheological Properties and Sensory Characteristics of Set-Type Soy Yogurt. Agricultural and Food Chemistry, 55: 9868–9876.

Ferragut V, Cruz NS, Trujillo A, Guamis B, Capellas M. 2009. Physical characteristics during storage of soy yogurt made from ultra-high pressure homogenized soymilk. Journal of Food Engineering, 92: 63–69.

Fiszman S M, Lluch M A, Salvador A. 1999. Efect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. International Dairy Journal, 9: 895-901.

Gänzle MG, Follador R. 2012. Metabolism of oligosaccharides and starch in *lactobacilli*: A review. Frontiers in Microbiology, 3: 1–15.

Gao Y, Shang C, Saghai Maroof MA, Biyashev RM, Grabau EA, Kwanyuen P,Burton JW, Buss GR. 2007. A modified colorimetric method for phytic acid analysis in soybean. Crop Science, 47(5): 1797–1803.

Genevois CE, Flores SK, de Escalada Pla MF. 2016. Byproduct from pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex poiret) as a substrate and vegetable matrix to contain *Lactobacillus casei*. Journal of Functional Foods, 23: 210–219.

Granato D, Bigaski Ribeiro JC, Castro IA, Masson ML. 2010. Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. Food Chemistry, 121: 899–906.

Guggisberg D, Cuthbert-Steven J, Piccinali P, Bütikofer U, Eberhard P. 2009. Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. International Dairy Journal, 19: 107–115.

Guggisberg D, Piccinali P, Schreier K. 2011. Effects of sugar substitution with Stevia, Actilight and Stevia combinations or Palatinose on rheological and sensory characteristics of low-fat and whole milk set yoghurt. International Dairy Journal, 21: 636–644.

# VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

Içier F, Günduz GT, Yilmaz B, Memeli Z. 2015. Changes on some quality characteristics of fermented soy milk beverage with added apple juice. LWT - Food Science and Technology, 63: 57–64.

Kim SL, Lee JE, Kwon YU, Kim WH, Jung GH, Kim DW, Lee CK, Kim MJ, Hwang TY, Chung IM. 2013. Introduction and nutritional evaluation of germinated soy germ. Food Chemistry, 136: 491–500.

Kristo E, Biliaderis CG, Tzanetakis N. 2003. Modelling of the acidification process and rheological properties of milk fermented with a yogurt starter culture using response surface methodology. Food Chemistry, 83: 437–446.

Lai LR, Hsieh SC, Huang HY, Chou CC. 2013. Effect of lactic fermentation on the total phenolic, saponin and phytic acid contents as well as anti-colon cancer cell proliferation activity of soymilk. Journal of Bioscience and Bioengineering, 115: 552–556.

Lawless HT, Heymann H. 2010. Sensory evaluation of food. Principles and practices (2<sup>nd</sup> Edition). NewYork, USA: Springer Science Business Media, LLC.

LeBlanc JG, Silvestroni A, Connes C, Juillard V, Savoy de Giori G, Piard JC. 2004. Reduction of non-digestible oligosaccharides in soymilk: application of engineered lactic acid bacteria that produce  $\alpha$ -galactosidase. Genetics and Molecular Research, 3: 432–440.

Martins EMF, Ramos AM, Vanzela ESL, Stringheta PC, de Oliveira Pinto CL, Martins JM. 2013. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. Food Research International, 51: 764–770.

Saad N, Delattre C, Urdaci M, Schmitter JM, Bressollier P. 2013. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. LWT - Food Science and Technology, 50: 1–16.

Tang AL, Wilcox G, Walker KZ, Shah NP, Ashton JF, Stojanovska L. 2010. Phytase activity from *Lactobacillus* spp. in calcium-fortified soymilk. Journal of Food Science, 75: 373–376.

Wang J, Guo Z, Zhang Q, Yan L, Chen W, Liu X, Zhang H. 2009. Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage. Journal of Dairy Science, 92: 2468–2476.

Wang Y, Yu R, Yang H, Chou C. 2003. Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. Food Microbiology, 20: 333–338.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecimientos por el soporte financiero brindado a UBACYT GEF 2014-2017(20020130200237); ArgenINTA 2015 (Fundación ArgenINTA) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).



# VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

Análisis de superficie de respuesta: efecto de las condiciones de preparación sobre las propiedades de textura de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y monoglicéridos saturados

Giacomozi, A.<sup>1</sup>, Carrín, M.E.<sup>1</sup>, Palla, C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI, UNS-CONICET), Departamento de Ingeniería Química (DIQ) - Universidad Nacional del Sur (UNS) - Camino La Carrindanga Km 7 – Bahía Blanca – Argentina. Dirección de e-mail: <a href="mailto:agiacomozzi@plapiqui.edu.ar">agiacomozzi@plapiqui.edu.ar</a>

#### **RESUMEN**

En el presente trabajo se formularon oleogeles a partir de aceite de girasol alto oleico (GAO) y una mezcla de monoglicéridos saturados (Myverol) con el fin de estudiar y modelar la influencia de las diferentes condiciones de preparación sobre las propiedades de textura, teniendo como objetivo el desarrollo de un producto similar a una margarina comercial. Se evaluó el efecto de la concentración de Myverol (MV), la temperatura de preparación (T<sub>p</sub>), la velocidad de agitación (V<sub>a</sub>) y la temperatura de enfriamiento (T<sub>e</sub>) sobre las variables de respuesta, aplicando un diseño factorial incompleto de cuatro factores con tres niveles (Box-Behnken). Las respuestas seleccionadas fueron las siguientes propiedades de textura: dureza (DU), cohesividad (CO), fracturabilidad (FR) y adhesividad (AD). Estas se midieron a partir de la curva Análisis de Perfil de Textura (TPA). Los resultados obtenidos mostraron que la concentración de Myverol y la temperatura de enfriamiento fueron los factores más significativos sobre cada respuesta analizada. Al comparar las propiedades de textura de los oleogeles formulados con aquellas correspondientes a una margarina comercial, pudo notarse que algunos oleogeles mostraron similar valor de dureza. Sin embargo, los valores obtenidos de adhesividad y cohesividad se hallaron por debajo de los niveles de la margarina.

**Palabras Clave:** oleogeles, monoglicéridos saturados, propiedades de textura, metodología de superficie de respuesta, sustituto de margarina.

# **ABSTRACT**

Oleogels produced from high oleic sunflower oil and a mixture of saturated monoglycerides (Myverol) were formulated in order to study and model the influence of different processing conditions, over textural properties with the aim to develop a material similar to commercial margarine. The effect of the MV concentration, the preparation temperature, the speed of agitation, and the cooling temperature on selected response variables was studied by applying an incomplete factorial design of four factors with three levels (Box-Behnken). The selected responses were the textural parameters such as hardness, cohesiveness, fracturability and adhesiveness. These properties of oleogels were measured with Texture Profile Analysis (TPA) test. The obtained results showed that the Myv concentration and the cooling temperature were the most significant factors over each response variable analyzed. When comparing textural properties of formulated oleogels with ones of a commercial margarine, it was possible to achieve a similar hardness value, whereas the adhesiveness and cohesiveness values were not totally reached.

**Keywords:** oleogels, saturated monoglycerides, textural properties, response surface methodology, margarine substitute.

# INTRODUCCIÓN

En los últimos años han quedado bien documentados los efectos negativos para la salud asociados al consumo de grasas *trans* y grasas saturadas formadas por ácidos grasos de longitud de cadena menor a 18 carbonos. En consecuencia, a nivel mundial se están tomando medidas para reducir el uso de las mismas en la elaboración de productos alimenticios, exigiendo a la industria alimentaria la búsqueda de alternativas tecnológicas que permitan obtener productos con características físicas y organolépticas similares a las de las grasas que se quieren reemplazar, pero que resulten saludables. Los oleogeles se encuentran entre algunas de las alternativas más prometedoras para la sustitución de estos tipos de grasas. Un oleogel puede definirse como un aceite atrapado en una red de gel tridimensional y termorreversible. Esta red se forma por el autoensamblaje de moléculas (agentes estructurantes) que son añadidas en baja concentración al aceite

(Hughes et al. 2009). Estos agentes estructurantes pueden ser ácidos grasos, alcoholes grasos, ceras, monoglicéridos, proteínas, lecitinas, fitoesteroles y demás compuestos que tengan esta capacidad (Co y Marangoni 2012). En particular, los monoglicéridos saturados resultan especialmente apropiados debido a su excelente capacidad de autoensamblarse en dominios hidrofílicos e hidrofóbicos. Al ser introducidos en aceites, estas moléculas son capaces de autoensamblarse en bicapas inversas que conducen a la formación de una red continua que impide que el aceite fluya (Calligaris et al. 2013).

La estructura de un oleogel se ve afectada no sólo por la naturaleza del aceite y del agente estructurante, sino también por las condiciones térmicas y mecánicas establecidas durante su procesamiento (Ojijo et al. 2004, Da Pieve et al. 2010, Co y Marangoni 2012, Rocha-Amador et al. 2014, López-Martínez et al. 2014). En varios estudios se han analizado los principios que rigen la formación de la estructura del oleogel, relacionando las características microestructurales con el comportamiento térmico y reológico (Ojijo et al. 2004, Da Pieve et al. 2010, Co y Marangoni 2012, Rocha-Amador et al. 2014). Sin embargo, existe poca información sobre la relación entre las características mecánicas de los oleogeles y sus condiciones de procesamiento. En un trabajo previo se analizó la habilidad de una mezcla comercial de monoglicéridos saturados (Myverol) para estructurar aceites vegetales con distinta composición (maíz, soja, girasol y girasol alto oleico) (Giacomozzi et al. 2015). Los resultados obtenidos demostraron que los oleogeles formulados con aceite de girasol alto oleico requieren la menor concentración de agente estructurante para alcanzar la gelificación, además de presentar a concentraciones más altas, una alta capacidad de retención de aceite y un gran potencial para lograr propiedades de textura similares a una margarina comercial. Por otro lado, se evidenció que las condiciones de preparación afectan a las características mecánicas de los oleogeles obtenidos.

En el presente trabajo, se formularon oleogeles a partir de aceite de girasol alto oleico y Myverol con el objetivo de evaluar los efectos de las condiciones de preparación en sus propiedades de textura, a fin de definir las condiciones que permiten obtener un material con características similares a la margarina.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizó aceite de girasol alto oleico, cuya composición (obtenida mediante cromatografía gas-líquido, GLC) fue: ácidos grasos saturados 6,58%, ácidos grasos monoinsaturados 85,25% y ácidos grasos poliinsaturados 7,71%. Como agente estructurante se usó Myverol (Kerry, México) de composición (obtenida mediante GLC): monoglicéridos de ácido esteárico y palmítico 89,35% y 3,86%, respectivamente, ácidos grasos saturados 3,22%, glicerol 2,13% y diglicéridos 1,45%; punto de fusión (obtenido mediante calorimetría diferencial de barrido) = 59,1 ± 0,1°C. Para comparar los resultados obtenidos se utilizó una margarina light comercial (Manty, Molinos Río de la Plata S.A., Argentina) producida por interestificación de aceites vegetales (composición suministrada por el proveedor: grasas totales 40%, grasas saturadas 13%). Se evaluó la influencia de las condiciones de preparación de los oleogeles en las propiedades de textura. Para ello, se utilizó un diseño de experimentos Box-Behnken (factorial incompleto) de tres niveles con cuatro factores y seis puntos centrales. Los parámetros (factores) seleccionados, de acuerdo a estudios previos, fueron: concentración de Myverol (MV), temperatura de preparación (T<sub>p</sub>), velocidad de agitación (V<sub>a</sub>) y temperatura de enfriamiento (T<sub>e</sub>). Los rangos de trabajo elegidos fueron: MV (6-14% p/p), T<sub>p</sub> (70-90 °C), V<sub>a</sub> (200-1000 rpm) y T<sub>e</sub> (5-30 °C). Las variables de respuesta consideradas fueron: fracturabilidad (FR), dureza (DU), adhesividad (AD) y cohesividad (CO). El diseño de experimentos y el análisis de sus correspondientes resultados se realizaron mediante el software Design Expert 7.0. Los distintos experimentos se llevaron a cabo en un orden aleatorio. Los factores y niveles se muestran en la Tabla 1.



**Tabla 1.** Matriz de experimentos utilizada en el Diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myverol.

| Na | Factores Experimentales <sup>b</sup> |                     |                      |                     |  |
|----|--------------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|--|
|    | MV (%p/p)                            | T <sub>P</sub> (°C) | V <sub>a</sub> (rpm) | T <sub>e</sub> (°C) |  |
| 1  | 10                                   | 90                  | 200                  | 17,5                |  |
| 2  | 10                                   | 80                  | 600                  | 17,5                |  |
| 3  | 6                                    | 90                  | 600                  | 17,5                |  |
| 4  | 10                                   | 70                  | 1000                 | 17,5                |  |
| 5  | 10                                   | 80                  | 600                  | 17,5                |  |
| 6  | 14                                   | 80                  | 1000                 | 17,5                |  |
| 7  | 10                                   | 80                  | 1000                 | 30,0                |  |
| 8  | 10                                   | 90                  | 600                  | 5,0                 |  |
| 9  | 10                                   | 70                  | 600                  | 5,0                 |  |
| 10 | 6                                    | 80                  | 600                  | 5,0                 |  |
| 11 | 10                                   | 70                  | 200                  | 17,5                |  |
| 12 | 10                                   | 80                  | 600                  | 17,5                |  |
| 13 | 14                                   | 80                  | 200                  | 17,5                |  |
| 14 | 10                                   | 70                  | 600                  | 30,0                |  |
| 15 | 6                                    | 80                  | 1000                 | 17,5                |  |
| 16 | 10                                   | 90                  | 1000                 | 17,5                |  |
| 17 | 14                                   | 80                  | 600                  | 5,0                 |  |
| 18 | 10                                   | 90                  | 600                  | 30,0                |  |
| 19 | 10                                   | 80                  | 200                  | 5,0                 |  |
| 20 | 10                                   | 80                  | 600                  | 17,5                |  |
| 21 | 14                                   | 70                  | 600                  | 17,5                |  |
| 22 | 10                                   | 80                  | 600                  | 17,5                |  |
| 23 | 6                                    | 80                  | 600                  | 30,0                |  |
| 24 | 14                                   | 80                  | 600                  | 30,0                |  |
| 25 | 6                                    | 80                  | 200                  | 17,5                |  |
| 26 | 14                                   | 90                  | 600                  | 17,5                |  |
| 27 | 10                                   | 80                  | 600                  | 17,5                |  |
| 28 | 10                                   | 80                  | 1000                 | 5,0                 |  |
| 29 | 10                                   | 80                  | 200                  | 30,0                |  |
| 30 | 6                                    | 70                  | 600                  | 17,5                |  |

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>Número de experimento.

Respecto a los modelos de ajuste de las variables de respuesta, la Ecuación 1 representa el modelo de regresión cuadrática utilizado.

$$\hat{y} = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i x_i^2 + \sum_{i=1}^4 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 \beta_{ij} x_i x_j \ (1)$$

Donde  $\hat{y}$  es la variable de respuesta,  $\beta_0$  el término independiente,  $\beta_i$  el coeficiente correspondiente al efecto lineal del factor  $x_i$ ,  $\beta_{ij}$  el coeficiente de interacción entre los factores i y j, y  $x_i$  y  $x_j$  representan a cada uno de los factores considerados.

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup>MV: concentración de Myverol; T<sub>p</sub>: temperatura de preparación; V<sub>a</sub>: velocidad de agitación; T<sub>e</sub>: temperatura de enfriamiento.

La calidad de los modelos de ajuste se evaluó mediante el análisis de la varianza (ANOVA). Los términos de cada modelo se evaluaron teniendo en cuenta el valor p, considerando estadísticamente significativos aquellos que presentaron p<0,05. En algunos casos, los términos no significativos fueron mantenidos en la ecuación debido a que su presencia mejoró la calidad del ajuste.

# Preparación de los Oleogeles

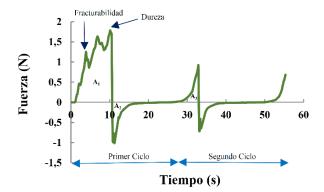
Se disolvió la cantidad correspondiente de Myverol en GAO mediante calentamiento a la temperatura de preparación seleccionada, en un recipiente de vidrio acoplado con un baño termostático y agitación magnética. La velocidad de agitación se cuantificó utilizando un tacómetro digital láser.

## Análisis de Propiedades de Textura

Las propiedades de textura de los oleogeles se estudiaron mediante el Análisis de Perfil de Textura (TPA) llevado a cabo en un Analizador de Textura TA Plus (Lloyd, Inglaterra). Las mezclas fundidas se colocaron en moldes cilíndricos (altura 33 mm, diámetro 33 mm), permitiendo que gelificaran a la temperatura de enfriamiento correspondiente en cada caso (bajo condiciones estáticas) y posteriormente se almacenaron en heladera a 5°C durante 24 horas. Los análisis de textura se llevaron a cabo luego de mantener las muestras a 20°C durante 1 hora.

El ensayo TPA consistió en dos ciclos de penetración de la sonda cilíndrica (12.5 mm diámetro, 56 mm longitud) en la muestra. En cada ciclo, la muestra se penetró hasta una profundidad de 10 mm a una velocidad de 1 mm/s y, a continuación, la sonda regresó a la posición inicial a la misma velocidad. Se obtuvieron cuatro mediciones independientes para cada experimento. Por otro lado, el análisis TPA también se realizó sobre la margarina light comercial en las mismas condiciones, utilizando su envase original. La prueba se repitió cuatro veces para cada contenedor y se evaluaron tres recipientes diferentes.

Las curvas obtenidas mediante los ensayos TPA se usaron para calcular los parámetros mecánicos de los oleogeles. La **Figura 1** muestra una curva típica Fuerza vs. Tiempo.



**Figura 1.** Curva del Análisis de Perfil de Textura y sus parámetros característicos, para un oleogel de aceite de girasol alto oleico y Myverol, formulado en el punto central del diseño de experimentos.

La altura del pico máximo de fuerza en el primer ciclo representa la dureza de la muestra. La fracturabilidad corresponde a la fuerza máxima antes de la primera ruptura significativa que experimenta el material. La relación entre el área positiva del segundo ciclo y el área positiva del primer ciclo (A<sub>3</sub>/A<sub>1</sub>) define la cohesividad, mientras que el área negativa correspondiente al primer ciclo (A<sub>2</sub>) representa el trabajo necesario para vencer las fuerzas de atracción entre la muestra y la superficie de la sonda y se denomina adhesividad (Bourne 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Tabla 2** se muestran los valores promedio de las variables de respuesta obtenidos para cada experimento junto con los valores correspondientes predichos por cada modelo.



**Tabla 2.** Variables de respuesta obtenidas en el Diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myverol.

| Na | Variables de Respuesta <sup>b</sup> |                       |              |                     |
|----|-------------------------------------|-----------------------|--------------|---------------------|
|    | DU (N)c                             | AD (N.s) <sup>c</sup> | COc          | FR (N) <sup>c</sup> |
| 1  | 1,73 (1,58)                         | 2,28 (2,20)           | 0,16 (0,17)  | 0,54 (0,54)         |
| 2  | 1,88 (1,84)                         | 2,05 (2,03)           | 0,14 (0,14)  | 1,28 (1,28)         |
| 3  | 0,71 (0,86)                         | 1,42 (1,43)           | 0,38 (0,39)  | 0,42 (0,39)         |
| 4  | 1,65 (1,60)                         | 2,18 (2,10)           | 0,17 (0,16)  | 0,67 (0,72)         |
| 5  | 1,82 (1,84)                         | 2,12 (2,03)           | 0,14 (0,14)  | 1,30 (1,28)         |
| 6  | 2,90 (2,85)                         | 2,35 (2,36)           | 0,11 (0,11)  | 1,78 (1,74)         |
| 7  | 1,19 (1,18)                         | 2,02 (2,06)           | 0,23 (0,23)  | 0,75 (0,75)         |
| 8  | 1,35 (1,15)                         | 1,36 (1,36)           | 0,12 (0,11)  | 0,62 (0,60)         |
| 9  | 1,03 (1,12)                         | 1,35 (1,35)           | 0,13 (0,12)  | 0,69 (0,64)         |
| 10 | 0,40 (0,14)                         | 0,84 (0,93)           | 0,33 (0,33)  | 0,36 (0,39)         |
| 11 | 2,30 (2,05)                         | 1,92 (1,75)           | 0,14 (0,14)  | 0,62 (0,59)         |
| 12 | 1,88 (1,84)                         | 2,12 (2,03)           | 0,14 (0,14)  | 1,27 (1,28)         |
| 13 | 2,66 (2,80)                         | 2,53 (2,71)           | 0,11 (0,11)  | 1,40 (1,47)         |
| 14 | 1,02 (1,14)                         | 2,02 (2,20)           | 0,25 (0,25)  | 0,71 (0,72)         |
| 15 | 0,68 (0,87)                         | 1,40 (1,41)           | 0,36 (0,36)  | 0,48 (0,40)         |
| 16 | 2,07 (2,12)                         | 1,66 (1,67)           | 0,11 (0,11)  | 0,69 (0,67)         |
| 17 | 1,86 (2,13)                         | 1,80 (1,78)           | 0,11 (0,11)  | 1,62 (1,59)         |
| 18 | 0,98 (1,17)                         | 2,27 (2,21)           | 0,24 (0,24)  | 0,64 (0,68)         |
| 19 | 1,15 (1,11)                         | 1,38 (1,30)           | 0,12 (0,13)  | 0,54 (0,54)         |
| 20 | 2,01 (1,84)                         | 2,05 (2,03)           | 0,14 (0,14)  | 1,25 (1,28)         |
| 21 | 2,78 (2,81)                         | 2,54 (2,63)           | 0,13 (0,13)  | 1,60 (1,64)         |
| 22 | 1,79 (1,84)                         | 1,94 (2,03)           | 0,14 (0,14)  | 1,25 (1,28)         |
| 23 | 0,49 (0,16)                         | 1,44 (1,42)           | 0,50 (0,50)  | 0,38 (0,47)         |
| 24 | 2,26 (2,15)                         | 3,13 (2,99)           | 0,19 (0,19)  | 1,76 (1,67)         |
| 25 | 0,41 (0,82)                         | 1,07 (1,24)           | 0,40 (0,39)  | 0,39 (0,41)         |
| 26 | 2,94 (2,84)                         | 2,54 (2,64)           | 0,08 (0,077) | 1,54 (1,59)         |
| 27 | 2,04 (1,84)                         | 2,12 (2,03)           | 0,14 (0,14)  | 1,32 (1,28)         |
| 28 | 1,03 (1,16)                         | 1,20 (1,21)           | 0,12 (0,12)  | 0,60 (0,67)         |
| 29 | 0,98 (1,13)                         | 2,15 (2,15)           | 0,27 (0,26)  | 0,69 (0,62)         |
| 30 | 0,80 (0,83)                         | 1,48 (1,42)           | 0,35 (0,36)  | 0,45 (0,43)         |

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>Número de experimento.

Los valores de DU obtenidos se encontraron entre 0,40 y 2,95 N. Teniendo en cuenta que la margarina comercial analizada mostró un valor promedio de 1,60 N, es posible pensar en el desarrollo de un material con una DU similar en las condiciones bajo estudio.

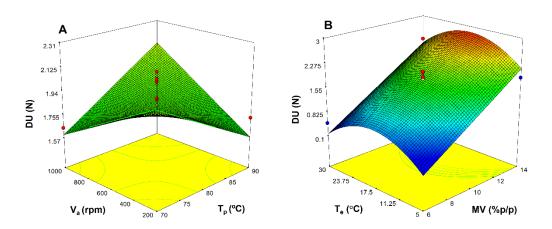
El modelo obtenido para describir la relación entre DU de los oleogeles y los factores experimentales fue cuadrático en  $T_e$ . De acuerdo al análisis estadístico, el término lineal correspondiente a MV junto con el cuadrático de  $T_e$  resultaron ser los factores más significativos (p<0,0001). Los demás términos no fueron significativos, excepto la interacción  $T_p$ - $V_a$  (p=0,0152). El efecto de  $T_p$ ,  $V_a$  y su interacción en DU se muestra en la **Figura 2.A**. Como puede observarse, en los valores más bajos de  $T_p$ , DU disminuye con el aumento de  $V_a$ , mientras que en valores de  $T_p$  más altos, DU se incrementa al aumentar  $V_a$ . El valor de DU máximo se

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup>Valor experimental promedio de 4 réplicas (valor predicho por el modelo correspondiente).

<sup>&</sup>lt;sup>c</sup>DU: dureza; FR: fracturabilidad; CO: cohesividad; AD: adhesividad.

obtuvo al seleccionar los valores más altos de  $T_p$  y  $V_a$ . Si bien la formulación de los oleogeles se llevó a cabo a temperaturas de preparación por encima de la temperatura de fusión del Myverol, esperando de esta manera que las estructuras cristalinas se destruyan por completo, los resultados obtenidos muestran que aún en estas condiciones existirían efectos energéticos significativos. Se estima que la preparación de oleogeles a alta velocidad de agitación y a alta temperatura pudo causar la exposición de nuevos sitios para unión de hidrógenos que participen en la estabilización de la red mediante una distribución diferente del agente estructurante y el aceite después del enfriamiento. Por otro lado, a baja agitación y temperatura de preparación, pareciera tener lugar un fenómeno diferente, contrarrestando al energético, por lo que el nivel de DU no es tan bajo como se esperaría. Asimismo, este resultado podría indicar que las condiciones de agitación afectarían la alineación molecular. Resultados similares han sido reportados previamente por Rocha-Amador et al. (2014).

Por otro lado, el efecto MV en DU de los oleogeles se muestra en la **Figura 2.B** se evidenció un incremento lineal en DU al aumentar la concentración del agente estructurante, dentro del rango estudiado. Además, se observó que, para todas las concentraciones de Myverol analizadas, DU se incrementa con el aumento de T<sub>e</sub> hasta 17,5°C, pero disminuye gradualmente por encima de este valor, demostrando que existe un perfil óptimo de enfriamiento. Esto concuerda con los resultados obtenidos previamente por Ojijo et al. (2004) en sistemas similares.



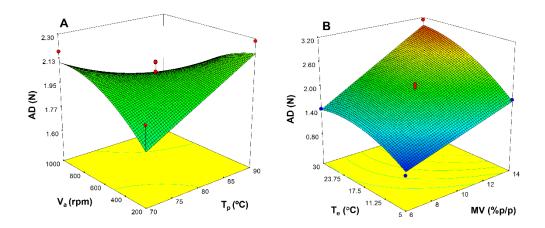
**Figura 2.** Superficies de respuesta correspondientes a la dureza (DU) de los oleogeles. Efecto de (**A**) la velocidad de agitación (V<sub>a</sub>) y la temperatura de preparación (T<sub>p</sub>) (concentración de Myverol (MV) y temperatura de enfriamiento (T<sub>e</sub>) fijas en el punto central); (**B**) T<sub>e</sub> y MV (V<sub>a</sub> y T<sub>p</sub> fijas en el punto central).

Los valores del parámetro mecánico AD obtenidos para los oleogeles formulados se encontraron entre 0,84 y 3,13 N.s, resultando más bajos que el correspondiente a la margarina comercial (5,37±0,29 N.s).

Los factores que resultaron ser más significativos (p<0,0001) fueron la concentración de Myverol y  $T_e$  en sus términos lineal y cuadrático, respectivamente. Otros términos significativos fueron  $V_a^2$  (p=0,0206) y las interacciones MV-V<sub>a</sub> (p=0,0293), MV-T<sub>e</sub> (p=0,0031) y  $T_p$ -V<sub>a</sub> (p=0,0007), mientras que  $T_p$  no fue significativa (p>0,05).

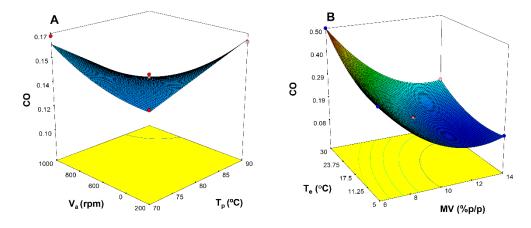
En la Figura 4 se muestra el efecto de los factores experimentales en AD. El valor más alto de AD, en valor absoluto, fue obtenido combinando una baja  $T_p$  con un nivel alto de  $V_a$ , y viceversa (Figura 3.A.). Por lo tanto, estos factores mostraron un efecto similar tanto en AD como en CO. Además, la interacción de los factores más significativos (**Figura 3.B**.) mostró que incrementando tanto MV como  $T_e$ , AD aumenta alcanzando un valor máximo. Resultados similares han sido reportados previamente en oleogeles de monoglicéridos saturados y aceite de oliva (Ögütcü y Yilmaz 2014).

Además, se encontró que T<sub>e</sub> representa un factor particularmente importante en AD, ya que un enfriamiento más lento (alta T<sub>e</sub>) pareciera originar fuerzas atractivas mayores entre la superficie del oleogel y la superficie del instrumento de medición.



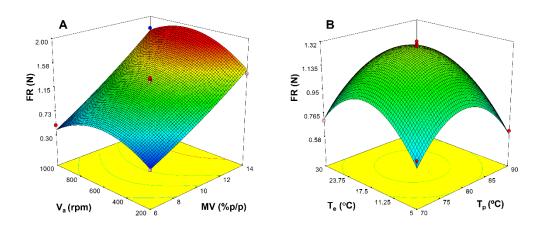
**Figura 3.** Superficies de respuesta correspondientes a la Adhesividad (AD). Efecto de (**A**) la velocidad de agitación (V<sub>a</sub>) y la temperatura de preparación (T<sub>p</sub>) (concentración de Myverol (MV) y temperatura de enfriamiento (T<sub>e</sub>) fijas en el punto central); (**B**) T<sub>e</sub> y MV (V<sub>a</sub> y T<sub>p</sub> fijas en el punto central).

Los valores de CO obtenidos para los oleogeles formulados se encontraron entre 0,079 y 0,50, resultando más bajos que el correspondiente a la margarina comercial (0,58±0,04) seleccionada para la comparación. El efecto de los factores experimentales en esta propiedad de los oleogeles se muestra en las Figuras 4.A. y **4.B.** De acuerdo al modelo obtenido, CO presentó dependencia cuadrática respecto de los factores MV, V<sub>a</sub> y T<sub>e</sub>. Además, todos los términos resultaron altamente significativos (p< 0,0001), excepto MV-V<sub>a</sub>, V<sub>a</sub>-T<sub>e</sub> y V<sub>a</sub><sup>2</sup>. Este parámetro mecánico es una medida de la fuerza de los enlaces internos del material que constituyen el cuerpo del mismo. Como se muestra en la Figura 3.A., el efecto de T<sub>p</sub> y V<sub>a</sub> en CO es totalmente opuesto al observado sobre DU. Esto se puede explicar teniendo en cuenta que los valores de DU más altos se asociaron con valores mayores de trabajo de compresión en el primer ciclo (A<sub>1</sub>), mientras que los valores de trabajo de compresión en el segundo ciclo (A<sub>3</sub>) no variaron en gran medida como resultado de las diferentes condiciones impuestas, siendo los rangos de A<sub>1</sub> y A<sub>3</sub>: 2,48-21,05 N.s y 0,82-2,27 N.s, respectivamente. Como consecuencia, la CO (A<sub>3</sub>/A<sub>1</sub>) tiende a disminuir a medida que aumenta la DU (proporcional a A<sub>1</sub>). Un comportamiento similar fue obtenido al analizar el efecto de MV, el valor de CO decreció con el incremento en la concentración de Myverol. Respecto al efecto de Te, a niveles bajos de MV su influencia fue más notable, incrementándose la CO al aumentar los valores de este factor (Figura 4.B). En base a los resultados obtenidos podría pensarse que los oleogeles más firmes inicialmente presentan estructuras más fuertes, pero una vez que éstas son comprimidas, se produce una deformación mayor no recuperable. Es interesante observar que el parámetro A<sub>3</sub> proporciona información sobre las estructuras intactas después del primer ciclo de penetración y por lo tanto sobre la presencia de enlaces más persistentes.



**Figura 4.** Superficies de respuesta correspondientes a la cohesividad (CO). Efecto de (**A**) la velocidad de agitación (V<sub>a</sub>) y la temperatura de preparación (T<sub>p</sub>) (concentración de Myverol (MV) y temperatura de enfriamiento (T<sub>e</sub>) fijas en el punto central); (**B**) T<sub>e</sub> y MV (V<sub>a</sub> y T<sub>p</sub> fijas en el punto central).

Los valores de FR obtenidos para los oleogeles formulados se encontraron entre 0,36 y 1,76 N, mientras que la margarina comercial analizada no mostró el pico correspondiente a este parámetro mecánico. Los efectos de los factores experimentales en FR de los oleogeles se muestran en la **Figura 5**.



**Figura 5.** Superficies de respuesta correspondientes a la Fracturabilidad (FR). Efecto de (**A**) la velocidad de agitación (V<sub>a</sub>) y concentración de Myverol (MV) (temperatura de preparación (T<sub>p</sub>) y temperatura de enfriamiento (T<sub>e</sub>) fijas en el punto central); (**B**) T<sub>e</sub> y T<sub>p</sub> (V<sub>a</sub> y MV fijas en el punto central).

De acuerdo al modelo obtenido para la respuesta analizada, el término lineal correspondiente a MV junto con los términos cuadráticos  $T_p^2$ ,  $V_a^2$  y  $T_e^2$ , resultaron ser los factores de mayor influencia (p<0,0001). Otros términos significativos fueron:  $V_a$  (p=0,0004),  $T_e$  (p=0,0174),  $MV^2$  (p=0,0182) y la interacción MV- $V_a$  (p=0,0146).

Todos los oleogeles formulados mostraron fragilidad, al presentar fractura cuando se sometieron a una determinada fuerza de penetración.

De manera similar al resultado encontrado para DU, FR mostró un aumento lineal con el incremento en MV (**Figura 5.A.**). Esto significa que, al aumentar la concentración de agente estructurante, los oleogeles se vuelven más consistentes, pero al mismo tiempo más quebradizos. Por otro lado, se observó que para todas las concentraciones de Myverol analizadas, FR se incrementó al aumentar  $V_a$  hasta 650 rpm, disminuyendo a partir de este valor.

Respecto al efecto de la temperatura en FR (**Figura 5.B.**), al incrementarse  $T_p$  hasta 80°C el valor de esta respuesta aumentó, pero luego disminuyó gradualmente con el incremento de este factor. Con la variación en  $T_e$  presentó un comportamiento similar, observándose un máximo en esta respuesta a 17,5°C.

Cabe mencionar que, por lo general, un producto que exhibe FR se caracteriza por presentar alto grado de DU y bajo nivel de CO (Bourne 2002), lo cual está de acuerdo con los resultados encontrados en esas propiedades previamente analizadas.

# **CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la concentración de agente estructurante y la temperatura de enfriamiento son los parámetros de preparación que mayor influencia presentan sobre las propiedades de textura de los oleogeles. Sin embargo, tanto la velocidad de agitación como la temperatura de preparación mostraron efectos importantes sobre algunas de las propiedades mecánicas, por lo cual su efecto no debería despreciarse.

Al incrementarse la concentración de Myverol, se observó un aumento en el valor absoluto de todas las propiedades mecánicas, a excepción de la cohesividad. Respecto de la temperatura de enfriamiento, las propiedades de textura mostraron en general los valores más bajos al seleccionarse el menor valor lo cual se asocia a una mayor velocidad de enfriamiento.

En cuanto a la evaluación del potencial de los oleogeles como sustitutos de la margarina, se observó que es posible obtener un valor de dureza muy similar al del producto comercial seleccionado, mientras que los valores de adhesividad y cohesividad resultan ser más bajos.

# VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

Los resultados encontrados en este estudio junto con los obtenidos en un estudio paralelo, donde se analizó el efecto de las condiciones de preparación sobre la reología de los oleogeles, serán usados para llevar a cabo una optimización multirespuesta a fin de obtener las condiciones de preparación adecuadas para lograr oleogeles con propiedades tanto de textura como reológicas similares a las de una margarina comercial.

# **BIBLIOGRAFÍA**

Bourne MC. 2002. Food texture and viscosity: Concept and measurement. 2<sup>a</sup> ed. San Diego: Academic Press.

Calligaris S, Manzocco L, Valoppi F, Nicoli MC. 2013. Effect of palm oil replacement with monoglyceride organogel and hydrogel on sweet bread properties. Food Research International, 51, 2, 596–602.

Co ED, Marangoni AG. 2012. Organogels: An alternative edible oil-structuring method. Journal of the American Oil Chemists' Society, 89:749-780.

Da Pieve S, Calligaris S, Co ED, Nicoli MC, Marangoni AG. 2010. Shear nanostructuring of monoglyceride organogels. Food Biophysics, 5, 211-217.

Giacomozzi A, Carrín ME, Palla C. 2015. Effect of the preparation conditions on the rheological and textural properties of monoglyceride oleogels. Proceedings of the World Congress on Oils and Fats. Rosario - Santa Fe. ISBN: 978-987-22799-2-9.

Hughes NE, Marangoni AG, Wright AJ, Rogers MA, Rush JWE. 2009. Potential food applications of edible oil organogels. Trends in Food Science & Technology, 20: 470-480.

López-Martínez A, Morales-Rueda JA, Dibildox-Alvarado E, Charó-Alonso MA, Marangoni AG, Toro-Vazquez JF. 2014. Comparing the crystallization and rheological behavior of organogels developed by pure and commercial monoglycerides in vegetable oil. Food Research International, 64, 946-957.

Ojijo NKO, Neeman I, Eger S, Shimoni E. 2004. Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1585-1593.

Rocha-Amador OG, Gallegos-Infante JA, Huang Q, Rocha-Guzman NE, Moreno-Jimenez MR, Gonzalez-Laredo RF. 2014. Influence of commercial saturated monoglyceride, mono-/diglycerides mixtures, vegetable oil, stirring speed, and temperature on the physical properties of organogels. International Journal of Food Science, 2014, 513641.

#### **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, PIP 2013-20120100243, PIP 2015-1122015-0100156-CO), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT, PICT 2014-3481) y la Universidad Nacional del Sur (UNS, PGI 24/M132) de Argentina.



VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

Análisis de superficies de respuesta: efecto de las condiciones de preparación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico-monoglicéridos saturados en las propiedades reológicas y la capacidad de retención de aceite

Giacomozi, A.<sup>1</sup>, Genovese, D.<sup>1</sup>, Carrín, M.E.<sup>1</sup>, Palla, C<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI, UNS-CONICET), Departamento de Ingeniería Química (DIQ) - Universidad Nacional del Sur (UNS) - Camino La Carrindanga Km 7 – Bahía Blanca – Argentina. Dirección de e-mail: agiacomozzi@plapiqui.edu.ar

#### **RESUMEN**

Se formularon oleogeles a partir de aceite de girasol alto oleico (GAO) y una mezcla de monoglicéridos saturados (Myverol) con el fin de estudiar y modelar la influencia de las diferentes condiciones de preparación sobre las propiedades reológicas y la capacidad de retención de aceite (OBC, por sus siglas en inglés) teniendo como objetivo el desarrollo de un producto similar a una margarina comercial. Se evaluó el efecto de la concentración de Myverol (MV), la temperatura de preparación ( $T_p$ ), la velocidad de agitación ( $V_a$ ) y la temperatura de enfriamiento ( $T_e$ ) sobre las variables de respuesta mediante la aplicación de un diseño factorial incompleto de cuatro factores con tres niveles (Box-Behnken). Las respuestas seleccionadas fueron OBC (determinada por centrifugación), el módulo elástico (G') y la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) (medidos a partir de ensayos dinámicos oscilatorios). Los resultados obtenidos mostraron que MV y  $T_e$  fueron los factores más significativos sobre cada respuesta analizada. Todos los oleogeles formulados presentaron alta OBC. Al incrementar MV, G' mostró un aumento significativo. Las condiciones de preparación que generaron oleogeles con el mayor G' también lograron los más altos valores de  $\eta^*$ . Algunos de los oleogeles obtenidos mostraron propiedades reológicas similares a las de la margarina analizada.

**Palabras Clave:** oleogeles, monoglicéridos saturados, propiedades reológicas, capacidad de retención de aceite, metodología de superficie de respuesta.

# **ABSTRACT**

Oleogels produced from high oleic sunflower oil and a mixture of saturated monoglycerides (Myverol) were formulated in order to evaluate the effect of the preparation conditions on their rheological properties and the oil binding capacity (OBC). Likewise, it was tried to obtain a material similar to margarine. With the aim to evaluate the influence of the concentration of MV, the preparation temperature, the speed of agitation, and the cooling temperature on OBC and the most representative rheological parameters, an incomplete factorial design of four factors with three levels (Box-Behnken) was applied. Rheological measurements were carried out by dynamic oscillatory test on oleogel cylindrical samples and OBC was determined by centrifugation. The obtained results show that the MV concentration and the cooling temperature were the most significant factors over each response variable analyzed. All the prepared oleogels showed high OBC values (ranged from 87.28% to 99.84%), indicating the formation of strong gel networks. With regard to the rheological properties, as the Myverol concentration increased, the elastic modulus (G') showed a significant increase. Under the preparation conditions used in this study, it was possible to obtain some products with values of log G' and  $\eta^*$  close to margarine ones.

**Keywords:** oleogels, saturated monoglycerides, rheological properties, oil binding capacity, response surface methodology.

# INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años existen en muchos países numerosas regulaciones destinadas a reducir el contenido de ácidos grasos *trans* y eliminar las grasas saturadas de los alimentos, debido a los efectos negativos sobre la salud asociados a su consumo. En consecuencia, la industria alimentaria se vio obligada a buscar alternativas tecnológicas que permitan obtener productos saludables manteniendo la funcionalidad y las características físicas correspondientes a las grasas que se desean reemplazar. Es por esta razón que la estructuración de aceites se ha convertido en un área activa de investigación en los últimos años. Sin

embargo, el reemplazo de este tipo de grasas puede conducir a cambios significativos en la calidad de los productos alimenticios. Las estrategias más recientes incluyen la formulación de oleogeles. Un oleogel puede definirse como un aceite atrapado en una red de gel tridimensional y termorreversible. Esta red se forma por el autoensamblaje de moléculas (agentes estructurantes) que son añadidas en baja concentración al aceite (Hughes et al. 2009). Estos agentes estructurantes pueden ser ácidos grasos, alcoholes grasos, ceras, monoglicéridos, proteínas, lecitinas, fitoesteroles y demás compuestos que tengan esta capacidad (Co y Marangoni 2012). En particular, los monoglicéridos saturados resultan especialmente apropiados debido a su excelente capacidad de autoensamblarse en dominios hidrofílicos e hidrofóbicos. Al ser introducidos en aceites, estas moléculas son capaces de autoensamblarse en bicapas inversas que conducen a la formación de una red continua que impide que el aceite fluya (Calligaris et al. 2013).

Es importante destacar que además de la naturaleza del agente estructurante y del aceite, las condiciones térmicas y mecánicas establecidas durante su procesamiento también juegan un rol fundamental en la estructura de un oleogel (Ojijo et al. 2004, Da Pieve et al. 2010, Co y Marangoni 2012, Rocha-Amador et al. 2014, López-Martínez et al. 2014). Varios autores han estudiado los principios que gobiernan la formación estructural de un oleogel, intentando relacionar las características micro y nanoestructurales con el comportamiento térmico y reológico (Garti y Satō 2001, Ojijo et al. 2004, Kesselman et al. 2007, Da Pieve et al. 2010). Sin embargo, existe poca información acerca de la relación entre las condiciones de procesamiento de los oleogeles durante su formación y sus propiedades mecánicas finales.

En un trabajo previo se estudió la capacidad del Myverol para estructurar aceites vegetales de diferente composición en ácidos grasos (maíz, soja, girasol y girasol alto oleico) (Giacomozzi et al. 2015). Para ello se determinó la concentración mínima de Myverol necesaria para alcanzar la gelificación, resultando los oleogeles formulados con GAO los que requirieron menor MV (2% p/p vs. 3% p/p para el resto de los aceites vegetales). Además, al incrementar la MV, los oleogeles de GAO presentaron la más alta capacidad de retención de aceite y el mayor potencial para lograr propiedades reológicas y de textura similares a una margarina comercial. Por otra parte, y en concordancia con otros estudios (Ojijo et al. 2004, Da Pieve et al. 2010, Rocha-Amador et al. 2014), se encontró que las condiciones de preparación de los oleogeles tienen gran influencia sobre sus características estructurales.

En el presente trabajo se formularon oleogeles a partir de GAO y Myverol con el objetivo de analizar la influencia de las condiciones específicas de preparación sobre su capacidad de retención de aceite y sus principales parámetros reológicos, de forma tal de establecer las condiciones que permiten obtener un material con características reológicas similares a la margarina. Como aspectos innovadores de este trabajo pueden destacarse el uso de modelos empíricos que permiten describir el comportamiento reológico del material en todo el rango de frecuencias analizado, y el uso de modelos de regresión que tienen en cuenta la influencia de las posibles interacciones entre las variables de preparación sobre las respuestas analizadas. Estas interacciones no han sido consideradas en estudios similares realizados por otros autores.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizó aceite de girasol alto oleico, cuya composición (obtenida mediante cromatografía gas-líquido, GLC) fue: ácidos grasos saturados 6,58%, ácidos grasos monoinsaturados 85,25% y ácidos grasos poliinsaturados 7,71%. Como agente estructurante se usó Myverol (Kerry, México) de composición (obtenida mediante GLC): monoglicéridos de ácido esteárico y palmítico 89,35% y 3,86%, respectivamente, ácidos grasos saturados 3,22%, glicerol 2,13% y diglicéridos 1,45%; punto de fusión (obtenido mediante calorimetría diferencial de barrido) = 59,1 ± 0,1°C. Para comparar los resultados obtenidos se utilizó una margarina light comercial (Manty, Molinos Río de la Plata S.A., Argentina) producida por interestificación de aceites vegetales (composición suministrada por el proveedor: grasas totales 40%, grasas saturadas 13%). Con el fin de evaluar la influencia de las condiciones de preparación de los oleogeles sobre las variables de respuestas seleccionadas, se utilizó un diseño de experimentos Box-Behnken (factorial incompleto) de tres niveles con cuatro factores y seis puntos centrales. Los parámetros (factores) elegidos, de acuerdo a estudios previos, fueron: concentración de Myverol (MV), temperatura de preparación (T<sub>p</sub>), velocidad de agitación (V<sub>a</sub>) y temperatura de enfriamiento (T<sub>e</sub>). Los rangos de trabajo elegidos fueron: MV (6-14% p/p), T<sub>p</sub> (70-90 °C), V<sub>a</sub> (200-1000 rpm) y T<sub>e</sub> (5-30°C). Las variables de respuesta consideradas fueron: la capacidad de retención de aceite, y parámetros reológicos tales como módulo elástico (G') y viscosidad compleja ( $\eta^*$ ). El diseño de experimentos y el análisis de sus resultados correspondientes se realizaron mediante el software Design Expert 7.0. Los distintos experimentos se llevaron a cabo en un orden aleatorio. Los factores y niveles se muestran en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Matriz de experimentos utilizada en el Diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myverol.

| N <sup>a</sup> | Factores Experimentales <sup>b</sup> |            |                      |            |  |
|----------------|--------------------------------------|------------|----------------------|------------|--|
| N"             | -                                    |            |                      |            |  |
|                | MV (% p/p)                           | $T_P$ (°C) | V <sub>a</sub> (rpm) | $T_e$ (°C) |  |
| 1              | 10                                   | 90         | 200                  | 17,5       |  |
| 2              | 10                                   | 80         | 600                  | 17,5       |  |
| 3              | 6                                    | 90         | 600                  | 17,5       |  |
| 4              | 10                                   | 70         | 1000                 | 17,5       |  |
| 5              | 10                                   | 80         | 600                  | 17,5       |  |
| 6              | 14                                   | 80         | 1000                 | 17,5       |  |
| 7              | 10                                   | 80         | 1000                 | 30,0       |  |
| 8              | 10                                   | 90         | 600                  | 5,0        |  |
| 9              | 10                                   | 70         | 600                  | 5,0        |  |
| 10             | 6                                    | 80         | 600                  | 5,0        |  |
| 11             | 10                                   | 70         | 200                  | 17,5       |  |
| 12             | 10                                   | 80         | 600                  | 17,5       |  |
| 13             | 14                                   | 80         | 200                  | 17,5       |  |
| 14             | 10                                   | 70         | 600                  | 30,0       |  |
| 15             | 6                                    | 80         | 1000                 | 17,5       |  |
| 16             | 10                                   | 90         | 1000                 | 17,5       |  |
| 17             | 14                                   | 80         | 600                  | 5,0        |  |
| 18             | 10                                   | 90         | 600                  | 30,0       |  |
| 19             | 10                                   | 80         | 200                  | 5,0        |  |
| 20             | 10                                   | 80         | 600                  | 17,5       |  |
| 21             | 14                                   | 70         | 600                  | 17,5       |  |
| 22             | 10                                   | 80         | 600                  | 17,5       |  |
| 23             | 6                                    | 80         | 600                  | 30,0       |  |
| 24             | 14                                   | 80         | 600                  | 30,0       |  |
| 25             | 6                                    | 80         | 200                  | 17,5       |  |
| 26             | 14                                   | 90         | 600                  | 17,5       |  |
| 27             | 10                                   | 80         | 600                  | 17,5       |  |
| 28             | 10                                   | 80         | 1000                 | 5,0        |  |
| 29             | 10                                   | 80         | 200                  | 30,0       |  |
| 30             | 6                                    | 70         | 600                  | 17,5       |  |

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>Número de experimento.

Respecto a los modelos de ajuste de las variables de respuesta, la Ecuación 1 representa el modelo de regresión cuadrática utilizado.

$$\hat{y} = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i x_i^2 + \sum_{i=1}^4 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 \beta_{ij} x_i x_j \ (1)$$

Donde  $\hat{y}$  es la variable de respuesta,  $\beta_0$  el término independiente,  $\beta_i$  el coeficiente correspondiente al efecto lineal del factor  $x_i$ ,  $\beta_{ij}$  el coeficiente de interacción entre los factores i y j, y  $x_i$  y  $x_j$  representan a cada uno de los factores considerados.

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup>MV: concentración de Myverol; T<sub>p</sub>: temperatura de preparación; V<sub>a</sub>: velocidad de agitación; T<sub>e</sub>: temperatura de enfriamiento.

La calidad de los modelos de ajuste se evaluó mediante el análisis de la varianza (ANOVA). Los términos de cada modelo se evaluaron teniendo en cuenta el valor p, considerando estadísticamente significativos aquellos que presentaron p<0,05. Cabe mencionar que en algunos casos los términos no significativos se mantuvieron en la ecuación debido a que su presencia mejoró la calidad del ajuste.

# Preparación de los Oleogeles

Se disolvió la cantidad correspondiente de Myverol en GAO mediante calentamiento a la temperatura de preparación seleccionada, en un recipiente de vidrio acoplado con un baño termostático y agitación magnética. La velocidad de agitación se cuantificó utilizando un tacómetro digital láser.

## Capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de aceite se determinó mediante el método sugerido por Yilmaz y Ögütcü (2014). Los oleogeles, previamente gelificados en eppendorfs a la temperatura de enfriamiento correspondiente en cada caso, se centrifugaron a 10000 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente usando una microcentrífuga (Giumelli z-127-D, Argentina). Se realizaron 3 réplicas para cada muestra. OBC se expresó en función del porcentaje de aceite liberado por la muestra luego de la centrifugación.

# Determinación de las propiedades viscoelásticas de los oleogeles

Los ensayos reológicos se llevaron a cabo en un reómetro Paar Physica (modelo MCR 301, Anton Paar GmbH, Austria), el cual contiene un sistema de control de temperatura Peltier y un sistema de adquisición de datos computarizado (Rheoplus/32 V3.40). Se utilizó la geometría de platos paralelos (diámetro 50 mm). Las muestras fundidas se colocaron en moldes cilíndricos (diámetro 60 mm), permitiendo la gelificación a la temperatura de enfriamiento correspondiente en cada caso (bajo condiciones estáticas). Posteriormente se almacenaron en heladera a 5°C durante 24 horas. Para su análisis, los discos de oleogeles obtenidos se colocaron sobre el plato del reómetro y se llevaron a cabo ensayos oscilatorios de barrido de frecuencia (10-100 rad/s) a 20°C (deformación 0,5%). Con el fin de evitar el deslizamiento de las muestras, se colocó papel de lija (grado 360, Norton) en las superficies inferior y superior de la geometría utilizada. La separación entre platos (gap) se fijó de manera de producir una fuerza normal de 10 N. Para cada experimento se realizaron 3 réplicas. Además, para asegurar que todos los ensayos se lleven a cabo dentro de la región viscoelástica lineal, se realizaron ensayos de barrido de deformación (0,01-100%) a una frecuencia angular de 10 rad/s. Las propiedades reológicas de la margarina comercial se determinaron tomando muestras del producto en forma de discos desde el envase original

## Modelado de los parámetros reológicos

Las curvas experimentales obtenidas se ajustaron usando ecuaciones apropiadas en cada caso:  $\eta^*$ se ajustó mediante una ecuación de tipo ley de la potencia, la cual puede expresarse en forma lineal como:

$$\log \eta^* = \log \eta_0^* + m_{n^*} \log \omega$$
 (2)

Donde  $\eta^* = [(G'^2 + G''^2)^{0.5}]/\omega$ , G'' es el módulo viscoso,  $\omega$ es la frecuencia angular,  $\log \eta_0^*$  y  $m_{\eta^*}$  son constantes determinadas experimentalmente.

En cuanto a G', el mejor ajuste de este parámetro se logró a partir de una correlación empírica:

$$\log G' = \log G_0' + m_{G'} \log \omega^n (3)$$

Donde  $\log G_0$ ',  $m_{G'}$  y n son constantes determinadas de manera experimental.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Tabla 2** se muestran los valores promedio de las variables de respuesta obtenidos para cada experimento junto con los valores correspondientes predichos por cada modelo.

**Tabla 2.** Variables de respuesta obtenidas en el Diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myverol.

| Na                        | Variables de Respuesta <sup>b</sup> |  |                                     |                 |  |   |
|---------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------|-----------------|--|---|
|                           | OBC (%) <sup>c</sup>                | log G <sub>0</sub> ' (Pa) <sup>c</sup> | m <sub>G'</sub> (Pa.s) <sup>c</sup> | n <sup>c</sup>  | log η <sub>0</sub> * (Pa.s) <sup>c</sup> | $m_{\eta^*}$ ( Pa.s <sup>2</sup> ) <sup>c</sup> |
| 1                         | 97,77 (98,51)                       | 4,84 (4,82)                            | 0,11 (0,11)                         | 0,44 (0,45)     | 4,94 (4,95)                              | -0,95 (-0,96)                                   |
| 2                         | 97,99 (97,33)                       | 4,96 (4,94)                            | 0,11 (0,11)                         | 0,44 (0,45)     | 5,04 (5,01)                              | -0,95 (-0,96)                                   |
| 3                         | 92,10 (92,11)                       | 4,39 (4,34)                            | 0,11 (0,10)                         | 0,45 (0,44)     | 4,53 (4,47)                              | -0,97 (-0,97)                                   |
| 4                         | 99,86 (99,29)                       | 4,88 (4,90)                            | 0,13 (0,13)                         | 0,32 (0,32)     | 4,99 (5,00)                              | -0,96 (-0,95)                                   |
| 5                         | 97,10 (97,33)                       | 4,91 (4,94)                            | 0,10 (0,11)                         | 0,47 (0,45)     | 4,99 (5,01)                              | -0,96 (-0,96)                                   |
| 6                         | 98,94 (99,43)                       | 5,01 (5,00)                            | 0,17 (0,17)                         | 0,35 (0,31)     | 5,24 (5,27)                              | -0,95 (-0,94)                                   |
| 7                         | 94,43 (94,02)                       | 4,53 (4,51)                            | 0,09 (0,09)                         | 0,62 (0,58)     | 4,46 (4,47)                              | -0,94 (-0,94)                                   |
| 8                         | 96,49 (96,37)                       | 4,84 (4,86)                            | 0,13 (0,13)                         | 0,58 (0,55)     | 4,93 (4,89)                              | -0,93 (-0,93)                                   |
| 9                         | 96,76 (97,18)                       | 4,78 (4,74)                            | 0,14 (0,13)                         | 0,39 (0,39)     | 4,89 (4,88)                              | -0,95 (-0,95)                                   |
| 10                        | 90,44 (90,96)                       | 4,32 (4,35)                            | 0,09 (0,09)                         | 0,55 (0,58)     | 4,40 (4,45)                              | -0,96 (-0,95)                                   |
| 11                        | 99,84 (99,32)                       | 4,97 (4,95)                            | 0,12 (0,12)                         | 0,40 (0,38)     | 5,04 (5,00)                              | -0,95 (-0,96)                                   |
| 12                        | 97,26 (97,33)                       | 4,96 (4,94)                            | 0,10 (0,11)                         | 0,43 (0,45)     | 5,05 (5,01)                              | -0,96 (-0,96)                                   |
| 13                        | 98,37 (98,22)                       | 5,07 (5,09)                            | 0,10 (0,11)                         | 0,37 (0,37)     | 5,18 (5,21)                              | -0,96 (-0,96)                                   |
| 14                        | 93,51 (93,87)                       | 4,64 (4,65)                            | 0,11 (0,11)                         | 0,60 (0,61)     | 4,43 (4,47)                              | -0,93 (-0,92)                                   |
| 15                        | 92,37 (92,44)                       | 4,48 (4,49)                            | 0,08 (0,07)                         | 0,38 (0,40)     | 4,58 (4,56)                              | -0,97 (-0,98)                                   |
| 16                        | 98,54 (98,48)                       | 4,90 (4,91)                            | 0,12 (0,12)                         | 0,36 (0,39)     | 5,01 (5,07)                              | -0,96 (-0,95)                                   |
| 17                        | 97,50 (96,70)                       | 4,93 (4,94)                            | 0,16 (0,16)                         | 0,40 (0,36)     | 5,04 (5,07)                              | -0,93 (-0,93)                                   |
| 18                        | 93,89 (93,06)                       | 4,36 (4,42)                            | 0,11 (0,11)                         | 0,60 (0,58)     | 4,42 (4,48)                              | -0,94 (-0,93)                                   |
| 19                        | 97,86 (97,36)                       | 4,74 (4,75)                            | 0,12 (0,10)                         | 0,50 (0,52)     | 4,84 (4,82)                              | -0,96 (-0,95)                                   |
| 20                        | 97,12 (97,33)                       | 4,95 (4,94)                            | 0,11 (0,11)                         | 0,47 (0,45)     | 5,04 (5,01)                              | -0,95 (-0,96)                                   |
| 21                        | 97,97 (98,67)                       | 5,00 (5,03)                            | 0,16 (0,15)                         | 0,23 (0,29)     | 5,15 (5,17)                              | -0,94 (-0,95)                                   |
| 22                        | 97,28 (97,33)                       | 4,92 (4,94)                            | 0,10 (0,11)                         | 0,47 (0,45)     | 5,00 (5,01)                              | -0,95 (-0,96)                                   |
| 23                        | 87,28 (87,65)                       | 4,07 (4,05)                            | 0,11 (0,10)                         | 0,52 (0,57)     | 4,00 (3,95)                              | -0,94 (-0,94)                                   |
| 24                        | 93,90 (93,40)                       | 4,74 (4,71)                            | 0,11 (0,11)                         | 0,64 (0,62)     | 4,81 (4,74)                              | -0,93 (-0,92)                                   |
| 25                        | 94,29 (93,71)                       | 4,32 (4,35)                            | 0,09 (0,11)                         | 0,49 (0,45)     | 4,41 (4,50)                              | -0,96 (-0,97)                                   |
| 26                        | 97,59 (97,86)                       | 5,12 (5,10)                            | 0,16 (0,15)                         | 0,33 (0,36)     | 5,34 (5,31)                              | -0,93 (-0,93)                                   |
| 27                        | 97,22 (97,33)                       | 4,94 (4,94)                            | 0,10 (0,11)                         | 0,45 (0,45)     | 5,02 (5,01)                              | -0,95 (-0,96)                                   |
| 28                        | 96,84 (97,33)                       | 4,83 (4,82)                            | 0,14 (0,13)                         | 0,44 (0,46)     | 4,96 (4,95)                              | -0,94 (-0,95)                                   |
| 29                        | 93,03 (94,05)                       | 4,54 (4,53)                            | 0,10 (0,10)                         | 0,61 (0,64)     | 4,46 (4,47)                              | -0,93 (-0,94)                                   |
| 30                        | 93,30 (92,92)                       | 4,53 (4,53)                            | 0,09 (0,11)                         | 0,43 (0,38)     | 4,60 (4,59)                              | -0,96 (-0,96)                                   |
| $\mathbf{M}^{\mathrm{d}}$ | -                                   | $4,54 \pm 0,01$                        | $0.06 \pm 5.10^{-3}$                | $0,65 \pm 0,03$ | $4,53 \pm 0,02$                          | $-0.94 \pm 4.10^{-3}$                           |

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>Número de experimento.

Todos los oleogeles preparados presentaron altos valores de OBC (87,24% - 99,84%), confirmando la capacidad de estos materiales de formar una red fuerte capaz de evitar la migración de aceite, la cual es considerada un efecto indeseable ya que conduce a defectos de calidad (Co y Marangoni 2012). Un oleogel

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup>Valor experimental promedio de 3 réplicas (valor predicho por el modelo correspondiente).

clog  $G_0$ ',  $m_G$ ' and n: parámetros correspondientes al modelo del módulo elástico (G'); log  $\eta_0^*$  y  $m_{\eta^*}$ : parámetros correspondientes al modelo de la viscosidad compleja  $(\eta^*)$ .

<sup>&</sup>lt;sup>d</sup>Margarina comercial.

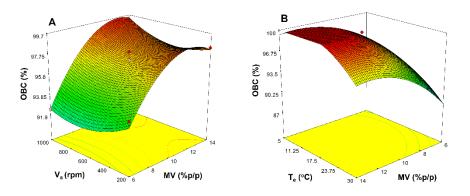
que presente bajo valor de OBC podría liberar fácilmente el aceite dentro de la matriz alimentaria, alterando de manera negativa las propiedades sensoriales del producto (Blake y Marangoni 2015).

El efecto de los factores experimentales en OBC se muestra en la Figura 1.

El modelo de ajuste obtenido para esta respuesta presentó dependencia cuadrática con todos los factores, siendo los más significativos (p<0,0001) los correspondientes a los términos lineal y cuadrático de MV y  $T_e$ , respectivamente, Otros factores significativos fueron:  $T_P$  (p=0,0278),  $T_P^2$  (p=0,0379),  $V_a^2$  (p=0,0001) y la interacción MV- $V_a$  (p=0,0481). El término lineal correspondiente a  $V_a$  no resultó ser significativo (p>0,1).

La Figura 1.A. muestra el efecto de MV, V<sub>a</sub> y la interacción entre estos dos factores sobre OBC. Se encontró que la capacidad de retención de aceite aumentó con el incremento en MV hasta un cierto punto (~11% p/p), en el cual OBC alcanzó su máximo valor. Incrementos en la concentración de Myverol por encima de este punto mantuvieron el valor de OBC cerca del máximo alcanzado. A altas MV, el incremento en V<sub>a</sub> resulta en un aumento notable de OBC. Probablemente, a partir de este punto, las condiciones de agitación influyen sobre la energía de las interacciones moleculares y por ende en el alineamiento molecular (Rocha-Amador et al. 2014).

Respecto a  $T_p$ , el valor más alto de OBC se obtuvo usando la temperatura más baja. La menor OBC resultó al emplear  $T_e$  mayores a 19°C. Esto indica que un gradiente menor de temperatura ( $T_p$ - $T_e$ ), el cual originó un perfil con velocidades de enfriamiento más bajas, produjo una estructura con baja capacidad de retención de aceite. Esto pudo deberse a la formación de una red con mayor desorden estructural o a la formación de cristales de diferentes tamaños o formas.

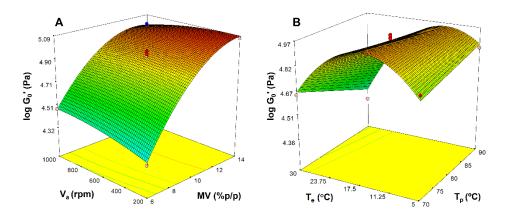


**Figura 1.** Superficies de respuesta correspondientes a la capacidad de retención de aceite (OBC). Efecto de **(A)** la velocidad de agitación (V<sub>a</sub>) y concentración de Myverol (MV) (temperatura de preparación (T<sub>p</sub>) y temperatura de enfriamiento (T<sub>e</sub>) fijas en el punto central); **(B)** T<sub>e</sub> y MV (V<sub>a</sub> y T<sub>p</sub> fijas en 1000 rpm y 70 °C, respectivamente).

Los resultados obtenidos en los ensayos de barrido de frecuencia mostraron que todos los oleogeles formulados presentaron un comportamiento de tipo gel (G' > G") debido a la presencia de una red cristalina, lo cual coincide con lo observado previamente por Da Pieve et al. (2010) en su estudio de oleogeles de monoglicéridos y aceite de oliva.

Los puntos experimentales correspondientes al parámetro G' se transformaron matemáticamente usando la función logarítmica y se ajustaron adecuadamente mediante la Ecuación (3). Los parámetros del ajuste de este modelo (log  $G_0$ ',  $m_{G'}$  y n) obtenidos para cada condición de preparación del oleogel, se muestran en la **Tabla 2**. El parámetro log  $G_0$ ' representa el valor de log G' a una  $\omega$  de 1 rad/s;  $m_{G'}$  indica la velocidad con la cual se modifica G' con  $\omega$ , y el parámetro n determina la curvatura en el gráfico log G' vs, log  $\omega$  (n>1: cóncava, n<1: convexa y n=1: lineal). Los modelos matemáticos capaces de describir los parámetros G' y  $\eta^*$  en el rango de frecuencia estudiado representaron herramientas útiles para desarrollar un material con propiedades viscoelásticas similares a la margarina comercial. Como puede verse en la **Tabla 2**, los rangos obtenidos para los parámetros del modelo correspondiente a la Ecuación (3) fueron: 4,07 – 5,12 Pa para log  $G_0$ ', 0,078 – 0,17 Pa.s para  $m_{G'}$ , y 0,32 – 0,64 para n. Teniendo en cuenta que la margarina comercial analizada mostró un valor promedio de log  $G_0$ ' de 4,54 Pa, es posible pensar en el desarrollo de un material que presente un valor similar de este parámetro bajo las condiciones ensayadas en este estudio. Por otro lado, el valor de  $m_{G'}$ obtenido para la margarina fue de 0,06 Pa,s, menor que los valores correspondientes a todos los oleogeles formulados, mientras que el valor de n fue de 0,65.

Respecto a los modelos obtenidos mediante Design Expert, en lo que se refiere al parámetro log  $G_0$ ', los términos cuadrático y lineal de MV y  $T_e$  mostraron los efectos más significativos (p<0,0001). Otros términos significativos fueron:  $T_p$  (p=0,0114),  $V_a^2$  (p=0,0378) y las interacciones MV- $T_p$  (p=0,0015), MV- $V_a$  (p=0,0056),  $T_p$ - $V_a$  (p=0,0047) y  $T_p$ - $T_e$  (p=0,0001). La **Figura 2.A.** muestra que los valores más altos de log  $G_0$ ' fueron obtenidos usando la mayor MV. Dado que este parámetro reológico está asociado a la magnitud de G', se encontró que, al incrementar la concentración de agente estructurante, el carácter elástico de los oleogeles formulados aumenta linealmente. Además, se evidenció que  $V_a$  no tuvo un efecto importante en esta respuesta. Respecto a la **Figura 2.B.**, los valores más altos de log  $G_0$ ' se obtuvieron usando una  $T_e$  de 17,5 °C para las mezclas preparadas a 70°C y entre 11,5 y 17,5 °C para las mezclas preparadas a 90°C.



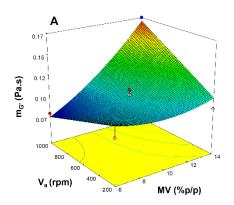
**Figura 2.** Superficies de respuesta correspondientes a log  $G_0$ '. Efecto de (**A**) la velocidad de agitación ( $V_a$ ) y la concentración de Myverol (MV) (temperatura de preparación ( $T_p$ ) y temperatura de enfriamiento ( $T_e$ ) fijas en el punto central); (**B**)  $T_e$  y  $T_p - (V_a$  y MV fijas en el punto central).

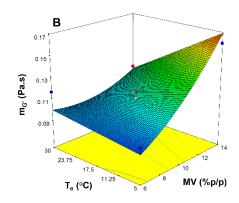
En cuanto al parámetro  $m_{G'}$ , todos los valores obtenidos fueron positivos, indicando que G' aumenta con  $\varpi$  en todos los oleogeles formulados (**Figura 3**). En cuanto a la magnitud de  $m_{G'}$ , todos los materiales presentaron valores pequeños, indicando así que los geles presentan una baja dependencia con  $\varpi$  y por lo tanto, una estructura elástica fuerte (Patel et al. 2014). MV resultó ser el factor con mayor influencia en esta respuesta (p<0,0001). Otros factores significativos fueron:  $V_a$  (p=0,0296),  $T_e$  (p=0,0007),  $MV^2$  (p=0,0325),  $T_p^2$  (p=0,0007) y las interacciones  $MV-V_a$  (p=0,0001),  $MV-T_e$  (p=0,0033). El valor más alto de este parámetro se obtuvo con la combinación de la mayor MV y la más alta  $V_a$ .

Respecto del modelo obtenido para el parámetro n, los factores más significativos (p<0,0001) fueron los térmicos lineal y cuadrático correspondientes a  $T_e$ . Otros términos significativos fueron: MV (p=0,0005),  $T_p$  (p=0,0040),  $V_a$  (p=0,0094),  $MV^2$  (p=0,0038),  $T_p^2$  (p=0,0042) y las interacciones MV- $T_e$  (p=0,0010) y  $T_p$ - $T_e$  (p=0,0105).

La viscosidad compleja de un oleogel es una medida de la resistencia que presenta el material frente a los esfuerzos de corte. De esta manera, un material con alta  $\eta^*$  se caracteriza por su alta resistencia al flujo. Para obtener un modelo adecuado de este parámetro, los datos experimentales fueron transformados matemáticamente usando la función logarítmica y se ajustaron adecuadamente mediante la Ecuación (2), donde log  $\eta_0^*$  representa el valor de log  $\eta^*$  para  $\omega=1$  rad/s (este valor está directamente asociado con la magnitud  $\eta^*$ ), mientras que  $m_{\eta^*}$  corresponde a la pendiente de la curva log  $\eta^*$  vs, log  $\omega$  (indica la velocidad de cambio de  $\eta^*$  con  $\omega$ ).



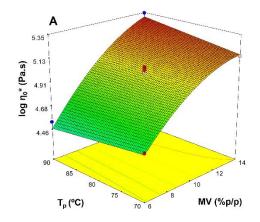


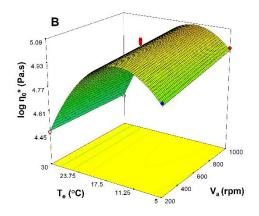


**Figura 3.** Superficies de respuesta correspondientes a  $m_{G'}$ . Efecto de (**A**) la velocidad de agitación ( $V_a$ ) y la concentración de Myverol (MV) (temperatura de preparación ( $T_p$ ) y temperatura de enfriamiento ( $T_e$ ) fijas en el punto central); (**B**)  $T_e$  y MV – ( $V_a$  y  $T_p$  fijas en el punto central).

Los oleogeles formulados mostraron valores de log  $\eta_0^*$  en un rango comprendido entre 4,00 y 5,34 Pa,s, mientras que los valores obtenidos para que  $m_{\eta^*}$  se ubicaron entre -0,93 y -0,97 Pa.s². Dado que los valores de log  $\eta_0^*$  y  $m_{\eta^*}$  obtenidos para la margarina comercial analizada fueron de 4,53 y -0,96, respectivamente, se puede afirmar que es posible desarrollar oleogeles de GAO y Myverol que presenten valores de  $\eta^*$  similares a este producto.

El efecto de las condiciones de preparación en los parámetros de ajuste de log  $\eta_0^*$  se muestra en la **Figura 4**.





**Figura 4.** Superficie de respuesta correspondiente a log  $\eta_0^*$ . Efecto de (**A**) la temperatura de preparación ( $T_p$ ) y la concentración de Myverol (MV) (velocidad de agitación ( $V_a$ ) y temperatura de enfriamiento ( $T_e$ ) fijas en el punto central); (**B**)  $T_e$  y  $V_a - (V_a$  y MV fijas en el punto central).

Respecto del modelo obtenido, se encontró que los factores que mayor influencia ejercieron sobre este parámetro fueron MV y  $T_e$ , en sus términos lineal y cuadrático, respectivamente. Otros factores significativos fueron:  $V_a$  (p=0,0454) y la interacción MV- $T_p$  (p=0,0157). Como puede observarse en la Figura 4.A., el valor más alto de log  $\eta_0^*$  fue obtenido para los oleogeles formulados con la más alta MV e incrementando  $T_p$ . Respecto a la Figura 4.B., para todo el rango de  $V_a$ , el valor mayor de log  $\eta_0^*$  encontrado fue al usarse una  $T_e$  entre 11 y 17,5°C. Este resultado es análogo al hallado para el parámetro log  $G_0$ . De este modo, las condiciones de preparación que generaron oleogeles con el mayor valor de  $G_0$ , lo cual indica mayor elasticidad, también produjeron materiales con el valor más alto de  $\eta^*$ , es decir, oleogeles más resistentes a la deformación.

Por otro lado, el modelo obtenido para  $m_{\eta^*}$  indica que los factores que mayor efecto presentan (p<0,0001) sobre este parámetro fueron, al igual que en el caso anterior, MV y  $T_e$ . Otros factores significativos fueron:  $T_e$  (p=0,0041),  $T_p^2$  (p=0,0263),  $V_a^2$  (p=0,0219), y las interacciones MV- $T_p$  (p=0,0462), MV- $V_a$  (p=0,0262) y  $T_p$ - $T_e$  (p=0,0216). El valor más bajo de  $m_{\eta^*}$ , asociado a cambios menores en  $\eta^*$ , se obtuvo usando los niveles más bajos de MV y  $V_a$ .

# VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

## **CONCLUSIONES**

Los parámetros reológicos analizados en esta contribución mostraron una fuerte dependencia con las variables de preparación de los oleogeles, especialmente con la concentración de Myverol y la temperatura de enfriamiento. Las condiciones de preparación que generaron oleogeles con el valor más alto de G', es decir, materiales que presentaron la mayor elasticidad, también produjeron oleogeles con la mayor  $\eta^*$  encontrada (mayor resistencia a la deformación). Además, todas las formulaciones realizadas presentaron una alta capacidad de retención de aceite. Los oleogeles que presentaron la mayor capacidad de retención de aceite fueron obtenidos usando concentraciones de Myverol superiores a 11% y temperaturas de enfriamiento moderadas.

Se observó que es posible obtener oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myverol con propiedades reológicas similares a una margarina comercial, además de presentar alta retención de aceite. Estos resultados, junto con los obtenidos en un estudio paralelo, donde se analizó el efecto de las condiciones de preparación sobre la textura de los oleogeles, serán usados para llevar a cabo una optimización multirespuesta a fin de obtener las condiciones de preparación adecuadas para lograr oleogeles con propiedades tanto de textura como reológicas similares a las de una margarina comercial.

# BIBLIOGRAFÍA

Blake AI, Marangoni AG. 2015. The use of cooling rate to engineer the microstructure and oil binding capacity of wax crystal networks. Food Biophysics, 10, 456-465.

Calligaris S, Manzocco L, Valoppi F, Nicoli MC. 2013. Effect of palm oil replacement with monoglyceride organogel and hydrogel on sweet bread properties. Food Research International, 51, 2, 596–602.

Co ED, Marangoni AG. 2012. Organogels: An alternative edible oil-structuring method. Journal of the American Oil Chemists' Society, 89:749-780.

Da Pieve S, Calligaris S, Co ED, Nicoli MC, Marangoni AG. 2010. Shear nanostructuring of monoglyceride organogels. Food Biophysics, 5, 211-217.

Garti N, Satō K. 2001. Crystallization processes in fats and lipid systems. Marcel Dekker.

Giacomozzi A, Carrín ME, Palla C. 2015. Effect of the preparation conditions on the rheological and textural properties of monoglyceride oleogels. Proceedings of the World Congress on Oils and Fats. Rosario - Santa Fe. ISBN: 978-987-22799-2-9.

Hughes NE, Marangoni AG, Wright AJ, Rogers MA, Rush JWE. 2009. Potential food applications of edible oil organogels. Trends in Food Science & Technology, 20: 470-480.

Kesselman E, Shimoni E. 2007. Imaging of oil/monoglyceride networks by polarizing near-field scanning optical microscopy. Food Biophysics, 2, 117-123.

López-Martínez A, Morales-Rueda JA, Dibildox-Alvarado E, Charó-Alonso MA, Marangoni AG, Toro-Vazquez JF. 2014. Comparing the crystallization and rheological behavior of organogels developed by pure and commercial monoglycerides in vegetable oil. Food Research International, 64, 946-957.

Ojijo NKO, Neeman I, Eger S, Shimoni E. 2004. Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1585-1593.

Rocha-Amador OG, Gallegos-Infante JA, Huang Q, Rocha-Guzman NE, Moreno-Jimenez MR, Gonzalez-Laredo RF. 2014. Influence of commercial saturated monoglyceride, mono-/diglycerides mixtures, vegetable oil, stirring speed, and temperature on the physical properties of organogels. International Journal of Food Science, 2014, 513641.

Patel AR, Rajarethinem PS, Grędowska A, Turhan O, Lesaffer A, De Vos WH, Dewettinck K. 2014. Edible applications of shellac oleogels: spreads, chocolate paste and cakes. Food & function, 5(4), 645-652.

Yilmaz E, Ögütcü M. 2014. Properties and stability of hazelnut oil organogels with beeswax and monoglyceride. Journal of the American Oil Chemists' Society, 91, 1007-1017.

# **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, PIP 2013-20120100243, PIP 2015-1122015-0100156-CO), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT, PICT 2014-3481) y la Universidad Nacional del Sur (UNS, PGI 24/M132) de Argentina.

# Efecto del proceso de extrusado-prensado sobre la calidad del expeller de soja

Maciel, G. <sup>1</sup>, Accoroni, C. <sup>2</sup>, Mendez, J. M. <sup>2</sup>, Bartosik, R.E. <sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>CONICET, Ruta 226 km 73,5, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>AER INTA Totoras, Av. Maipú 1138, Totoras, Santa Fe, Argentina.

<sup>3</sup>EEA INTA Balcarce, Ruta 226 km 73,5, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Dirección de e-mail: maciel.gisele@inta.gob.ar

#### RESUMEN

El expeller es el principal subproducto que se obtiene del proceso de extrusado-prensado de soja. La calidad y composición de este producto puede ser muy variable incluso dentro de la misma planta de procesamiento, debido a la imposibilidad de controlar muchas etapas del proceso y a la variabilidad intrínseca de la materia prima. Dada la importancia de la industria de extrusado-prensado en la economía argentina, el objetivo del trabajo fue estudiar el impacto de condiciones del proceso en la calidad final del expeller. Se tomaron muestras de poroto y expeller de cinco plantas. Se calcularon los valores y rangos para cada parámetro de calidad. Se realizó una regresión lineal entre parámetros del proceso y parámetros de calidad tanto de la materia prima como del producto final. Se encontró que la composición final del expeller está altamente relacionada con las condiciones de procesamiento. El contenido de humedad de la materia prima y la temperatura de extrusión son las principales variables que afectan la composición del expeller. Un aumento en el contenido de humedad de los granos se asoció con un aumento en el contenido de aceite residual en el expeller, y por lo tanto con una pérdida de eficiencia del proceso de extracción.

Palabras clave: temperatura de extrusión, actividad ureásica, eficiencia de extracción, expeller de soja.

## **ABSTRACT**

Expeller is the by-product of soybean extrusion-expelling process. The quality and composition of expeller can be highly variable even within the same processing plant, mainly due to the impossibility of controlling many stages of the process and to the broad variability of the raw material. Given the high importance of the soybean extrusion-expelling industry in the argentine economy, the objective of this work was to study the impact of the process conditions in the final quality of the expeller. Samples of expeller and beans were collected from five extrusion-expelling plants. Means and ranges of each quality parameter were calculated. Lineal regression analysis between process parameters and quality parameters of both raw material and final product were performed. It was found that final composition of expeller is highly related to operating conditions during processing. Moisture content of raw material and extrusion temperature are the main variables that affect the expeller composition. An increase in moisture content of the beans was associated with an increase in the content of residual oil in expeller, and therefore with a loss of efficiency of the oil extraction process.

**Keywords:** extrusion temperature, urease activity, extraction efficiency, soybean expeller

# INTRODUCCIÓN

La soja representa, tanto en volúmenes de producción como en superficie cultivada, el principal cultivo del mundo. Históricamente, su desarrollo ha estado relacionado con la industria de extracción de aceite, siendo sus principales productos el aceite y las harinas. Las harinas son utilizadas principalmente en la formulación de alimentos balanceados y consumo humano a través de su transformación en concentrados, aislados y texturizados como ingredientes de alimentos más complejos. El aceite, en su mayoría, se destina para consumo humano o como materia prima de nuevos productos de uso industrial y, en la última década, una parte de su producción se destina para la elaboración de biocombustible.

El procesamiento de granos de soja para la obtención de aceite puede ser realizado mediante dos métodos de extracción: por solvente o por extrusado-prensado. En Argentina, la extracción de aceite por medio de solventes es aplicada por aceiteras de capacidad instalada superiores a las 500 toneladas/día de producción, mientras que las industrias Pymes que llevan a cabo esta actividad mediante procesos de extrusado-prensado

tienen una escala de 24 a 100 toneladas/ día. En el último caso, la inversión en equipamientos y los costos operativos de dicha tecnología son significativamente menores que la extracción tradicional por medio de solventes (Mendez et al. 2011).

El extrusado-prensado es una práctica recientemente adoptada por el sector agroindustrial para agregar valor al cultivo de soja en origen. A partir del año 2008 comenzaron a instalarse empresas PyMES a lo largo de la región pampeana que utilizaron este método físico para la extracción de aceite, obteniendo como principales productos el aceite crudo y el expeller de soja (Mendez et al. 2011, Bragachini et al. 2012, INTA PRECOP 2013).

El expeller de soja difiere de las harinas de soja en su composición, principalmente en su contenido de aceite residual. En la harina dicho porcentaje representa el 0,5 - 2%, mientras que en el expeller el contenido de aceite oscila entre 5 y 8%. El extrusado-prensado es menos eficiente que la extracción con solventes. En general, estos valores son muy variables, existen diferencias considerables entre plantas y en diferentes lotes de producción dentro de una misma planta (Gallardo 2008, Massigoge et al. 2013). Este producto es derivado de un procesamiento sencillo que se adapta a escalas productivas pequeñas y ha permitido un desarrollo en el interior productivo, dado que representa la principal fuente proteica de las formulaciones de alimento de las producciones avícolas, porcinas y vacunas. Es decir, que la proteína de soja es una demanda para el desarrollo de las cadenas de producción de proteínas de carne, leche y huevo.

El extrusado-prensado es un proceso flexible, por ende, cada una de las 400 plantas existentes en Argentina poseen diferentes criterios de control dependiendo del equipamiento que utilicen. Es por ello que la variabilidad encontrada en los parámetros de calidad del expeller de soja puede estar relacionada con la variabilidad que se observa en diferentes plantas de extrusado-prensado. Massigoge et al. (2013) realizaron un relevamiento en diferentes plantas ubicadas en la región Buenos Aires sur y encontraron que los procesos en dichas plantas se realizaron bajo condiciones distintas. Las mayores variaciones se vieron en la temperatura de extrusado (121 a 145°C) y en el contenido de humedad del grano (entre 7,5 y 13,5%).

Dada la importancia de la soja para nuestro país, el aporte de la industria de extrusado-prensado al desarrollo territorial a través de procesos de agregado de valor en origen y el desconocimiento de los efectos del proceso de extrusado sobre la calidad del expeller, se consideró apropiado realizar el presente trabajo cuyo objetivo fue analizar la incidencia del proceso de extrusado-prensado en la calidad del subproducto obtenido.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se estudiaron cinco plantas de extrusado-prensado de diferentes regiones productivas, localizadas en las provincias de Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires. Se realizó un relevamiento de las condiciones de procesos de cada una de las plantas mediante una encuesta y registro de parámetros de operación. Además, se tomaron pares de muestras representativas, durante tres días consecutivos, de poroto de soja antes del ingreso al extrusor y del expeller de soja obtenido como subproducto de la extracción física de aceite.

Dentro de la información relevada a partir de las encuestas, se obtuvieron los siguientes parámetros: temperatura de extrusado, contenido de humedad del poroto de soja, agregado de gomas, rehidratación, y frecuencia de análisis (actividad ureásica).

Las determinaciones realizadas a las muestras fueron las siguientes: contenido de humedad de poroto de soja por medio de NIR (Near Infrared Refractancy) (FOSS, DS 2500, EEUU), contenido de humedad del expeller de soja por medio de NIR FOSS DS 2500, contenido de materia grasa residual en expeller de soja mediante NIR FOSS DS 2500, y actividad ureásica mediante el método oficial AOCS ba-9-58 (2011). Se realizaron, además, las determinaciones de contenido de humedad y de materia grasa por los métodos oficiales correspondientes (ASAE S352.2, 2003 y AOAC 920.39, 1999, modificado para extractor automatizado), con la finalidad de validar los resultados presentados en el presente estudio.

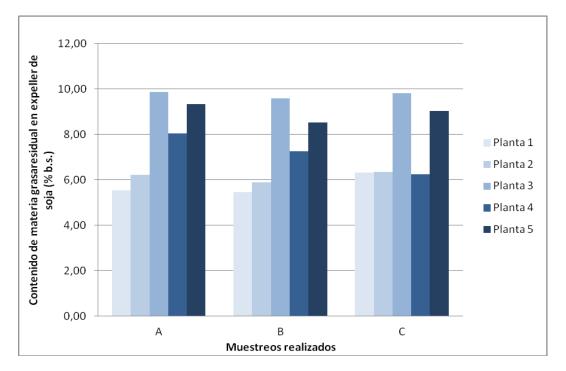
Para realizar el análisis de los datos relevados se utilizó el programa estadístico InfoStat versión 2016 (Di Rienzo et al. 2016). En dicho análisis se calcularon los valores medios y rangos de cada uno de los parámetros considerados. Además, se contemplaron los análisis de regresión lineal entre los parámetros de proceso y los parámetros de calidad tanto de materia prima como de producto final, expeller.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio, indicaron que la composición final del expeller de soja está altamente relacionada con las condiciones de operación durante su procesamiento. La humedad de ingreso

del poroto de soja y la temperatura de extrusión son las principales responsables de alteraciones en la composición del expeller, principalmente porque tienen un efecto importante en el proceso de extracción. Por otro lado, operaciones tales como la aplicación de un secado previo al proceso de extracción y, por lo tanto, trabajar bajo condiciones de baja humedad, aplicar métodos de limpieza, realizar un prensado doble o incluso realizar una rehidratación del expeller, también afectan tanto la composición final del expeller como la eficiencia de extracción.

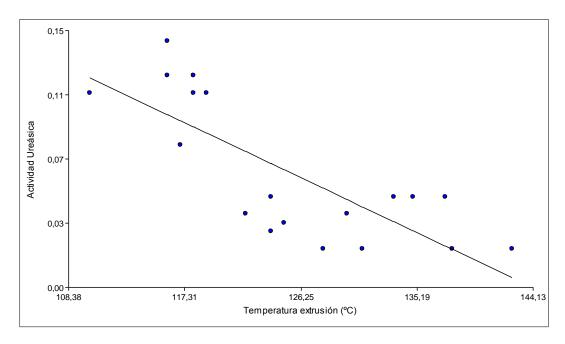
En la **Figura 1**, se muestra el porcentaje de materia grasa residual presente en el expeller, obtenido en tres muestreos sucesivos (A, B y C) realizados en cada una de las cinco plantas estudiadas. Al evaluar la performance de cada una de las plantas, se pudo observar que las plantas 1 y 2 (donde se realiza un prensado simple del producto extrusado), presentaron el menor contenido de materia grasa residual, mientras que las plantas 3 y 4 (donde se realiza un prensado doble del producto extrusado) y la planta 5 (donde se realiza un prensado simple) muestran un contenido de materia grasa residual superior. Por lo tanto, se evidencia que el doble prensado no necesariamente aumenta la eficiencia de extracción de aceite. Por otro lado, se observa una clara repetitividad a lo largo de los días de muestreo para cada una de las plantas estudiadas.



**Figura 1**. Contenido de materia grasa residual en expeller (% base seca) obtenido en tres días consecutivos de producción en las plantas 1 a 5. A, B y C corresponden a tres muestreos sucesivos en cada planta.

La temperatura de extrusión es un parámetro fundamental del proceso que debe ser controlado, ya que permite desactivar los inhibidores de la tripsina y otros factores antinutricionales presentes en el poroto de soja. La actividad ureásica es un indicador indirecto que permite conocer, de manera rápida, el grado de desactivación térmica del expeller de soja; la desactivación de estos factores antinutricionales está altamente relacionada con la inactivación de la ureasa. En la **Figura 2** se muestra la relación existente entre la temperatura de extrusión como parámetro de proceso y el valor de actividad ureásica como parámetro de calidad de producto. De acuerdo con el artículo 1407 del Código Alimentario Argentino (C.A.A.) el límite máximo permitido para harinas tostadas es de 0,3 unidades de pH.

El análisis estadístico indicó que la temperatura de extrusión presentó un valor promedio de 125,5°C y un rango de operación de 110 a 142,5°C, siendo el valor medio de la actividad ureásica igual a 0,04 unidades de pH. Los valores límites de actividad ureásica fueron 0,02 y 0,14, todos estos fueron inferiores al límite máximo permitido por la legislación. El análisis de regresión lineal indica un valor de regresión (R²) entre la variable dependiente (actividad ureásica) y la variable regresora (temperatura de extrusión) de 0,60, lo cual indica que el 60% de la variación en la actividad ureásica puede explicarse por la temperatura de extrusión.



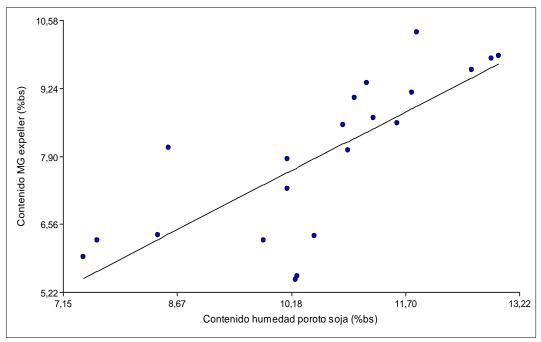
**Figura 2.** Relación entre la temperatura de extrusión (°C) y la actividad ureásica (expresado en unidades de pH) del expeller.

Al evaluar la relación entre el contenido de humedad del poroto de soja antes de ingresar a la extrusora y el contenido de materia grasa residual en el expeller obtenido en todas las plantas bajo estudio, se observó que existe una correlación entre ambos parámetros de calidad. El análisis de regresión lineal en este caso indica un valor de regresión (R²) entre el contenido de materia grasa del expeller y el contenido de humedad de poroto de soja de 0,58. Esto indica que el 58% de la variación en el contenido de materia grasa residual del expeller de soja puede explicarse por el contenido de humedad inicial del poroto de soja, es decir, previo a su procesamiento.

Como se mencionó anteriormente y de acuerdo a los resultados que se muestran en la **Figura 3**, un aumento en el contenido de humedad del poroto está asociado a un aumento en el contenido del aceite residual presente en el expeller, conduciendo a una pérdida en la eficiencia de extracción de aceite. Esto demuestra que relevantes importante controlar la humedad de ingreso del poroto de soja para eficientizar el rendimiento de extracción del proceso, logrando de esta manera un expeller con un menor contenido de materia grasa residual. Los resultados de las determinaciones analíticas muestran un valor promedio del contenido de humedad del poroto de soja de 10,6 (% bs) y un contenido de materia grasa en el expeller de 7,9 (% bs), dentro de un rango de 5,5 a 10,3 (% bs).

Al analizar en particular las plantas que realizan un doble prensado, donde no se obtuvo una mayor eficiencia de extracción, observamos que en particular la humedad de ingreso de las muestras correspondientes a la planta 3, donde el expeller obtenido presentó el mayor porcentaje de aceite residual, el contenido de humedad del poroto al momento de ingreso a la extrusora estaba alrededor de 2 puntos por encima del recomendado para lograr una óptima extracción (10,5%). En el caso de la planta 4 el contenido de humedad del poroto se encontraba alrededor del recomendado, por lo tanto, en este caso, no se debe a un inadecuado acondicionamiento de la materia prima.



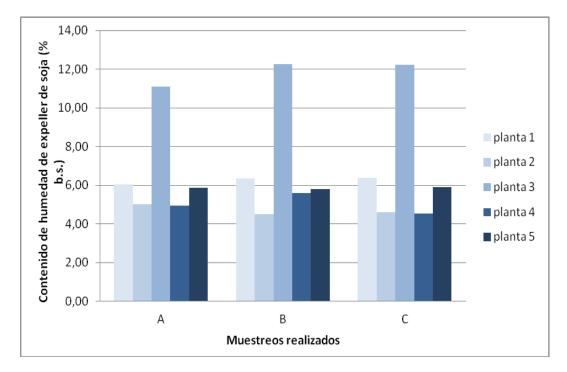


**Figura 3.** Relación entre el contenido de humedad del poroto de soja (expresado como % en base seca) y el contenido de materia grasa residual del expeller de soja (expresado como % en base seca).

El aceite crudo obtenido en el proceso luego del prensado es desgomado generalmente mediante centrifugación y/o decantación. Las gomas recuperadas en el desgomado son, en algunos casos, reincorporadas al expeller. La reincorporación de las gomas se realiza mediante dilución acuosa. Esto, además de generar un aumento en el contenido de humedad del subproducto, representa un aumento en el contenido de aceite. Este aumento en el contenido de aceite se debe a que en la práctica las plantas de extrusado-prensado incorporan las borras o producto de decantación del aceite, por lo que las gomas están compuestas por fosfolípidos, aceite y restos del producto extrusado que hayan pasado al aceite. Dicha reincorporación de las gomas diluidas genera un incremento de la humedad del expeller del orden del 1 - 1,5% (b.s.). En la **Figura 4**, se muestra el contenido de humedad del expeller en las plantas evaluadas para cada uno de los muestreos realizados.

A partir de la **Figura 4**, podemos observar que, coincidentemente con el relevamiento de proceso realizado, las plantas 2 y 4, que no realizan agregado de gomas, son las que presentan el menor contenido de humedad en el expeller. Mientras que las plantas 1, 3 y 5, que realizan el agregado de gomas, presentan un contenido de humedad del expeller superior. En el caso de las plantas 1 y 5 el contenido de humedad se incrementa en un 1 a 1,5%, mientras que la planta 3 presenta un incremento del 7% en el contenido de humedad. Este elevado contenido de humedad observado en el expeller de la planta 3 puede deberse principalmente al elevado contenido de humedad con el que ingresó el poroto de soja a la extrusora, que en promedio fue 12,8%, y además al agregado de gomas con la correspondiente rehidratación. Esto indica que en la planta 3 no realizó un apropiado acondicionamiento del poroto de soja y quizás realizaron una rehidratación excesiva durante el agregado de las gomas al expeller.





**Figura 4.** Contenido de humedad del expeller (expresado como% en base seca) obtenido en las plantas 1 a 5 durante tres días consecutivos de producción. A, B y C corresponden a tres muestreos sucesivos en cada planta.

# **CONCLUSIONES**

El expeller de soja obtenido como subproducto de la industria de extrusado-prensado de soja presenta una importante variación entre plantas. El expeller varía principalmente debido a las diferencias de procesamiento que existe entre plantas.

Al comparar la operación de prensado entre las plantas evaluadas, se concluye que el doble prensado, en particular, no presentó una mejora en la eficiencia de extracción de aceite. Esto se evidencia al encontrar plantas que realizan prensado simple y obtienen expeller con porcentajes de aceite residual inferiores, logrando una mayor eficiencia de extracción que las plantas que realizan un doble prensado.

También se puso en evidencia que un inadecuado acondicionamiento del poroto, previo a su procesamiento, puede conducir a una importante pérdida en la eficiencia de extracción de aceite, como se observó en la plata 3. Por esta razón, es fundamental acondicionar de manera adecuada el poroto de soja para lograr mayores niveles de extracción de aceite y evitar pérdidas en la eficiencia de extracción de aceite por medio del extrusado-prensado. En relación a esto se mostró que existe una correlación entre la humedad del poroto que ingresa al extrusor y la eficiencia de extracción de aceite. Los resultados indicaron que cuanto mayor es la humedad de ingreso del poroto, mayor es el contenido de materia grasa residual en el expeller.

La actividad ureásica por su parte, está correlacionada con la temperatura de extrusado aplicada. Cuando mayor es la temperatura que se alcanza en el extrusado, menor es la actividad ureásica, asociada a la inactivación de los factores antinutricionales. A su vez, en algunos casos se observó un sobrecalentamiento durante el extrusado que trajo como consecuencia la obtención de valores de actividad ureásica muy bajos.

# **BIBLIOGRAFÍA**

AOCS Ba 9-58. 2011. Official Method Urease Activity. Official Methods and recommended Practices of the AOCS, 6th Ed., Second Printing, Urbana, IL.

AOAC 920.39. 2000. Official Method of Fat (crude) or ether extract in animal feed. Official Method of Analysis, 17th Ed., Gaithersburg, MD.

ASAE S352.2. Standard. 2003. Moisture measurement - Unground grains and seeds. St. Joseph, Mich.: ASAE. s. p.

Bragachini M, Casini C, Saavedra A, Méndez J, De Carli R, Behr E, Errasquin L, Ustarroz F, Bragachini M, Urrets Zavala G, Forqueta E, Alladio M. 2012. Cadena de la soja. En: Evolución del sistema productivo agropecuario argentino. Actualización técnica N° 73. pag 30-42. [en línea] <a href="http://www.cosechaypostcosecha.org/data/pdfs/EvolSistemaProdAgropArgentino2011.asp">http://www.cosechaypostcosecha.org/data/pdfs/EvolSistemaProdAgropArgentino2011.asp</a> [consulta: febrero 2016].

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL [en línea] <a href="http://www.infostat.com.ar">http://www.infostat.com.ar</a> [consulta: febrero 2016]

Gallardo M. 2008. Soja: harinas de extracción para la alimentación de ganado. [en línea] <a href="http://www.produccion-animal.com.ar/tablas\_composicion\_alimentos/12-soja.pdf">http://www.produccion-animal.com.ar/tablas\_composicion\_alimentos/12-soja.pdf</a> [consulta: febrero 2016].

INTA PRECOP. 2013. Estado de la situación y propuestas de mejora de las Pymes industriales de extrusado-prensado de soja. [en línea] <a href="http://www.cosechaypostcosecha.org/">http://www.cosechaypostcosecha.org/</a> [consulta: febrero 2016]

Massigoge JI, Ochandio DC, Juan NA. 2013. Industria de extrusado-prensado de soja en la mitad sur de la provincia de Buenos Aires. Boletín técnico N°40. Ediciones INTA. 16p. ISSN 0327-8735.

Mendez JM, Covacevich M, Capurro J, Bragachini MA, Casini C, Saavedra A. 2011. Procesamiento del grano de soja en la provincia de Santa Fe mediante extrusado y prensado: una alternativa para el agregado de valor en origen. Aceites & Grasas. Tomo XXI. Vol. 2. Año 21. Número 83: 254-258.



# VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

# Efecto de tratamientos de estabilización sobre la calidad del germen de trigo Magariño M.<sup>1,2</sup>, Nolasco S. M.<sup>1,3</sup>, Mateo C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de InvestigaciónTECSE (Tecnología de semillas y Alimentos). Facultad de Ingeniería – Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Av. Del Valle 5737, Olavarría, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

<sup>3</sup> Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC)

Dirección de e-mail: snolasco@fio.unicen.edu.ar

#### RESUMEN

En este trabajo se comparó el efecto del tratamiento del germen de trigo con microondas (MOH) (2450 MHz, 607 W, 120 s) con respecto a una inactivación a escala industrial mediante secado indirecto (vapor de agua a 14 bar y 160°C) (SH) sobre la calidad (acidez e índice de peróxidos) y contenido de tocoferoles de sus aceites y contenido de compuestos fenólicos en los gérmenes deslipidizados. El germen de trigo sin tratar (H) y SH fue provisto por Molino Cañuelas, Argentina. Para constatar la inactivación, las muestras se incubaron a 40°C durante 48 h (MOHI, HI, SHI) evaluando posteriormente la acidez (% ác. oleico). El tratamiento por microondas fue el más efectivo para la estabilización del germen de trigo, dado que no se detectó aumento significativo de la acidez del aceite luego del proceso de incubación. Los tratamientos de estabilización aplicados no afectaron significativamente la acidez inicial ni el índice de peróxidos del aceite. Con respecto al contenido de tocoferoles totales en aceite, las muestras SH y MOH presentaron un valor significativamente mayor al observado en H. En cuanto a compuestos fenólicos totales en germen deslipidizado, MOH presentó un contenido significativamente mayor con respecto a SH y H.

Palabras clave: Germen de trigo, estabilización, calidad, microondas.

## **ABSTRACT**

The effect of microwave treatment in wheat germ (MOH) (2450 MHz, 607 W, 120 s) and a inactivation by indirect drying (steam at 14 bar and 160°C) (SH) was compared about quality (acidity and peroxide value) and tocopherols content of their oils and phenolic content in the defatted wheat germ. Untreated wheat germ (H) and SH was provided by Molino Cañuelas, Argentina. To verify the inactivation, the samples were incubated at 40°C for 48 hours (MOHI, HI, SHI) evaluating the acidity (% oleic acid) of oils. The microwave treatment was the most effective for stabilizing wheat germ, since no significant increase in acidity of the oil after incubation process was detected. Stabilization treatments did not significantly affect the initial acidity and peroxide value of oil. Regarding the content of totals tocopherols in oil, SH and MOH samples showed a significantly higher value than that observed in H. As for total phenolic compounds, MOH had a significantly higher content than SH and H.

**Key words:** wheat germ, stabilization, quality, microwaves.

#### INTRODUCCIÓN

El germen de trigo es un subproducto de la molienda industrial de trigo, constituyendo el 2,5-3,8% del peso del grano (Sonntag 1979, Zou et al. 2015); sin embargo, sólo el 0,2-0,5% del germen de trigo puede estar disponible como un subproducto de la industria de la molienda, dependiendo de los equipos de la molinería y procesos de separación. El germen de trigo es un producto con un alto valor nutricional, que contiene aproximadamente 10 a 15% de lípidos, 26-35% de proteínas, 17% de azúcares, 1,5-4,5% de fibra y 4% minerales. Además, posee numerosos beneficios para la salud, incluyendo la reducción de la hiperglucemia postprandial, la inhibición de la absorción de colesterol, la reducción de triglicéridos plasmáticos y la prevención de la carcinogénesis (Zou et al. 2015). El germen de trigo cuenta con una importante cantidad de fitoquímicos como carotenoides, tocoferoles, fitoesteroles, lignanos, flavonoides y ácidos fenólicos (Velioglu et al. 1998, Ge et al. 2000, Eisenmenger y Duford 2008, Vaher 2010). Cuando el germen de trigo es separado del grano entero, su acidez se incrementa en un corto período de tiempo debido a la acción de las enzimas

lipasa y lipooxigenasa, responsables de la rancidez (Xu et al. 2013). La hidrólisis de los lípidos puede conducir a cambios indeseables en sus propiedades sensoriales y nutricionales; por tal motivo en la industria se busca implementar una etapa de calentamiento que parcialmente inactive la lipasa, durante la preparación de productos alimenticios para uso comercial. Actualmente, el método más común de estabilización para prevenir el deterioro del germen es el tratamiento térmico, aunque puede causar pardeamiento no deseado y la destrucción de antioxidantes; por lo tanto, es importante encontrar un proceso de calentamiento de tiempo más corto que sea suficiente para inactivar la lipasa (Rose y Pike 2006). El aceite de germen de trigo posee una alta cantidad de ácidos grasos poliinsaturados y tocoferoles, siendo el α-tocoferol el de mayor actividad como vitamina E (Megahed 2011). Este aceite contribuye a la reducción del colesterol de plasma e hígado, así como a la mejora de resistencia física y retraso en las señales de envejecimiento (Kahlon 1989) La calidad de dicho aceite depende del éxito en la inactivación de las enzimas responsables del deterioro mencionadas anteriormente. La estabilización por microondas combina efectos térmicos y no térmicos que funcionan de manera más eficiente que el método tradicional de estabilización mediante calentamiento (Xu et al. 2013). Las microondas están ofreciendo últimamente una fuente de energía alternativa para la estabilización de diferentes materias primas; ya que es eficiente, el tiempo de procesamiento es corto, es económicamente superior y tiene poco efecto en el valor nutricional. Las ventajas del calentamiento por microondas para la estabilización han sido confirmadas por investigadores (Patil et al. 2016) y ha sido apto para inactivar lipasa y lipoxigenasa en salvado y germen de cereales, así como también en soja (Keying et al. 2009). En este trabajo se comparó el efecto de dos tratamientos de estabilización (mediante microondas y mediante secado indirecto industrial) sobre la calidad (acidez e índice de peróxidos) y el contenido de tocoferoles del aceite y contenido de compuestos fenólicos en el germen de trigo deslipidizado.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

## Tratamientos y clasificación de las muestras

El germen de trigo sin tratamiento (H) y tratado industrialmente mediante secado indirecto (vapor de agua a 14 bar y 160°C) (Método I, SH) fue provisto por la empresa Molino Cañuelas SACIFIA, Argentina. Se comparó el efecto del tratamiento de estabilización industrial con respecto a una inactivación mediante microondas (Método II, MOH) (BGH QuickChef, 2450 MHz, 607 W, 120 s). Para constatar la efectividad de la inactivación, las muestras se incubaron a 40°C en estufa de cultivo durante 48 h (HI, SHI y MOHI) evaluando la acidez de los aceites (IUPAC, 1992).

## Caracterización de la muestra (H)

Para la caracterización de la muestra de germen de trigo (H) se determinó el contenido de humedad (AOCS 1998), rendimiento de aceite en un equipo Soxhlet (IUPAC 1992), contenido de proteínas, de fibra cruda y de cenizas (AOCS 1998). El contenido de carbohidratos se estimó por diferencia, como extracto libre de nitrógeno (ELN).

#### Análisis de aceites

Los aceites de la muestra sin tratamientos (H) y las muestras sometidas a estabilización (SH y MOH) se extrajeron con hexano (Soxhlet, 4 horas), se evaporó el solvente mediante un rotavapor (vacío) y se eliminaron las trazas del mismo por arrastre con corriente de Nitrógeno (Nolasco et al. 2004, Capitani et al. 2011, Magariño et al.2015). En dichos aceites se determinaron, como análisis de calidad, la acidez libre (IUPAC 1992) y el índice de peróxidos (AOCS 1998). También se cuantificaron los tocoferoles según la metodología AOCS (1998), para lo cual se utilizó un equipo Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Germany) provisto de un detector de fluorescencia (Agilent, 1100 Series Fluorescence Detector G1321A, Palo Alto, CA, USA) empleando una longitud de onda de excitación de 292 nm y una longitud de onda de emisión de 330 nm), con una columna HicCHROM, Lichrosorb Si 60, 250 x 4,6 mm d.i. y 5 µm de tamaño de partícula. Se usó hexano: isopropanol (99,5:0,5 v/v) como fase móvil, con un flujo de 1,5 ml/min.

# Contenido de compuestos fenólicos totales en germen deslipidizado

Las muestras H, MOH y SH, luego de haber sido desgrasadas mediante extracción en caliente, durante 4 horas por Soxhlet y desolventizadas a temperatura ambiente, se molieron con molinillo de cuchillas horizontales (Moulinex, Argentina) y se pasaron por tamiz N°60 para la determinación del contenido fenólico total por el método de Folin-Ciocalteu. La extracción fue realizada con una solución de etanol 70% v/v. Los extractos se diluyeron a una concentración 1/10. Se tomaron 0,5 ml de dicha dilución y se la mezcló con 2,5 ml de Reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido 1/10 con agua) y 2 ml de Carbonato de Sodio 20% (masa/volumen). Después de 90 minutos de incubación a 30°C, se midió la absorbancia a 765 nm. El

contenido fenólico total del extracto se calculó por comparación con una curva de calibrado realizada con patrones de ácido gálico y el resultado se expresó en mg ácido gálico/g germen deslipidizado (base seca).

#### Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza ANOVA seguido por el test de Duncan (p<0,05), usando el software InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba, 2004).

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Caracterización de la muestra (H)

En la **Tabla 1** se presenta la composición proximal de la muestra de germen de trigo (H).

**Tabla 1**. Composición proximal del germen de trigo (H).

| Componente  | (% base seca)   |
|-------------|-----------------|
| Humedad     | $12,60\pm0,16$  |
| Aceite      | $9,00\pm0,05$   |
| Fibra cruda | $1,20\pm0,01$   |
| Proteínas   | $33,00\pm0,001$ |
| Cenizas     | $4,00\pm0,37$   |
| ELN         | $38,2\pm0,3$    |

ELN: Extracto libre de Nitrógeno

## Comparación de la efectividad de los tratamientos de estabilización

En la **Tabla 2** se pueden observar los valores de la acidez (% ácido oleico) de los aceites extraídos de las muestras de germen de trigo (sin tratamiento y con los tratamientos de estabilización) con anterioridad y posteriormente a que las mismas fueran incubadas a 40°C.

**Tabla 2**. Valores de acidez (% oleico) de aceites de muestras sin tratar y tratadas por los dos métodos I y II, antes y luego de incubar por 48 h a 40 °C.

| Sin<br>tratamiento | Acidez<br>(% ác. Oleico)     | Tratamiento<br>secado<br>industrial | Acidez<br>(% ác. Oleico)    | Tratamiento con MO | Acidez<br>(% ác. Oleico)    |
|--------------------|------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|--------------------|-----------------------------|
| Н                  | $7,83 \pm 0,68 \text{ a A}$  | SH                                  | $7,61 \pm 0,06 \text{ a A}$ | MOH                | $7,97 \pm 0,21 \text{ a A}$ |
| HI                 | $10,51 \pm 0,03 \text{ b C}$ | SHI                                 | 8,22±0,02 b B               | MOHI               | $7,57\pm0,012 \text{ a A}$  |

Letras minúsculas (a, b) distintas indican diferencias significativas entre muestras en una misma columna (p<0,05); letras mayúsculas (A, B, C) distintas indican diferencias significativas entre muestras en una misma fila (p<0,05). H: muestra sin tratamiento, HI: muestra sin tratamiento e incubada, SH: muestra tratada con secado industrial (Método I), SHI: muestra tratada con secado industrial e incubada, MOH (Método II): muestra tratada mediante microondas e incubada.

Los aceites de las muestras H, SH y MOH (sin ser sometidas a incubación) no se diferenciaron estadísticamente entre sí en lo que respecta a la acidez (% ácido oleico), indicando que los tratamientos de estabilización aplicados no afectaron la acidez inicial (Tabla 2).

Como puede observarse en la **Tabla 2**, luego de la incubación (48 h, 40°C), la acidez del aceite de la muestra tratada por microonda (MOHI) no se modificó significativamente con respecto a la muestra antes de incubar (MOH), indicando ausencia de acción de la lipasa. Por el contrario, tanto para las muestras tratadas por secado industrial (SHI) y sin tratamiento (HI) la acidez de sus aceites aumentó significativamente al ser sometidas las mismas al proceso de incubación, siendo mayor el aumento en la muestra HI (34%) que en la muestra SHI (8%). El incremento de ácidos grasos libres se debe principalmente a la reacción de hidrólisis catalizada por la enzima lipasa presente en las muestras. Por otra parte, cabe destacar la importante reducción de la actividad de agua por el tratamiento por microondas, lo cual limita la acción enzimática favoreciendo la estabilidad de la materia prima (Xu et al. 2013). La **Tabla 3** muestra los valores de índice de peróxidos y contenido de tocoferoles de los aceites correspondientes a las muestras H, SH y MOH con el objetivo de determinar el efecto de los procesos de estabilización sobre estas propiedades. Los aceites presentaron bajos índices de peróxidos, inferior a los permitidos por el Código Alimentario Argentino (CAA, Ministerio de

Agricultura Ganadería y Pesca) para aceites refinados (máx. 10 meq. O<sub>2</sub>/Kg). Asimismo, no se detectaron diferencias significativas entre los aceites de las distintas muestras (H, SH y MOH), indicativo que los procesos de estabilización no afectaron este parámetro de calidad de los aceites. Por otra parte, se detectó un aumento significativo en el contenido de tocoferoles totales en los aceites correspondientes a las muestras sometidas a tratamiento de estabilización (SH y MOH) con respecto a la muestra sin tratamiento (H), aunque no se diferenciaron significativamente entre sí. Estos resultados estarían indicando que los procesos de estabilización (secados indirecto industrial y tratamiento con microonda) estarían afectando también la matriz de las muestras facilitando la extracción de los tocoferoles, lo cual contribuiría a la estabilidad termo-oxidativa de los aceites como resultado de un elevado contenido de antioxidantes. En cuanto al α-tocoferol, el isómero con mayor actividad de vitamina E, presentó la misma tendencia que los tocoferoles totales, observándose un incremento del mismo en las muestras SH y MOH con respecto a H.

**Tabla 3**. Valores de peróxidos y contenido de tocoferoles de los aceites de germen de trigo sin tratar y estabilizados.

| Aceites | Índice de Peróxidos<br>(meq O <sub>2</sub> /Kg) | Tocoferoles totales (µg/g) | α-tocoferol | β-tocoferol | γ-tocoferol |
|---------|---|----------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Н       | 0,74±0,19 a                                     | 3586±7 a                   | 2206±11 a   | 1257±13 a   | 115±3 a     |
| SH      | $0,55 \pm 0,06$ a                               | 3693±11b                   | 2320±5 b    | 1231±46 a   | 135±6 b     |
| MOH     | $0.56 \pm 0.15$ a                               | 3730±16 b                  | 2343±21 b   | 1265±2 a    | 116±5 a     |

Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre muestras para un mismo análisis (p<0,05). H: muestra sin tratamiento, SH: muestra tratada con secado industrial (Método I), MOH: muestra tratada mediante microondas (Método II).

El contenido de fenoles totales para el conjunto de las muestras analizadas (germen deslipidizado de H, SH y MOH) fue de 3,29±0,49mg ácido gálico/g germen deslipidizado. En la **Tabla 4** se puede observar que para MOH el contenido de fenólicos totales fue significativamente mayor que para SH y H y, al mismo tiempo, la cantidad de fenólicos totales fue superior en la muestra procesada industrialmente con respecto a la muestra sin procesar (H). Este comportamiento podría deberse al aumento de temperatura en el tratamiento aplicado y/o cambios estructurales. El calentamiento podría destruir parcialmente la estructura celular facilitando la liberación de estos componentes, haciéndolos más fácilmente extraíbles con etanol acuoso. Sin embargo, el tratamiento a altas temperaturas debe ser controlado para evitar la descomposición térmica de estos compuestos bioactivos (Zou et al. 2015). Por otra parte, Uquiche et al. (2008) observaron un cambio en la estructura de avellana chilena (*Gevuina avellana* Mol) causada por la aplicación de tratamiento previo de microondas, aumentando la porosidad de la muestra.

**Tabla 4**. Compuestos fenólicos totales en germen de trigo deslipidizado sin tratar y estabilizados.

| Muestras de harina | Fenólicos totales (mg ácido gálico/g germen deslipidizado) |
|--------------------|--|
| Н                  | 2,84±0,07 a  |
| SH                 | 3,22±0,074 b   |
| MOH                | 3,82±0,078 c   |

Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre muestras (p<0,05). H: muestra sin tratamiento, SH: muestra tratada con secado industrial (Método I), MOH: muestra tratada mediante microondas (Método II).

#### **CONCLUSIONES**

El tratamiento por microondas (Método II, MOH, 2450 MHz, 607 W, 120 s) fue más efectivo para la estabilización del germen de trigo que el secado indirecto industrial (Método I, SH, vapor de agua a 14 bar y 160°C), no habiéndose detectado para el método II aumento significativo de la acidez del aceite luego del proceso de incubación de la muestra (a 40°C durante 48 h), mientras que para el método I se observó un incremento del 8% (% ác. oleico). Los tratamientos de estabilización efectuados no modificaron significativamente la acidez inicial ni el índice de peróxidos, pero se observó un incremento significativo en el contenido de tocoferoles totales en el aceite (3 - 4 %). También los tratamientos de estabilización

favorecieron la extracción de fenoles totales en el germen deslipidizado, siendo el contenido de los mismos, significativamente mayor para MOH con respecto a SH y a H. El tratamiento mediante microondas no solamente fue más efectivo para estabilizar el germen de trigo respecto altratamiento de secado indirecto industrial, sino que también favoreció la extracción de tocoferoles en el aceite y el contenido de fenoles totales en el germen deslipidizado.

## **BIBLIOGRAFÍA**

AOCS. 1998. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS Press, Champaign, Illinois, Estados Unidos.

Código Alimentario Argentino. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/marco/marco2.php. Octubre 2016.

Capitani M, Mateo C, Nolasco SM. 2011. Effect of temperature and storage time of wheat germ on the oil tocopherol concentration. Brazilian Journal of Chemical Engineering, 28 (2): 243-250.

Eisenmenger M, Dunford NT. 2008. Bioactive Components of commercial and supercritical carbon dioxide processed wheat germ oil. Journal of the American Oil Chemist's Society,85: 55-61.

Ge Y, Sun A, Ni Y, Cai T. 2000. Some Nutritional and functional properties of defatted wheat germ protein. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48:6215-6218.

Infostat. 2004. Grupo Infostat. Universidad Nacional de Córdoba: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Argentina.

IUPAC. 1992. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates. 7° Edición., C. Paquot y A: Hautfenne (ed.), International Union of Pure and Applied Chemistry, Blackwell Scientific Publications Inc., Oxford.

Kahlon TS. 1989. Nutritional implication and uses of wheat and oat kernel oil. Cereal Foods world, 34: 872-875.

Keying Q, Changzhong R, Zaigui L. 2009. An investigation on pretreatments for inactivation of lipase in naked oat kernels using microwave heating. Journal of Food Engineering, 95: 280–284.

Magariño M, Mateo C, Nolasco SM. 2015. Kinetics of tocopherol degradation during the storage of wheat germ oil. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 93(11): 1999-2004.

Megahed MG.2011. Study on stability of wheat germ oil and lipase activity of wheat germ during periodical storage. Agriculture and Biology Journal of North America. 2 (1): 163-168.

Nolasco SM, Aguirrezábal LAN, Crapiste GH. 2004. Tocopherol Oil Concentration in Field Grown Sunflower is Accounted for by Oil weight per Seed. Journal of the American Oil Chemist's Society, 81 (11): 1045-1051.

Patil S, Kar A, Mohapatra D. 2016. Stabilization of rice bran using microwave: Process optimization and storage studies. Food and Bioproducts Processing, 99: 204–211.

Rose DJ y Pike OA. 2006. A Simple Method to Measure Lipase Activity in Wheat and Wheat Bran as an Estimation of Storage Quality. Journal of American Oil Chemists' Society, 83 (5): 415-419.

Sonntag, NOV. 1979. Composition and characteristics of individual fat and oils. In D. Swern (ed.) Bailey's industrial oil and fat products, 1:284-477. New York, John Wiley & Sons.

Uquiche E, Jerez M, Ortíz J. 2008. Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (Gevuina avellana Mol). Innov. Food Sci. Emerg. Technol, 9 (4): 495-500.

Vaher M, Matso K, Levandi T, Helmja K, Kaljurand M. 2010. Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties. Procedia Chemistry 2: 76–82.

Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in seleted fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 4113-4117.

Xu B, Zhou SL, Miao WJ, Gao C, Cai MJ, Dong Y. 2013. Study on the stabilization effect of continuous microwave on wheat germ. Journal of Food Engineering 117: 1–7.

Zou Y, Yang M, Zhang G, He H, Yang T. 2015. Antioxidant Activities and Phenolic Compositions of Wheat Germ as Affected by the Roasting Process. Journal of American Oil Chemists' Society. DOI 10.1007/s11746-015-2689-1.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores de este trabajo agradecen el financiamiento a la Facultad de Ingeniería (Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires) y a la ANPCyT (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, PICT 2012-1443). También agradecen a la empresa Molino Cañuelas SACIFIA por la provisión de las muestras de germen de trigo.





#### VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

# Modificación física de almidón de mandioca inducida por ultrasonido Monroy Y.¹, Rivero, S.¹, García, MA.¹

<sup>1</sup>CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos), Facultad Ciencias Exactas, UNLP. CCT-CONICET La Plata - CICPBA, 47 y 116 S/N°, La Plata (B1900AJJ), Buenos Aires, Argentina. Dirección de e-mail: yuliana.m92@hotmail.com

#### **RESUMEN**

El objetivo del trabajo fue modificar físicamente almidón de mandioca con ultrasonido y estudiar su influencia sobre las propiedades estructurales y funcionales del polímero. Suspensiones al 5% p/v se trataron con ultrasonido durante 5, 10 y 20 min a 40% de amplitud y 750 W. El tratamiento se realizó a temperatura ambiente y en un baño con hielo. Observaciones al microscopio óptico evidenciaron un mayor hinchamiento de los gránulos luego del ultrasonido independientemente de la temperatura de tratamiento. Por SEM se observó que el ultrasonido indujo un daño físico superficial de los gránulos. El tratamiento afectó la distribución de tamaños, siendo los gránulos más pequeños los más susceptibles. Por DSC no se observaron diferencias significativas en la temperatura y la entalpía de gelatinización de las muestras tratadas respecto al control, excepto para las muestras tratadas durante 20 min. Cambios observados en la región 1075-1020 cm<sup>-1</sup> de los espectros FTIR indicaron que el tratamiento modificó la cristalinidad de los almidones, resultados corroborados por difracción de rayos X. Las pastas presentaron un comportamiento pseudoplástico tixotrópico ajustando satisfactoriamente los datos experimentales con el modelo de Ostwald de Waele. Los espectros dinámicos mostraron las características viscoelásticas del sistema. La modificación física favoreció la retrogradación de las pastas. Esta tecnología simple y eco-compatible permitió inducir cambios estructurales en el almidón.

Palabras clave: ultrasonido, análisis microestructural, reología, almidones modificados.

## **ABSTRACT**

The aim of this work was to physically modify cassava starch by ultrasound treatment and to study their influence on the structural and functional properties of the polymer. Starch suspensions (5%) were sonicated for 5, 10 and 20 min at 40% amplitude and 750 W. The treatment was performed at room temperature and with an ice bath. Observations by light microscopy showed a greater swelling of the granules after treatment. The ultrasound induced a surface physical damage of the granules as was observed by SEM. The treatment affected the size distribution being the most susceptible the smaller granules. Except for samples treated during 20 min, no significant differences in the temperature and gelatinization enthalpy of treated samples respect to the control were observed by DSC. Changes evidenced in the 1075-1020 cm<sup>-1</sup> FTIR spectra region indicated that treatment modified the crystallinity of starches, results confirmed by X-ray diffraction. The pastes showed pseudoplastic and thixotropic behavior; fitting successfully the experimental data with the model Ostwald de Waele. Dynamic spectra showed the viscoelastic properties of the system. Physical modification favored the pastes retrogradation. This simple and eco-friendly technology enabled induce structural changes of starch.

**Keywords:** ultrasound, microstructural analysis, rheology, modified starches.

#### INTRODUCCIÓN

El ultrasonido es un tratamiento no convencional que implica ondas mecánicas con frecuencias que superan el umbral del oído humano (más de 16 kHz). Puede dividirse en tres rangos de frecuencias, incluyendo ultrasonido de potencia (16-100 kHz), ultrasonido de alta frecuencia (100 kHz-1 MHz) y ultrasonido de diagnóstico (1-10 MHz) (Patist y Bates, 2008). En los últimos años hay un creciente interés en el uso del ultrasonido de potencia y alta frecuencia tanto en el área de alimentos como en aplicaciones comerciales. Es una de las tecnologías emergentes que se han desarrollado para reducir al mínimo tiempos de procesamiento, maximizar la calidad y garantizar la seguridad de los productos alimenticios. El ultrasonido se aplica para impartir efectos positivos en el procesamiento de alimentos tales como la mejora en la transferencia de masa,

conservación de alimentos, la asistencia de los tratamientos térmicos y la manipulación de la textura, así como en el análisis de alimentos (Knorr et al. 2011). Kardos y Luche (2001) relacionan al ultrasonido con el concepto de "química verde y tecnología" al ser una aplicación amigable con el medio ambiente.

En el área de alimentos y biomateriales, el almidón es uno de los hidrocoloides más utilizados por su disponibilidad, costo y funcionalidad. Presente en diversos tubérculos como la mandioca, está constituido por numerosas unidades de glucosa; en la forma nativa, se encuentra formando gránulos semicristalinos constituidos por dos tipos de polímeros, la amilosa y la amilopectina. La modificación de la estructura nativa por métodos químicos, físicos y enzimáticos, da origen a numerosos derivados que generalmente muestran mejor claridad de pasta y estabilidad, menor tendencia a la retrogradación y aumento en la estabilidad frente a la congelación-descongelación (López et al. 2011). El almidón es una materia prima con un amplio campo de aplicaciones modificando la textura y consistencia de los alimentos hasta la manufactura de papel, adhesivos y envases biodegradables (Zhao et al. 1994).

A fin de ampliar el espectro de aplicaciones de este polímero, la modificación por un método físico no convencional como el ultrasonido constituye una alternativa amigable con el medio ambiente permitiendo mejorar las propiedades funcionales del mismo. Jackson et al. (1988) reportaron que el tratamiento físico antes mencionado incrementa la solubilidad del almidón, pero un intensivo tratamiento resulta en una desramificación de las cadenas poliméricas.

El objetivo del presente trabajo fue modificar físicamente almidón de mandioca mediante su tratamiento con ultrasonido estudiando el efecto de éste sobre sus propiedades microestructurales y funcionales más relevantes.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### Obtención de almidones modificados

Se prepararon suspensiones al 5% (p/v) de almidón de mandioca, *Manihot esculenta*, (Montecarlo, Misiones, Argentina) las que se trataron con ultrasonido a una potencia de 750 W y 40% de amplitud durante distintos tiempos (5, 10, 20 min) con y sin baño de refrigeración (agua y hielo), empleando un equipo ultrasónico Sonics VCX-750 (Vibra Cell, USA). En la **Tabla 1** se indican las condiciones de procesamiento y la nomenclatura utilizada en cada caso. Las muestras previamente centrifugadas se secaron en estufa a 37°C para la obtención del almidón modificado.

#### Caracterización fisicoquímica de los almidones

#### Observación microscópica

Luego del tratamiento con ultrasonido se caracterizó la morfología de los gránulos de las suspensiones tratadas y de almidón nativo utilizando un microscopio Leica SMLB (Heerbrugg, Alemania). Se realizaron extendidos de las muestras con y sin tinción de  $I_2$  (Lugol).

Morfología y distribución de tamaños de gránulos

Se estudió por microscopia electrónica de barrido (SEM) la morfología de muestras de almidón de mandioca nativo y modificados físicamente, empleando un microscopio electrónico Quanta200 (Japón) a un voltaje de 20 kV. Para las observaciones de las muestras, los polvos se dispersaron sobre una cinta bifaz de carbón adherida en tacos de bronce. Las imágenes fueron obtenidas con el software especialmente diseñado para adquirir imágenes digitales utilizando aumentos en el rango de 1500-30000x.

Se analizó la distribución de tamaño empleando el programa ImageJ versión 1.4.3.67, (National Health Institute, USA), seleccionando para determinar el diámetro medio de los gránulos las imágenes con 2000x de magnificación.

### Capacidad de hinchamiento

El hinchamiento del almidón de mandioca nativo y luego del tratamiento se determinó a 25°C. Para ello, 0,1 g de muestra se colocaron en 8 mL de agua y se dejaron hidratar durante 24 h. Luego de separar el sobrenadante, se pesó el almidón hidratado. La determinación se realizó al menos por triplicado.

Hinchamiento (%) = 
$$\frac{Peso \ del \ pellet \ h\'{u}medo}{Peso \ de \ muestra}$$
 (1)



#### Contenido de amilosa

El contenido de amilosa en las muestras tratadas con ultrasonido se cuantificó por el método espectrofotométrico mediante la formación de un complejo coloreado con I<sub>2</sub> con un máximo de absorbancia a 615 nm.

#### Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectros infrarrojos con transformada de Fourier (FTIR) de polvos de almidón de mandioca nativo y tratados se obtuvieron en un espectrofotómetro de IR (Nicolet, iS 10 ThermoScientific, Madison, USA). Se prepararon pastillas mezclando de forma homogénea en un mortero de ágata 1mg de muestra y 49 mg de KBr seco, moldeando posteriormente la pastilla en una prensa manual. Los espectros se registraron entre 4000 y 400 cm<sup>-1</sup> por acumulación de 64 escaneos con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> en el modo de absorbancia. Los datos fueron analizados utilizando el software Onmic 8.3 (ThermoScientific, Madison, USA).

## Difracción de rayos X

Para el análisis de los almidones estudiados se utilizó un difractómetro X'Per Pro PAnalyticalModel PW 3040/60 (Almelo, Holanda) provisto de un tubo de ánodo de CuK, que emite radiación de  $\lambda$ =1,543 nm, y un detector que operó con un voltaje de 40 kV y una corriente de 40 mA. Los difractogramas se obtuvieron en el rango de 20=3-60°.

El grado de cristalinidad de las muestras se calculó como:

Grado de cristalinidad (%) = 
$$\frac{AP}{AT} \times 100 (2)$$

donde AP corresponde al área de los picos de absorción y AT es el área total del difractograma, determinadas mediante el procesamiento de los difractogramas con el programa Origin versión 7.0, (OriginLab Corporation, USA).

#### Análisis térmico

A fin de evaluar el efecto del ultrasonido en la gelatinización del almidón se estudiaron las propiedades térmicas de suspensiones de almidón mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) en un equipo Q100 (TA Instruments, USA). Los análisis se realizaron a 10°C min<sup>-1</sup> en el rango de 10-120°C.

Se pesaron aproximadamente 11 mg de suspensiones al 20% (p/p) de almidón nativo o modificado y se colocaron en cápsulas de aluminio previamente pesadas que se sellaron herméticamente. A partir de los termogramas obtenidos se determinaron las entalpías ( $\Delta H$ , J g<sup>-1</sup> de muestra seca) y las temperaturas de la transición térmica (T de inicio  $T_o$  y de pico  $T_{gelat}$ , °C). Como referencia se empleó una cápsula vacía. Los parámetros vinculados al proceso se determinaron con el Universal Analysis V1.7F software (TA Instruments).

# Caracterización reológica

El comportamiento reológico de las pastas de los almidones nativos y modificados se analizó en un reómetro Rheo Stress 600 ThermoHaake (Haake, Alemania) usando un sistema plato-plato de 35 mm de diámetro (PP35) a temperatura controlada (20°C). Se prepararon suspensiones de almidón nativo y modificado (5% p/v) las cuales fueron gelatinizadas a 90°C durante 20 min. Las muestras se dejaron enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente.

Para estudiar el comportamiento de flujo de las suspensiones gelatinizadas de almidón se utilizó el modo rotacional. El mismo fue modelado matemáticamente con el modelo de Ostwald de Waele. Se calculó la viscosidad aparente a 500 s<sup>-1</sup>. Además, para evaluar la dependencia con el tiempo se determinó el índice de tixotropía (Pa s<sup>-1</sup>).

Asimismo, para estudiar el comportamiento viscoelástico de las pastas se realizaron barridos de esfuerzo  $(0,001\text{-}100\ Pa)$  a frecuencia constante  $(1\ Hz)$  para determinar el rango de viscoelasticidad lineal. Luego, se efectuaron barridos de frecuencia  $(0,01\ a\ 100\ Hz)$  a un valor de esfuerzo constante. Los parámetros reológicos dinámicos registrados fueron el módulo de almacenamiento (G'), el módulo de pérdida (G'') y la tangente del ángulo de desfasaje (tan  $\delta=G''/G'$ ). Los ensayos reológicos se realizaron al menos por duplicado.

Además, se estudió el almacenamiento en condiciones refrigeradas (96 h a 4°C) para evaluar la retrogradación de las pastas de almidón.

#### Análisis estadístico

Se realizaron análisis multifactoriales de varianza mediante el uso del software (InfoStat 2012). Las diferencias se determinaron mediante el test de la diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) usando un nivel de significación p=<0.05.

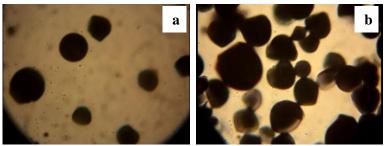
#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido al mecanismo de acción del ultrasonido, generación de energía calórica, mecánica y cavitación (Delgado 2011), se observó un incremento de temperatura de la suspensión a medida que aumentó el tiempo del tratamiento (**Tabla 1**). Luego de 20 min de tratamiento se observó que la temperatura final del proceso fue de  $60^{\circ}$ C ocasionando la gelatinización parcial del polímero y un mayor grado de hinchamiento de los gránulos respecto al almidón nativo (**Figura 1**). Esto podría atribuirse al daño físico que el ultrasonido produce en el gránulo, lo que facilitaría la penetración y difusión del agua y por ende su hidratación. Luego de aplicar el ultrasonido se evidenció la liberación de amilosa, con 20 min de tratamiento la concentración fue de  $8,05\pm1,51\times10^{-6}$  (g/L).

**Tabla1.** Grado de hinchamiento de las muestras tratadas bajo diferentes condiciones (tiempo de exposición y temperaturas alcanzadas)

| Condicio | ones         | T de proceso (º |         | eso (°C) | % Hinchamiento                 |
|----------|--------------|-----------------|---------|----------|--------------------------------|
|          | Tiempo (min) | Nomenclatura    | Inicial | Final    |                                |
| Nativo   |              | N               |         |          | 192,11 (1,42) <sup>a</sup>     |
| Sin baño | 5            | U5              | 22      | 33       | 195,58 (1,25) <sup>a,b</sup>   |
|          | 10           | U10             | 22      | 40       | 197,70 (0,81) <sup>a,b</sup>   |
|          | 20           | U20             | 22      | 60       | 207,30 (8,71) <sup>c</sup>     |
| Con baño | 5            | UB5             | 22      | 21       | 199,98 (4,42) <sup>a,b,c</sup> |
|          | 10           | UB10            | 22      | 28       | 207,95 (3,35) <sup>c</sup>     |
|          | 20           | UB20            | 22      | 37       | 201,90 (4,09) <sup>b,c</sup>   |

Se indican los valores medios obtenidos y las desviaciones estándar entre paréntesis. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05).



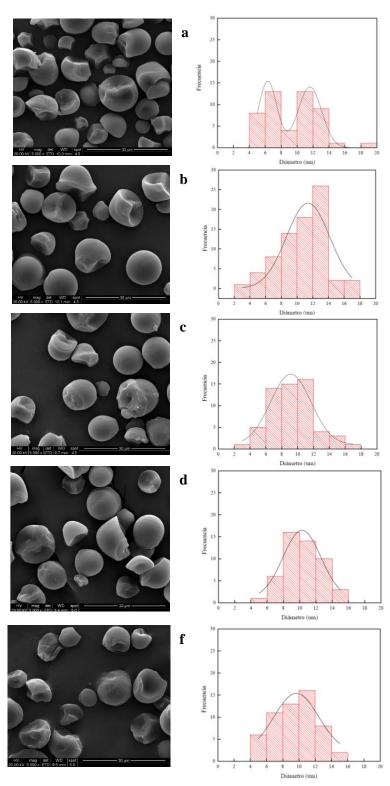
**Figura 1.** Micrografías de la suspensión de almidón de mandioca **a**) nativo y **b**) tratado con ultrasonido 20min, con tinción de I<sub>2</sub> y un aumento de 63x.

El aumento en la capacidad de hinchamiento podría ser atribuido a las modificaciones ocasionadas a nivel de la estructura cristalina, a la ruptura de los enlaces intermoleculares, a los cambios morfológicos y de permeabilidad en los gránulos de almidón, lo que facilitaría una mayor accesibilidad de las moléculas de agua para interactuar con los grupos hidroxilo libres de la amilosa y amilopectina (Jambrak et al. 2010; Manchun et al. 2012; Sujka y Jamroz 2013; Amini et al. 2015).

#### Estudio de la microestructura

La microscopia, ha sido muy empleada para detectar cambios estructurales causados por los procesos de modificación física, química y/o enzimática (Sívoli et al. 2012). La **Figura 2** muestra las micrografías electrónicas de barrido de los gránulos de almidón de mandioca nativo y modificado junto con los histogramas de distribución de tamaño asociados en cada caso. Con respecto a la morfología se observó que los gránulos estudiados resultaron ovalados, ovalados-truncados o redondos, consistente con lo informado por Sívoli et al. (2009, 2012). Además, los gránulos del almidón de mandioca nativo evidenciaron superficies

lisas sin grietas. Se observó que la modificación física no generó cambios en la forma característica del gránulo, pero se detectó un aumento de la rugosidad superficial, la cual se intensificó con el tiempo de tratamiento. Similares resultados fueron reportados por Sujka (2013). Se ha indicado que el tratamiento con ultrasonido daña mecánicamente los gránulos de almidón por colapso y cavitación de burbujas que inducen gradientes de alta presión y velocidades locales altas, lo cual genera fuerzas de roce responsables de las modificaciones estructurales (Jambrak et al. 2010).



**Figura 2.** Micrografías de muestras de almidón de mandioca nativo (a) y tratados con ultrasonido sin baño de hielo durante 5 min (b), 10 min (c) y 20 min (d), y tratados 20 min con baño de hielo (f).

Los gránulos de almidón de mandioca nativo presentaron una distribución de tamaño bimodal con dos grupos diferenciados centrados en 6,3 y 11,9 µm. Siroth et al. (1999) señalaron que el tipo de distribución de tamaño de los gránulos de algunos tubérculos, como es el caso de la mandioca, depende de la fase que esté cursando el cultivo al momento de su cosecha y de la variedad del mismo.

Como puede visualizarse en los histogramas insertos en la **Figura 2**, el tratamiento afectó la distribución de tamaños, siendo los gránulos más pequeños los más susceptibles. Así, para la condición más drástica (U20) la distribución obtenida fue monomodal con un diámetro medio de 10,4±2,4 µm.

La suspensión de almidón de mandioca evidenció una transición endotérmica asociada a la gelatinización en el rango de temperaturas de 56 a 84°C en coincidencia con lo informado en literatura (Gunaratne et al. 2002; López et al. 2011) (**Tabla 2**). En los ensayos realizados por DSC si bien se observó una disminución de la entalpía de gelatinización en las muestras tratadas respecto al control, esta diferencia no fue estadísticamente significativa (p>0.05) excepto para las muestras tratadas durante 20 min sin baño de hielo.

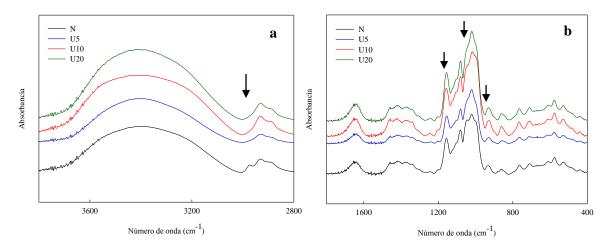
Se ha propuesto que el tratamiento con ultrasonido causa una perturbación estructural en las regiones cristalinas de los gránulos precedida por la hidratación reversible de las zonas amorfas (Jambrak et al. 2010).

**Tabla 2.** Temperaturas de inicio y de pico (T<sub>o</sub> y T<sub>p</sub>) y entalpía de gelatinización (ΔH) de almidón de mandioca nativo y modificados físicamente

| Almidón    | T <sub>o</sub> (°C)     | T <sub>p</sub> (°C)     | ΔH (J/g, base seca)       |
|------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Nativo     | 56,8 (0,9) <sup>a</sup> | 64,6 (0,6) <sup>a</sup> | 14,56 (0,04) <sup>b</sup> |
| <b>U5</b>  | $56,9(0,4)^{a,b}$       | $64,9 (0,2)^a$          | 14,72 (0,09) <sup>b</sup> |
| <b>U10</b> | $55,9 (0,9)^a$          | 64,7 (1,7) <sup>a</sup> | 14,31 (0,27) <sup>b</sup> |
| <b>U20</b> | $57,9(0,1)^{b}$         | 64,5 (0,6) <sup>a</sup> | 13,02 (0,06) <sup>a</sup> |

Se indican los valores medios obtenidos y las desviaciones estándar entre paréntesis. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05).

El espectro FTIR del almidón de mandioca nativo presentó bandas asociadas al estiramiento, flexión y deformación correspondientes a los principales grupos funcionales característicos del polímero (**Figura 3a** y **b**). La banda ancha que aparece a 3400 cm<sup>-1</sup> corresponde al estiramiento de los grupos -OH de la amilosa y amilopectina que forman parte de la estructura del almidón; similares resultados fueron informados por Enriquez (2013). Por otra parte, se observaron bandas localizadas a 2956 y 2930 cm<sup>-1</sup> correspondiente a la vibración de los enlaces C-H (Vieira 2009) y una banda situada a 1153 cm<sup>-1</sup> asignada a la flexión de los enlaces C-O de los grupos hidroxilos. Con el tratamiento de ultrasonido se observó la desaparición del pico a 2956 cm<sup>-1</sup> y la modificación de las bandas características localizados en la región comprendida entre 1075-1020 cm<sup>-1</sup>. Con el aumento del tiempo de tratamiento se intensificó el pico de 932 cm<sup>-1</sup> correspondiente a los enlaces C-O-C de glucosa (Solorzano et al. 2011) y se atenuó el pico a 1050 cm<sup>-1</sup>.



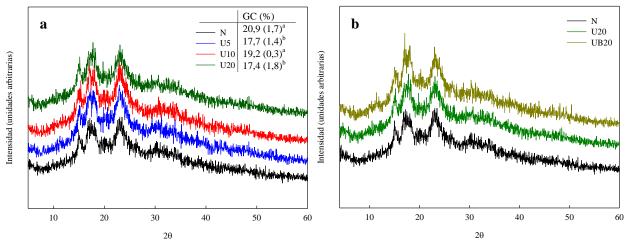
**Figura 3.** Espectros de FTIR para almidón nativo y tratado a distintos tiempos con ultrasonido sin baño de hielo en la región (a) 3800-2800 cm<sup>-1</sup> y (b) 1800-400 cm<sup>-1</sup>.

Las cadenas de amilosa y amilopectina se encuentran empaquetadas formando una estructura semicristalina, con la capacidad de difractar los rayos X, permitiendo así obtener información de su estructura (Bello-Pérez et al. 2002). Generalmente los almidones de tubérculos presentan un polimorfismo tipo B o C (Tester et al. 2004; Mutungi et al. 2012).

La **Figura 4** muestra los difractogramas de rayos X del almidón nativo y los sonicados a distintos tiempos. El patrón de evolución y las intensidades de los picos en aproximadamente  $2\theta = 15$ , 17, 18, 20, 23 y 30° indicó que el almidón de mandioca nativo presentó un patrón de cristalinidad de tipo C y que el mismo no se modificó con el tratamiento. La intensidad de los picos aumentó con el tiempo de tratamiento hasta los 10 min, mientras que a 20 min se evidenció que la misma no variaba con respecto al nativo, resultados similares se obtuvieron para la condición con baño.

El patrón C es típico de almidones de legumbres y de almidones de frutas y tubérculos tropicales (Zobel, 1988, Geng et al., 2007, Luengwilai y Beckles, 2009).

En la Tabla inserta en la **Figura 4** se presentan los grados de cristalinidad (GC) de las muestras. En general se observó que al aumentar el tiempo de tratamiento disminuyó el GC de las muestras. Los resultados de rayos X concuerdan con los resultados obtenidos por DSC y los espectros de FTIR.



**Figura 4.** Espectros de difracción de rayos X del almidón nativo y almidones tratados con ultrasonido durante 5, 10 y 20 min. (a) Efecto del tiempo de tratamiento y (b) influencia del baño de hielo en muestras tratadas durante 20 min.

#### Caracterización reológica

Los ensayos rotacionales permitieron analizar el comportamiento reológico de las pastas. Las muestras con y sin tratamiento exhibieron un comportamiento reológico de tipo pseudoplástico tixotrópico, que pudo ajustarse satisfactoriamente con el modelo de Ostwald de Waele o ley de la potencia (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Parámetros reológicos estimados con el modelo de Ostwald de Waele para el almidón nativo y los tratados.

| Muestra | Tixotropía (Pas <sup>-1</sup> ) | Modelo d    | le Ostwald de V | Viscosidad a 500s <sup>-1</sup> (mPas) |                                |
|---------|---------------------------------|-------------|-----------------|--|--------------------------------|
| Muestra | Tixotropia (Fas )               | K (Pas-1)   | n               | $\mathbf{r}^2$                         | viscosidad a 500s (iiir as)    |
| N       | 24265 (841) <sup>a</sup>        | 5,71 (0,05) | 0,566 (0,003)   | 0,9986                                 | 412,61 (12,18) <sup>a</sup>    |
| U5      | 26250 (170) <sup>a</sup>        | 7,06 (0,94) | 0,569 (0,009)   | 0.9989                                 | 513,37 (31,64) <sup>b,c</sup>  |
| U10     | 37155 (5805) <sup>b</sup>       | 6,59 (0,32) | 0,572 (0,001)   | 0,9986                                 | 496,77 (16,92) <sup>b</sup>    |
| U20     | 25115 (1209) <sup>a</sup>       | 6,61 (0,02) | 0,557 (0,008)   | 0,9989                                 | 439,10 (5,19) <sup>a</sup>     |
| UB5     | 26470 (1979) <sup>a</sup>       | 7,25 (0,01) | 0,577 (0,003)   | 0,9989                                 | 557,34 (16,19) <sup>d</sup>    |
| UB10    | 24655 (757) <sup>a</sup>        | 7,24 (0,27) | 0,570 (0,001)   | 0,9991                                 | 526,71 (6,85) <sup>b,c,d</sup> |
| UB20    | 30330 (3253) <sup>a</sup>       | 7,00 (0,01) | 0,578 (0,005)   | 0.9990                                 | 539,12 (17,57) <sup>c,d</sup>  |

Se indican los valores medios obtenidos y las desviaciones estándar entre paréntesis. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0.05).

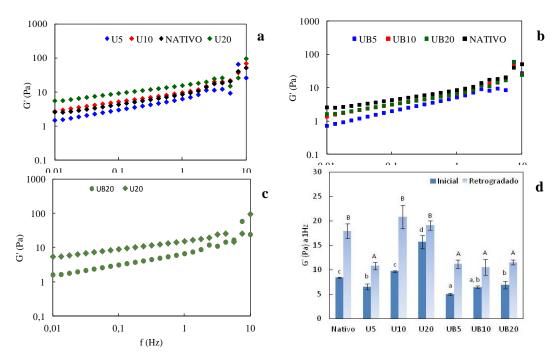
El tratamiento aplicado permitió obtener pastas de mayor viscosidad, siendo este comportamiento más acentuado en las muestras tratadas con baño de hielo.

Por otra parte, los ensayos oscilatorios permitieron evaluar el comportamiento viscoelástico de las muestras. La **Figura 5a, b** y **c** muestra los espectros mecánicos correspondientes a los almidones nativo y tratados con ultrasonido. Para todas las condiciones ensayadas el módulo elástico (G') fue mayor que el módulo viscoso (G'') en todo el rango de frecuencia analizado, presentando ambos una débil dependencia con la frecuencia a lo largo del ensayo, lo que indicaría el desarrollo de una estructura tipo gel. Analizando la influencia del tiempo de tratamiento se evidenciaron mayores valores de G' para la condición más drástica asociado a una mayor fuerza del gel. Este comportamiento podría atribuirse a la despolimerización ocasionada por el tratamiento y la consecuente asociación de las cadenas poliméricas para formar esta red viscoelástica (**Figura 5a**).

Los espectros mecánicos de las pastas preparadas con almidones tratados con ultrasonido en un baño refrigerado durante 10 y 20 min no mostraron diferencias respecto al almidón nativo. Sin embargo, los espectros de las muestras tratadas durante 5 min con y sin baño presentaron menores valores de G' en comparación con el obtenido en el control.

Como ya se mencionó, se ha propuesto que el ultrasonido causa la degradación de las cadenas poliméricas de almidón y la desramificación de la amilopectina, lo que facilitaría el proceso de gelación y posterior retrogradación (Hu et al. 2013). Así, cuando se compara el valor de G' a una frecuencia fija se observa que con el aumento del tiempo del tratamiento se desarrolla un gel más firme (**Figura 5d**).

En relación al efecto del almacenamiento de las pastas en condiciones de refrigeración, no se observaron diferencias (p>0,05) significativas en las muestras tratadas en comparación con el nativo excepto para la condición de 5 min (**Figura 5d**). En contraposición a estos resultados, las muestras que fueron sometidas a ultrasonido con baño de refrigeración exhibieron menores valores de G' luego del almacenamiento, indicando la estabilidad de las pastas.



**Figura 5.** Representación del módulo elástico (G') en función de la frecuencia para las muestras tratadas sin baño (a), con baño de hielo (b), el efecto del baño durante 20 min (c) y el valor de G' a una frecuencia de 1Hz para las muestras a tiempo inicial y luego del almacenamiento.



#### **CONCLUSIONES**

El tratamiento físico del almidón con ultrasonido generó cambios microestructurales evidenciados principalmente en las características morfológicas de los gránulos y su grado de cristalinidad. Estas modificaciones se evidenciaron en los cambios observados en las propiedades funcionales del almidón, principalmente en el comportamiento reológico de sus pastas.

En general, la aplicación de ultrasonido durante tiempos cortos permitió el desarrollo de almidones con menor tendencia a la retrogradación minimizando el daño estructural ocasionado por el tratamiento.

Desde el punto de vista operativo, la selección de esta condición sería una alternativa viable para modificar el almidón con un bajo costo energético asociado.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Amini A, Razavi S, Mortazavi S. 2015. Morphological, physicochemical, and viscoelastic properties of sonicated corn starch. Carbohydrate Polymers, 122: 282-292.

Bello-Pérez LA, Osorio-Díaz P, Agama-Acevedo E, Nuñez-Santiago C, Paredes-López O. 2002. Chemica, physicochemical and rheological of masas and nixtamalized corn fluors. Agrociencia 2002, 36: 319-328.

Delgado JD. 2011. Aplicación del ultrasonido en la industria de los alimentos. Revista especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales, 6: 141-152. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Bogotá, Colombia.

Enríquez M, Velasco R, Fernández A. 2013. Caracterización de almidones de yuca nativos y modificados para la elaboración de empaques biodegradables. Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, 2: 21-30.

Geng Z, Zongdao C, Yimin W. 2007. Physicochemical properties of lotus (Nelumbo nucifera Gaertn.) and kudzu (pueraria hirsute matsum.) starches, International Journal of Food Science and Technology 2(12):1449-1455.

Gunaratne A, Hoover R. 2002. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. Carbohydrate Polymers, 49: 425-437.

Hu A, Lu J, Zheng J, Sun J, Yang L, Zhang X, Zhang Y, Lin Q. 2013. Ultrasonically aided enzymatical effects on the properties and structure of mung bean starch. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 20: 146-151.

Jackson DS, Choto Owen R, Waniska RD, Rooney LW. 1988. Characterization of starch cooked in alkali by aqueous high performance size exclusion chromatography. Cereal Chemistry 65: 493-496.

Jambrak AR, Herceg Z, Šubarić D, Babić J, Brnčić M, Brnčić SR, Bosiljkov T, Čvek D, Tripalo B, Gelo J. 2010. Ultrasound effect on physical properties of corn starch. Carbohydrate Polymers, 79: 91-100.

Kardos N, Luche JL. 2001. Sonochemistry of carbohydrate compounds. Carbohydrate Research, 332: 115-131.

Knorr D, Froehling A, Jaeger H, Reineke K, Schueter O, Schoessler K. 2011. Emerging technologies in food processing. Annual Review of Food Science and Technology, 2: 203-235.

López O, Zaritzky N, García MA. 2011. Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming capacity. Journal of Food Engineering, 100, 160-168.

Luengwilai K, Beckles DM. 2009. Starch granules in tomato fruit show a complex pattern of degradation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(18): 8480-8487.

Manchun S, Nunthanid J, Limmatvapirat S, Sriamornsak P. 2012. Effect of ultrasound treatment on physical properties of tapioca starch. Advanced Materials Research, 506: 294-297.

Mutungi C, Passauer L, Onyango C, Jaros D, Rohm H. 2012. Debranched cassava starch crystallinity determination by Raman spectroscopy: Correlation of features in Raman spectra with X-ray diffraction and 13C CP/MASNMR spectroscopy. Carbohydrate Polymers 87: 598-606.

Patist A, Bates D. 2008. Ultrasonic innovations in the food industry: from the laboratory to commercial production. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9: 147-154.

Siroth K, Santisopasri V, Petchalanuwat C, Kurotjanawong K, Piyachomkwan K, Oates CG. 1999. Cassava starch granule structure, function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch. Carbohydrate Polymers, 38: 161-170.

Sívoli L, Pérez E, Rodriguez P, Raymúndez MB, Ayesta C. 2009. Técnicas microscópicas y de dispersión de luz empleadas en la evaluación de la estructura del almidón nativo de yuca (*Manihot esculenta C*). Acta Microscópica 18: 195-203

Sívoli L, Pérez E, Rodríguez P. 2012. Análisis estructural del almidón nativo de yuca (*Manihot esculenta*) empleando técnicas morfométricas, químicas, térmicas y reológicas. Rev. Fac. Agron. (LUZ), 29: 293-313). Solorzano S, Balsamo V, Ehrmann E. 2011. Modificación química del almidón de yuca con anhídrido

maleico vía microondas. Revista LatinAM. Metal. Mat. Universidad Simón Bolivar, 4-5. Sujka M, Jamroz J. 2013. Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behaviour. Food Hydrocolloids, 31: 413-419.

Tester RF, Karkalas J, Qi, X. 2004. Starch: Composition, fine structure and architecture. Journal of Cereal Science, 39: 151-165.

Vieira NJ. 2009. Modificación química de almidón de yuca mediante radiación de microondas. Universidad Central de Venezuela.

Zhao J, Whistler RL. 1994. Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. Food Technology, 48: 104-105.

Zobel HF. 1988. Starch crystal transformations and their industrial importance. Starch, 40: 1-7.

#### **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo fue realizado en el marco de los proyectos: PICT 2011-1213 y 2015-0921 (ANPCyT, Argentina) y del Proyecto de Vinculación Tecnológica PVT "Productos de la modificación de almidón de mandioca mediante procesos de bajo impacto ambiental para el agregado de valor y su aplicación como ingredientes alimentarios". También el presente trabajo contó con el financiamiento del proyecto PICT 2014-1620 (ANPCyT, Argentina) "Películas nanocompuestas: diseño de nuevas matrices estructurales y funcionales a base de biopolímeros".



# Efecto del proceso y tipo de secado sobre propiedades de concentrados en fibra dietaria de durazno (Prunus persica L)

Nieto Calvache J.E<sup>1,2</sup>, Sette P<sup>2</sup>, de Escalada Pla M<sup>1,2</sup>, Gerschenson L.N<sup>1,2</sup>

#### **RESUMEN**

Se produjeron concentrados en fibra dietaria (CFD), a partir del bagazo de durazno (*Prunus pérsica* L.), mediante una primera etapa de tratamiento con etanol y una posterior etapa de deshidratación, la cual se realizó por convección o por microondas. Se estudió la influencia de 4 factores de proceso: tiempo (t) y temperatura de tratamiento con etanol (Te), relación etanol/muestra (E/M) y temperatura de secado (Ts) sobre el rendimiento, propiedades de hidratación, de absorción de aceite y la densidad aparente de los CFD obtenidos. Se utilizó un diseño ortogonal con dos niveles por factor y puntos centrales. Se observó que cuando se utilizó secado convectivo, las propiedades se vieron afectadas por al menos uno de los factores, mientras que cuando el secado fue por microondas, solo los factores E/M y Ts tuvieron efecto sobre algunas propiedades. Se concluye que el método de secado es un factor clave en relación a las propiedades de los CFD y que dichas propiedades pueden ser mejoradas mediante la variación de los factores de procesamiento.

Palabras clave: microondas, convección con aire, fibra dietaria, propiedades funcionales.

#### **ABSTRACT**

In the present research, dietary fiber concentrates (DFC) were obtained from peach (*Prunus pérsica* L.), bagasse using an ethanol treatment followed by a dehydration step, which was performed by air convection or microwaves. The influence of four processing factors: time (t) and temperature of ethanol treatment (Te), ratio of ethanol to sample (E/S) and drying temperature (Ts), on DFC yield, hydration properties, oil holding capacity and apparent density of the concentrates was evaluated. An orthogonal design with two levels by factor and central points was used. It was observed that when convective drying was used, the properties were affected by at least one processing factor, whereas when microwave drying was used, only the E/S and Ts factors had an effect on some properties. It is concluded that the method of drying is a key factor in relation to the DFC properties and besides, these properties can be improved by varying the processing factors.

**Keywords:** microwaves, drying, air convection, dietary fiber, functional properties.

## INTRODUCCIÓN

Investigaciones realizadas sugieren que el consumo de fibra dietaria, promueve un efecto de protección contra patologías desencadenadas por los lípidos y los azúcares presentes en la dieta (Goñi et al. 2009). La ingesta recomendada de fibra total para adultos es de 25 a 38 g/día, según el Instituto de Medicina y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica. Para las personas de 50 años o menos, la recomendación diaria es de 38 g/día para los hombres y 25 g/día para las mujeres, mientras que para los hombres y mujeres mayores de 50 años de edad, es 30 y 21 g/día respectivamente, debido a un menor consumo de energía promedio. Sin embargo, el consumo promedio en la mayoría de los informes ha sido mucho menor y de entre 13 y 14 g/día (King et al. 2012).

Durante los procesos de transformación de frutas, las distintas etapas involucradas generan subproductos como cáscaras, semillas y otros remanentes que, en general, no son utilizados con fines alimenticios. La transformación de estos subproductos en CFD, representa una estrategia para darles valor agregado y puede ser incorporada en las cadenas productivas con el objetivo de ejercer un aprovechamiento integral de las materias primas que entran a los procesos de transformación. La producción de fibra dietaria de una misma fuente puede presentar diferentes propiedades funcionales, dependiendo de los procesos aplicados para su obtención (de Escalada Pla et al. 2012). El objetivo del presente trabajo fue producir concentrados en fibra-

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Godoy Cruz 2290 CABA.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN). Avenida Intendente Güiraldes 2160, CABA.

dietaria a partir del bagazo de durazno, mediante un tratamiento con etanol y una posterior etapa de deshidratación por convección o por microondas y evaluar el efecto de los cuatro factores de procesamiento (tiempo y temperatura de tratamiento con etanol, relación etanol/muestra y temperatura de secado) sobre el rendimiento, la densidad aparente, las propiedades de hidratación y de absorción de aceite de los concentrados producidos.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

Los CFD se produjeron a partir de frutos frescos de durazno de la variedad Jungold, a los cuales se les retiró el carozo y, posteriormente, se trituraron con un procesador de alimentos de uso doméstico. El bagazo obtenido, compuesto por la cáscara y la pulpa residual se trató con etanol durante distintos tiempos y a diferentes temperaturas y además utilizando relaciones etanol/muestra según un diseño experimental (Tablas 1 y 2). Posteriormente y luego de filtrar el etanol, el residuo fue deshidratado mediante convección con aire caliente o con microondas. El secado por convección se realizó en una cámara de convección (FAC, Argentina), utilizando diferentes temperaturas, según diseño experimental (Tabla 1). Así mismo, el secado por microondas se realizó utilizando un equipo Ethos Plus (Milestone, Italia) trabajando a una potencia máxima de 500 W y a diferentes temperaturas según el diseño experimental (Tabla 2). En ambos casos se registró la pérdida de peso con el tiempo, hasta peso constante. Los CFD obtenidos fueron molidos con un molino de uso doméstico Braun (Argentina) y tamizados en una malla ASTM 40 para obtener CFD con un tamaño de partícula inferior a 420 micrones, los cuales, posteriormente se envasaron al vacío en bolsas Cryovac<sup>TM</sup> (Sealed Air Corporation; polímero de cloruro de polivinilo y polivinilideno) y se almacenaron a -18°C hasta su análisis.

#### Caracterización de los CFD

El rendimiento de los CFD se calculó como los gramos de CFD obtenidos luego del secado por cada 100 g de bagazo de durazno.

## Propiedades de hidratación y de absorción de aceite

Las propiedades de hidratación y absorción de aceite de los CFD, se evaluaron de acuerdo a de Escalada Pla et al. (2010). Las propiedades se nombraron de acuerdo a las siglas usadas en la nomenclatura internacional. Las propiedades de hidratación se expresaron en las siguientes unidades: Capacidad de hinchamiento (Swelling capacity, SC) en mL/g, capacidad de absorción de agua (Water holding capacity, WHC), en g/g, capacidad de retención de agua (Water retention capacity, WRC) en g/g, así mismo la capacidad de absorción de aceite (Oil holding capacity, OHC), se expresó como g/g.

## **Densidad aparente**

Se determinó a partir de la masa y el volumen de una alícuota de cada CFD obtenido. Se calculó como la relación de los gramos de CFD respecto al volumen (mL) ocupado en una probeta.

#### Diseño experimental

El estudio se realizó mediante el desarrollo de un diseño experimental para la producción de concentrados en fibra dietaria de durazno, obtenidos mediante dos tipos de secado (convección y microondas). El diseño utilizado para cada mecanismo de secado fue un ortogonal con 4 factores o variables de proceso y dos niveles por factor. Los diseños fueron desarrollados en dos bloques, por lo cual cada bloque fue realizado con 4 puntos centrales (Tablas 1 y 2). Los factores analizados fueron: Tiempo (t) y temperatura (Te) de tratamiento con etanol, relación etanol/muestra (E/M) y temperatura de secado (Ts). Se evaluó el efecto de dichos factores sobre el rendimiento, las propiedades WRC, SC, WHC, OHC y la densidad aparente.

## Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para verificar cuales de los factores tienen efectos significativos (p<0,05) sobre las propiedades analizadas y también para evaluar la proporción de la varianza explicada por el modelo propuesto mediante la determinación del coeficiente  $R^2$ . Además, se verificó que la prueba de falta de ajuste no resultase significativa (p>0,05).

Para el desarrollo de los diseños experimentales, así como para todos los análisis estadísticos, se utilizó el Statgraphics Centurion XV (02/15/06 V., 2007. Rockville, MD, USA).

#### RESUMEN Y DISCUSIÓN

El tratamiento de tejidos vegetales con etanol, seguido de una etapa de secado con aire convectivo había sido previamente ensayado para la producción de fracciones enriquecidas en fibra dietaria de otras fuentes

vegetales como calabaza y membrillo (de Escalada Pla et al. 2007, 2010, 2012). En una primera parte de la investigación se analizó la producción de CFD mediante deshidratación por convección y los concentrados obtenidos mediante este diseño presentaron las propiedades y características que se resumen en la **Tabla 1**. En una etapa posterior se cambió el procedimiento de secado, utilizándose el de irradiación con microondas y se evaluaron propiedades de los CFD previamente mencionadas (**Tabla 2**). El análisis de los efectos de los factores de procesamiento sobre las respuestas analizadas se encuentra resumido en las **Tablas 3** y **4**.

**Tabla 1.** Diseño experimental, rendimiento y propiedades de los CFD de durazno para la deshidratación mediante convección con aire caliente.

|        |         | Vari | ables i | ndependi | ientes | Densidad        | WRC          | ОНС             | SC           | WHC          | Rendimiento |
|--------|---------|------|---------|----------|--------|-----------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-------------|
| Bloque | Sistema |      |         |          |        | aparente        | (g/g)        | (g/g)           | (ml/g)       | (g/g)        | (%)         |
|        | Sistema | t    | Te      | E/M      | Ts     | (g/ml)          | (g/g)        | (g/g)           | (IIII/g)     | (g/g)        | (70)        |
| 1      | 0       | 0    | 0       | 0        | 0      | 0,460±0,001     | 19,8±0,1     | 1,59±0,06       | 34±4         | 30±3         | 4,57        |
| 1      | 0       | 0    | 0       | 0        | 0      | $0,574\pm0,001$ | $20 \pm 1$   | $1,38\pm0,03$   | $27\pm4$     | $24 \pm 3$   | 5,28        |
| 1      | 0       | 0    | 0       | 0        | 0      | $0,58\pm0,01$   | 19,8±0,6     | $1,31\pm0,05$   | $22 \pm 1$   | $20 \pm 3$   | 4,83        |
| 1      | 0       | 0    | 0       | 0        | 0      | $0,45\pm0,01$   | $20,4\pm0,3$ | $1,7\pm0,1$     | $27\pm2$     | $23\pm3$     | 4,60        |
| 1      | 1       | 1    | 1       | 1        | 1      | $0,508\pm0,008$ | $19,9\pm0,7$ | $1,55\pm0,09$   | $25\pm2$     | $23\pm2$     | 4,62        |
| 1      | 2       | 1    | 1       | -1       | -1     | $0,52\pm0,02$   | $18,7\pm0,6$ | $1,47\pm0,07$   | $22,7\pm0,8$ | $22,2\pm0,3$ | 5,75        |
| 1      | 3       | 1    | -1      | 1        | -1     | $0,47\pm0,01$   | 25,1±0,9     | $1,678\pm0,004$ | 31±2         | 31±1         | 6,00        |
| 1      | 4       | 1    | -1      | -1       | 1      | $0,63\pm0,02$   | $20,7\pm0,5$ | $1,6\pm0,2$     | $26 \pm 3$   | $27\pm3$     | 7,27        |
| 1      | 5       | -1   | 1       | 1        | -1     | $0,49\pm0,02$   | 19±1         | $1,62\pm0,04$   | $27\pm3$     | $25\pm2$     | 4,69        |
| 1      | 6       | -1   | 1       | -1       | 1      | $0,71\pm0,02$   | 16±1         | $1,08\pm0,05$   | $22\pm2$     | $22\pm4$     | 4,82        |
| 1      | 7       | -1   | -1      | 1        | 1      | $0,58\pm0,04$   | 19,0±0,4     | $1,3\pm0,1$     | $43\pm3$     | $43\pm3$     | 4,97        |
| 1      | 8       | -1   | -1      | -1       | -1     | $0,62\pm0,01$   | $17,8\pm0,6$ | $1,14\pm0,06$   | $34 \pm 3$   | $37\pm3$     | 5,74        |
| 2      | 0       | 0    | 0       | 0        | 0      | 0,5815±0,0007   | $16,4\pm0,8$ | $1,4\pm0,1$     | 29,4±0,9     | $27\pm3$     | 5,12        |
| 2      | 0       | 0    | 0       | 0        | 0      | $0,61\pm0,02$   | $17,2\pm0,7$ | $1,5\pm0,2$     | $32 \pm 1$   | 29,1±0,7     | 5,08        |
| 2      | 0       | 0    | 0       | 0        | 0      | $0,66\pm0,03$   | $17,6\pm0,8$ | $1,4\pm0,1$     | $29 \pm 7$   | $22\pm3$     | 5,20        |
| 2      | 0       | 0    | 0       | 0        | 0      | $0,61\pm0,02$   | 17,9±0,9     | $1,4\pm0,1$     | $35\pm2$     | $34\pm2$     | 5,00        |
| 2      | 9       | 1    | 1       | 1        | -1     | $0,54\pm0,02$   | $20 \pm 1$   | $1,53\pm0,09$   | $23\pm2$     | $28\pm2$     | 5,45        |
| 2      | 10      | 1    | 1       | -1       | 1      | $0,76\pm0,02$   | $14,8\pm0,1$ | $1,3\pm0,2$     | $16,3\pm0,3$ | $20 \pm 1$   | 6,23        |
| 2      | 11      | 1    | -1      | 1        | 1      | $0,617\pm0,008$ | $20 \pm 1$   | $1,8\pm0,1$     | $32\pm2$     | $30 \pm 1$   | 4,88        |
| 2      | 12      | 1    | -1      | -1       | -1     | $0,66\pm0,03$   | $20,7\pm0,5$ | $2,1\pm0,2$     | 35,4±0,9     | $39\pm4$     | 6,41        |
| 2      | 13      | -1   | 1       | 1        | 1      | $0,61\pm0,01$   | $15,6\pm0,7$ | $1,7\pm0,1$     | $20 \pm 1$   | $20 \pm 1$   | 4,45        |
| 2      | 14      | -1   | 1       | -1       | -1     | $0,63\pm0,04$   | 16±1         | $1,4\pm0,2$     | $32 \pm 1$   | 36±1         | 6,75        |
| 2      | 15      | -1   | -1      | 1        | -1     | $0,669\pm0,008$ | 18±1         | $1,4\pm0,1$     | $27\pm2$     | $28\pm1$     | 5,50        |
| 2      | 16      | -1   | -1      | -1       | 1      | $0,76\pm0,02$   | $14,6\pm0,5$ | $1,3\pm0,1$     | $22,2\pm0,7$ | 25,1±0,9     | 5,97        |

t: Tiempo de extracción; Te: temperatura de tratamiento etanólico; E/M: Relación etanol/muestra; Ts: Temperatura de secado. Niveles codificados y reales del diseño, t: 0 Codificado = 30 min, +1 Codificado = 45 min, -1 Codificado = 15 min; Te: 0 Codificado  $50^{\circ}$ C, +1 Codificado =  $80^{\circ}$ C, -1 Codificado =  $20^{\circ}$ C; E/M: 0 Codificado = 350/100 mL/g, +1 Codificado = 500/100 mL/g, -1 Codificado = 200/100 mL/g; Ts: 0 Codificado =  $50^{\circ}$ C, +1 Codificado =  $70^{\circ}$ C, -1 Codificado =  $30^{\circ}$ C.



**Tabla 2.**Diseño experimental, rendimiento y propiedades de los CFD de durazno para la deshidratación con microondas

|            |          |    |       |          |    | m                              | icroonda                 | ıs                          |                       |                  |                        |                       |
|------------|----------|----|-------|----------|----|--------------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------|------------------|------------------------|-----------------------|
|            |          |    | Va    | riables  |    |                                |                          |                             |                       |                  |                        | Tiemp                 |
| Bloqu<br>e | Sistem a | :  | indep | endiente | es | Densidad<br>aparente<br>(g/ml) | WRC<br>(g/g)             | OHC<br>(g/g)                | SC (ml/g)             | WHC (g/g)        | Rendimien<br>to<br>(%) | o<br>de<br>secad<br>o |
|            | ű        | t  | Te    | E/M      | Ts |                                |                          |                             |                       |                  |                        | (min)                 |
| 1          | 0        | 0  | 0     | 0        | 0  | $0,55 \pm 0,03$                | 15,6 ± 0,5 13,0 ±        | 1,43 ± 0,02<br>1,20 ±       | 14,6 ± 0,7            | 14 ± 1           | 4,50                   | 35                    |
| 1          | 0        | 0  | 0     | 0        | 0  | $0,61 \pm 0,01$                | 0,5<br>17,6 ±            | 0,06<br>1,67 ±              | 12 ± 1                | 11 ± 2<br>19,1 ± | 4,74                   | 35                    |
| 1          | 0        | 0  | 0     | 0        | 0  | $0,51 \pm 0,04$                | 0,3<br>14,4 ±            | 0,02<br>1,60 ±              | 18 ± 1                | 0,4<br>14,0 ±    | 5,11                   | 35                    |
| 1          | 0        | 0  | 0     | 0        | 0  | $0,55 \pm 0,04$                | 0,2<br>16,7 ±            | 0,08<br>1,724±0,0           | 14 ± 1<br>17,6 ±      | 0,8<br>17,3 ±    | 4,38                   | 30                    |
| 1          | 1        | 1  | 1     | 1        | 1  | $0,49 \pm 0,03$                | 0,4<br>16,2 ±            | 07<br>1,27 ±                | 0,4                   | 0,4              | 4,44                   | 22                    |
| 1          | 2        | 1  | 1     | -1       | -1 | $0,63 \pm 0,03$                | 0,1                      | 0,08                        | $16 \pm 1$            | $17 \pm 1$       | 5,40                   | 210                   |
| 1          | 3        | 1  | -1    | 1        | -1 | $0.6 \pm 0.1$                  | 19 ± 1<br>8,6 ±          | $1,4 \pm 0,1 \\ 1,30 \pm$   | $29 \pm 3$<br>6,5 ±   | 29 ± 1           | 5,71                   | 210                   |
| 1          | 4        | 1  | -1    | -1       | 1  | $0,\!65 \pm 0,\!02$            | 0,3                      | 0,08                        | 0,4                   | $9 \pm 1$        | 5,78                   | 22                    |
| 1          | 5        | -1 | 1     | 1        | -1 | $0,44 \pm 0,01$                | 20,3 ± 0,9               | $2,0 \pm 0,1$               | 32,4 ± 0,8            | $29,3 \pm 0,7$   | 5,89                   | 210                   |
| 1          | 6        | -1 | 1     | -1       | 1  | $0,58 \pm 0,02$                | 12,5 ± 0,9               | 1,48 ± 0,05                 | $12,0 \pm 0,8$        | 12 ± 1           | 5,68                   | 26                    |
| 1          | 7        | -1 | -1    | 1        | 1  | $0,51 \pm 0,02$                | 19,7 ± 0,2               | 1,66 ±<br>0,06<br>1,21 ±    | 27 ± 2                | 23 ± 2           | 5,58                   | 22                    |
| 1          | 8        | -1 | -1    | -1       | -1 | $0,62 \pm 0,06$                | 19 ± 1                   | 0,06<br>1,20 ±              | $26 \pm 2$ $21,1 \pm$ | $25 \pm 2$       | 6,56                   | 210                   |
| 2          | 0        | 0  | 0     | 0        | 0  | $0,65 \pm 0,05$                | 22 ± 1                   | 0,01<br>1,44 ±              | 0,7                   | 19 ± 1           | 5,30                   | 55                    |
| 2          | 0        | 0  | 0     | 0        | 0  | $0,62 \pm 0,02 \\ 0,644 \pm$   | $22 \pm 1$ $22,7 \pm$    | 0,06<br>1,31 ±              | $29 \pm 2$            | 27 ± 1           | 5,57                   | 50                    |
| 2          | 0        | 0  | 0     | 0        | 0  | 0,009<br>0,6610±0,00           | 0,9<br>19,3 ±            | $0,09 \\ 1,20 \pm$          | 20 ± 1                | 18 ± 1           | 4,60                   | 50                    |
| 2          | 0        | 0  | 0     | 0        | 0  | 02                             | 0,4                      | 0,06<br>1,53 ±              | 21 ± 2                | 21 ± 2           | 4,90                   | 50                    |
| 2          | 9        | 1  | 1     | 1        | -1 | $0.7 \pm 0.2$                  | $24 \pm 3$<br>$12,2 \pm$ | 0,06<br>1,44 ±              | $20 \pm 3$            | 18 ± 1           | 4,86                   | 260                   |
| 2          | 10       | 1  | 1     | -1       | 1  | $0.71 \pm 0.02$<br>$0.578 \pm$ | 0,2<br>19,9 ±            | 0,05<br>1,67 ±              | 11 ± 1<br>20,8 ±      | 12 ± 1           | 5,83                   | 38                    |
| 2          | 11       | 1  | -1    | 1        | 1  | 0,006                          | $0.8$ $21.4 \pm$         | 0,07                        | $0,4$ $32,5 \pm$      | $21 \pm 1$       | 5,96                   | 34                    |
| 2          | 12       | 1  | -1    | -1       | -1 | $0,66 \pm 0,02 \\ 0,669 \pm$   | 0,5<br>18,7 ±            | $1,4 \pm 0,1$<br>$1,45 \pm$ | 0,7                   | 34 ± 1           | 5,86                   | 275                   |
| 2          | 13       | -1 | 1     | 1        | 1  | 0,003                          | 0,4                      | 0,05                        | $16 \pm 1$            | $17 \pm 2$       | 5,19                   | 38                    |
| 2          | 14       | -1 | 1     | -1       | -1 | $0.76 \pm 0.02$<br>$0.599 \pm$ | 21 ± 2<br>23,8 ±         | 1,20 ±0,05<br>1,66 ±        | $26 \pm 2$            | $28 \pm 2$       | 5,51                   | 275                   |
| 2          | 15       | -1 | -1    | 1        | -1 | 0,004                          | 0,7<br>11,2 ±            | 0,06<br>1,22 ±              | $36 \pm 2$            | $36 \pm 2$       | 5,43                   | 260                   |
| 2          | 16       | -1 | -1    | -1       | 1  | $0,73 \pm 0,02$                | 0,4                      | 0,02                        | 10 ± 1                | 11 ± 1           | 5,76                   | 38                    |

t: Tiempo de extracción; Te: temperatura de tratamiento etanólico; C: Relación etanol/muestra; Ts: Temperatura de secado. Niveles codificados y reales del diseño, t: 0 Codificado = 30 min, +1 Codificado = 45 min, -1 Codificado = 15 min; Te: 0 Codificado = 50°C, +1 Codificado = 80°C, -1 Codificado = 20°C; E/M: 0 Codificado = 350/100 mL/g, +1 Codificado = 500/100 mL/g, -1 Codificado = 200/100 mL/g; Ts: 0 Codificado = 60°C, +1 Codificado = 80°C, -1 Codificado = 40°C.

Se puede observar que el secado convectivo conllevó a tiempos de proceso que oscilaron entre 140 y 405 min mientras que para el secado por microondas, los tiempos de procesamiento variaron entre 22 y 275 min, como se observa en las **Tablas 1** y **2**. En los estudios realizados por Maskan (2001), para la deshidratación de rodajas de kiwi, se informó que el uso de microondas y microondas-aire caliente como mecanismos de secado producía una reducción de los tiempos de secado de entre el 89 y 40% en comparación con el secado que sólo usaba aire caliente. El calentamiento por microondas se lleva a cabo en materiales dieléctricos, tales como tejidos vegetales, debido al efecto de polarización de la radiación electromagnética a frecuencias entre 300 MHz y 300 GHz. El calentamiento por microondas es una consecuencia de la conversión de la energía electromagnética en calor por absorción selectiva y disipación. Como las microondas pueden transferir energía a través del volumen del material, esta transferencia de energía ofrece ventajas como la reducción del tiempo de procesamiento y el mejoramiento de la calidad global del producto, en comparación con el procesamiento térmico convencional (Latorre et al. 2013).

Cuando se utilizó el secado por convección (**Tabla 1**), los rendimientos de los CFD oscilaron entre 4,45 y 7,27 g/100 g. Además, en la **Tabla 3** se observa un fuerte efecto negativo de los factores E/M y Te sobre el rendimiento, con lo cual se puede inferir que el incremento de la temperatura de tratamiento con etanol y en la relación etanol/muestra, tiende a producir menores rendimientos de los CFD. Cuando se utilizaron microondas, no se observaron efectos significativos de estos factores en el rendimiento (**Tabla 4**). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que, en ambos casos (convección y microondas), el modelo aplicado no describe adecuadamente el comportamiento del rendimiento, ya que la prueba de falta de ajuste (Tablas 3 y 4) fue significativa (p<0.05), y también se obtuvieron bajos valores para el R<sup>2</sup>.

**Tabla 3.** Resumen de los efectos de los factores estudiados sobre las propiedades de los CFD deshidratados

|                                   | Densidad | WRC      | OHC     | SC       | WHC     | Rendimiento |
|-----------------------------------|----------|----------|---------|----------|---------|-------------|
|                                   | (g/ml)   | (g/g)    | (g/g)   | (ml/g)   | (g/g)   | (%)         |
| Término independiente             | 0,597    | 18,568   | 1,493   | 28,282   | 28,367  | 5,383       |
| A:Tiempo de tratamiento (t)       | -0,023   | 1,423**  | 0,117*  | -1,070   | -1,059  | 0,233**     |
| B:Temperatura de tratamiento (Te) | -0,016   | -0,948** | -0,045  | -3,862** | -3,941* | -0,247**    |
| C: Etanol/muestra (E/M)           | -0,051*  | 0,987**  | 0,074   | 1,206    | -0,057  | -0,523**    |
| D:Temperatura de secado (Ts)      | 0,036*   | -0,919** | -0,047  | -1,647   | -2,317  | -0,192      |
| AB                                | 0,008    | -0,704** | -0,115* | -0,838   | -0,277  | -0,065      |
| AC                                | -0,003   | 0,198    | -0,063  | 0,268    | 0,443   | -0,065      |
| AD                                | 0,004    | -0,210   | -0,022  | 0,059    | -0,154  | 0,117       |
| BC                                | -0,009   | 0,013    | 0,063   | -0,922   | -0,605  | -0,019      |
| BD                                | 0,015    | 0,016    | -0,009  | -1,008   | -1,022  | -0,122      |
| CD                                | -0,017   | -0,038   | 0,059   | 3,099    | 2,592*  | -0,148      |
| $\mathbb{R}^2$                    | 80,71    | 95,80    | 79,42   | 61,58    | 61,10   | 63,51       |
| Falta de ajuste                   | 0,626    | 0,186    | 0,464   | 0,180    | 0,120   | 0,003       |

Grado de significancia: \*p< 0,05, \*\*p< 001



**Tabla 4.** Resumen de los efectos de los factores estudiados sobre las propiedades de los CFD deshidratados

|                                   | Densidad | WRC      | OHC     | SC       | WHC      | Rendimiento |
|-----------------------------------|----------|----------|---------|----------|----------|-------------|
|                                   | (g/ml)   | (g/g)    | (g/g)   | (ml/g)   | (g/g)    | (%)         |
| Término independiente             | 0,613    | 17,950   | 1,444   | 20,354   | 20,071   | 5,356       |
| A:Tiempo de tratamiento (t)       | 0,007    | -0,512   | -0,009  | -2,000   | -1,500   | -0,110      |
| B:Temperatura de tratamiento (Te) | 0,002    | -0,063   | 0,036   | -2,300   | -2,338   | -0,240      |
| C:Etanol/muestra (E/M)            | -0,047** | 2,500**  | 0,161** | 3,675**  | 2,663    | -0,208      |
| D:Temperatura de secado (Ts)      | -0,006   | -2,825** | 0,017   | -6,063** | -5,875** | -0,063      |
| AB                                | 0,003    | 0,088    | -0,012  | -0,725   | -1,250   | -0,108      |
| AC                                | 0,012    | 0,150    | -0,047  | -1,000   | -1,000   | -0,030      |
| AD                                | -0,015   | -0,075   | 0,050   | 0,863    | 1,038    | 0,085       |
| BC                                | -0,001   | -0,275   | 0,003   | -1,050   | -1,088   | -0,048      |
| BD                                | -0,004   | 0,150    | -0,005  | 1,338    | 1,625    | -0,003      |
| CD                                | -0,006   | 1,313    | -0,028  | 1,563    | 1,625    | -0,028      |
| $\mathbb{R}^2$                    | 76,42    | 85,47    | 57,41   | 78,48    | 79,70    | 31,12       |
| Falta de ajuste                   | 0,044    | 0,172    | 0,300   | 0,082    | 0,186    | 0,0383      |

Grado de significancia: \*p< 0,05, \*\*p< 0,01

Por otra parte, se observó que los factores tiempo y/o temperatura de tratamiento con etanol, presentaron efectos significativos sobre algunas propiedades de hidratación y absorción de aceite, cuando se empleó secado por convección (**Tabla 3**) pero cuando se utilizó secado por microondas (**Tabla 4**) estos factores no presentaron efectos significativos sobre estas propiedades.

Las propiedades densidad aparente y WRC, fueron afectadas de forma negativa y positiva respectivamente por el factor E/M, para ambos mecanismos de secado (**Tablas 3** y **4**). La densidad de los CFD depende del contenido de agua y de las características fisicoquímicas de los sólidos, las cuales se ven afectadas por el método de secado y por el colapso de la matriz (Koç et al. 2008). Finalmente, la Ts tuvo un efecto significativamente negativo sobre las tres propiedades de hidratación (WRC, WHC y SC), cuando se utilizó microondas (**Tabla 4**) por lo cual para mejorar estas propiedades debería utilizarse bajas temperaturas de secado. El efecto negativo de la Ts también fue reportado por Garau et al. (2007) durante la deshidratación de fibra dietaria de subproductos de naranja. Finalmente, la interacción entre los factores t y Te, afectaron significativamente y de forma negativa las propiedades WRC y OHC para la deshidratación por convección. Se detectaron efectos de bloque sólo para la densidad y WRC. Estos efectos de bloque pueden ser asociados con las condiciones ambientales. Debido a que los mecanismos de secado involucran transferencia de agua entre el CFD y el aire circundante, las condiciones de humedad relativa del aire tienen un efecto importante en la fuerza impulsora durante la transferencia de masa y probablemente en algunas de las propiedades del producto final.

En general, las propiedades de hidratación y OHC, presentarían mejores valores cuando se utilizan altas E/M y bajas Ts si el método de secado es el de microondas (**Tabla 4**). El tratamiento directo de tejidos vegetales con etanol caliente produce el aislamiento del material de la pared celular (Renard 2005). Sin embargo la glucosa libre o los compuestos de bajo peso molecular, pueden permanecer en el producto (de Escalada Pla et al. 2010). A consecuencia de ello, puede ocurrir daño de la matriz cuando el secado es realizado a altas temperaturas debido al colapso de los poros y el encogimiento de los tejidos en presencia de azúcares de bajo peso molecular (Gerschenson et al. 1981). Posiblemente, un alta E/M podría ayudar a la eliminación de agua y azúcares solubles de bajo peso molecular mientras que al mismo tiempo, bajas Ts podrían reducir el colapso de la matriz.

Es importante remarcar que los valores reportados para las diferentes propiedades así como para el rendimiento (Tabla 1) de los CFD deshidratados por convección de aire caliente, fueron del orden de los reportados por de Escalada Pla et al. (2012), para CFD de cáscara o pulpa de durazno tratados con etanol (E/M 350/100 mL/g y 15 minutos de agitación) y deshidratados a 30°C durante 7 horas por convección de aire. Los valores de WRC y OHC, en todos los casos, fueron ligeramente mayores que los valores reportados en fibra dietaria obtenida del bagazo de durazno por Grigelmo-Miguel et al. (1999).

#### Análisis de correlación entre las propiedades de los CFD

El coeficiente de correlación de Pearson, oscila entre -1 (dependencia negativa) a +1 (dependencia positiva) y mide la fuerza de la relación lineal de las variables. En las **Tablas 5** y **6** se resumen los resultados del análisis de correlación entre las propiedades. Además, se muestra en paréntesis, la significancia estadística de las correlaciones, expresada mediante el valor p.

Tabla 5. Resumen del análisis de correlación entre las propiedades del CFD deshidratado por convección.

|          | Densidad  | OHC        | SC         | WHC        | WRC        |
|----------|-----------|------------|------------|------------|------------|
|          | (g/ml)    | (g/g)      | (ml/g)     | (g/g)      | (g/g)      |
| Densidad | 1         | -0,3637    | -0,2641    | -0,0018    | -0,6642    |
| (g/ml)   | 1         |            |            |            | (p<0,001)  |
| OHC      | -0,3637   | 1          | 0,1942     | 0,1260     | 0,5249     |
| (g/g)    |           | 1          |            |            | (p < 0.05) |
| SC       | -0,2641   | 0,1942     | 1          | 0,8991     | 0,3657     |
| (ml/g)   |           |            | 1          | (p<0,0001) |            |
| WHC      | -0,0018   | 0,1260     | 0,8991     | 1          | 0,2481     |
| (g/g)    |           |            | (p<0,0001) | 1          |            |
| WRC      | -0,6642   | 0,5249     | 0,3657     | 0,2481     | 1          |
| (g/g)    | (p<0,001) | (p < 0.05) |            |            | 1          |

**Tabla 6.** Resumen del análisis de correlación entre las propiedades del CFD deshidratado por microondas.

|                    | Densidad             | ensidad OHC SC WHC    |                      | WHC                  | WRC                  |
|--------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                    | (g/ml)               | (g/g)                 | (ml/g)               | (g/g)                | (g/g)                |
| Densidad<br>(g/ml) | 1                    | -0,7538<br>(p<0,0001) | -0,2033              | -0,1177              | -0,0186              |
| OHC<br>(g/g)       | -0,7538<br>(p<0,0001 | 1                     | 0,3170               | 0,2653               | 0,1952               |
| SC (ml/g)          | -0,2033              | 0,3170                | 1                    | 0,9796<br>(p<0,0001) | 0,8157<br>(p<0,0001) |
| WHC<br>(g/g)       | -0,1177              | 0,2653                | 0,9796<br>(p<0,0001) | 1                    | 0,7651<br>(p<0,0001) |
| WRC<br>(g/g)       | -0,0186              | 0,1952                | 0,8157<br>(p<0,0001) | 0,7651<br>(p<0,0001) | 1                    |

Para ambos métodos de secado, se observó una fuerte correlación positiva entre WHC y SC, lo cual era de esperar ya que cuanta más agua es absorbida por los CFD, mayor será su grado de hinchamiento y viceversa. Además, ambas propiedades son medidas bajo el mismo principio y bajo las mismas condiciones de temperatura y tiempo de hidratación. Para el secado por convección (**Tabla 5**) se observó una correlación negativa entre WRC y la densidad aparente. En la **Tabla 6**, se observa que para los CFD deshidratados por microondas hubo una correlación positiva entre las propiedades WRC y WHC con SC y, además, una correlación negativa entre el OHC y la densidad aparente, lo cual significa que los CFD con mayor densidad aparente tendrán menor capacidad para absorber y retener aceite. Diferentes autores han informado el hallazgo de relaciones entre WHC y OHC, la densidad aparente o el volumen específico (Chau et al. 2004, Guillon y Champ 2000, Prakongpan et al. 2002). Por otra parte, en el trabajo de de Escalada Pla et al. (2010), se reportó que en la fibra dietaria obtenida de residuos del membrillo, la propiedad OHC, dependía de la densidad y de las características micro estructurales del producto.

## **CONCLUSIONES**

Se estudió el efecto de diferentes factores involucrados en la etapa de tratamiento con etanol de bagazo de durazno y el efecto de la temperatura de secado durante la deshidratación por convección con aire caliente o

microondas de concentrados en fibra dietaria. Se midieron dichos efectos sobre las propiedades de hidratación, de absorción de aceite, la densidad aparente y el rendimiento de los concentrados producidos.

Se encontró que, cuando el secado es realizado por convección, los factores tiempo y temperatura de tratamiento con etanol influyen significativamente sobre algunas propiedades, mientras que para el secado por microondas estos mismos factores no fueron significativos sobre ninguna propiedad. El efecto de la relación etanol/ muestra y la temperatura de secado, sobre la capacidad de absorción de aceite y las propiedades de hidratación, se detectó principalmente en las muestras deshidratadas por microondas. Teniendo en cuenta el análisis de los efectos de los factores, se podría inferir que las propiedades de hidratación y absorción de aceite de los CFD deshidratados por microondas mejorarían utilizando mayor relación etanol/muestra y menor temperatura de secado.

Los resultados presentados en esta investigación demuestran que el mecanismo de secado influye directamente sobre las características de las propiedades de los concentrados en fibra dietaria y en particular, el secado con microondas permite obtener concentrados con propiedades que pueden ser moduladas mediante el uso de diferentes relaciones etanol/muestra y temperaturas de secado. Los resultados proporcionan información sobre el efecto del tratamiento de los residuos vegetales sobre las propiedades de los CFD y su potencial uso como ingredientes o aditivos para la industria alimentaria.

## BIBLIOGRAFÍA

Chau CF, Chen CH, Lee MH. 2004. Comparison of the characteristics, functional properties, and in vitro hypoglycemic effects of various carrot insoluble fiber-rich fractions. LWT - Food Science and Technology, 37(2), 155–160.

de Escalada Pla MF, González P, Sette P, Portillo F, Rojas AM, Gerschenson LN. 2012. Effect of processing on physico-chemical characteristics of dietary fibre concentrates obtained from peach (Prunus persica L.) peel and pulp. Food Research International, 49(1), 184–192.

de Escalada Pla MF, Ponce NM, Stortz CA, Gerschenson LN, Rojas AM. 2007. Composition and functional properties of enriched fiber products obtained from pumpkin (*Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret*). LWT - Food Science and Technology, 40(7), 1176–1185.

de Escalada Pla MF, Uribe M, Fissore EN, Gerschenson LN, Rojas AM. 2010. Influence of the isolation procedure on the characteristics of fiber-rich products obtained from quince wastes. Journal of Food Engineering, 96(2), 239–248.

Garau MC, Simal S, Rosselló C, Femenia A. 2007. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. Food Chemistry, *104*(3), 1014–1024.

Gerschenson LN, Bartholomai GB, Chirife J 1981. Structural Collapse and Volatile Retention During Heating and Rehumidification of Freeze-Dried Tomato Juice. Journal of Food Science, 46(5), 1552–1556.

Goñi I, Díaz-Rubio ME, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F. 2009. Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages. Food Research International, 42(7), 840–846.

Grigelmo-Miguel N, Gorinstein S, Martín-Belloso O. 1999. Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. Food Chemistry, 65(2), 175–181.

Guillon F y Champ M. 2000. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. Food Research International, 33(3–4), 233–245.

King DE, Mainous Iii AG, Lambourne CA. 2012. Trends in Dietary Fiber Intake in the United States, 1999-2008. Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics, 112(5), 642–648.

Koç B, Eren İ, Kaymak Ertekin F. 2008. Modelling bulk density, porosity and shrinkage of quince during drying: The effect of drying method. Journal of Food Engineering, 85(3), 340–349.

Latorre ME, de Escalada Plá MF, Rojas AM, Gerschenson LN. 2013. Blanching of red beet (*Beta vulgaris* L. var. conditiva) root. Effect of hot water or microwave radiation on cell wall characteristics. LWT - Food Science and Technology, 50(1), 193–203.

Maskan M. 2001. Drying, shrinkage and rehydration characteristics of kiwifruits during hot air and microwave drying. Journal of Food Engineering, 48(2), 177–182.

Prakongpan T, Nitithamyong A, Luangpituksa P. 2002. Extraction and Application of Dietary Fiber and Cellulose from Pineapple Cores. Journal of Food Science, 67(4), 1308–1313.

Renard CMGC. 2005. Variability in cell wall preparations: quantification and comparison of common

methods. Carbohydrate Polymers, 60(4), 515–522.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo fue apoyado y financiado por la Universidad de Buenos (UBACyT 20020100100726 y 20020130100550BA/ 2014-2017), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2008-38239 y 2013-2088) y el CONICET (PIP 11220090100531 y 11220120100507/2013-2015).



## VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

# Metodología de producción de concentrados en fibra dietaria a partir de subproductos de papaya (Carica papaya L) con propiedades optimizadas

Nieto Calvache J.E <sup>1,2</sup>, Soria M <sup>1,3</sup>, de Escalada Pla M <sup>1,2</sup>, Gerschenson L.N <sup>1,2</sup>

#### **RESUMEN**

Se desarrolló una metodología para la producción de un concentrado en fibra dietaria (CFD) a partir de la pulpa de papaya, mediante un tratamiento con etanol y una posterior deshidratación con microondas. Dicha metodología demostró que el tratamiento con etanol durante 15 minutos, utilizando una relación etanol/muestra de 2,9 ml/g y una deshidratación a 40°C, produce un CFD con propiedades de hidratación y absorción de aceite, un volumen específico y un contenido de fenoles maximizados. Las mismas condiciones de proceso optimizadas para el CFD de pulpa, se utilizaron para obtener un CFD de la cáscara de papaya. Entre los resultados más significativos, se encontró que el CFD de pulpa tenía alta capacidad de hinchamiento, de absorción y retención de agua, en comparación con el CFD de cáscara y que otros productos similares reportados en bibliografía. Así mismo los CFD de pulpa y cáscara, mostraron interesante capacidad de absorción de aceite. Finalmente, el contenido de compuestos fenólicos encontrados en el CFD de cáscara fue el doble de los encontrados en el de pulpa. Estas características muestran que estos concentrados podrían usarse para suplementar alimentos y aportar propiedades nutricionales y funcionales específicas.

Palabras Clave: papaya, microondas, fibra dietaria, superficie de respuesta, propiedades funcionales.

#### **ABSTRACT**

A methodology for the production of a dietary fiber concentrate (DFC) from papaya pulp with optimized properties was developed. The production method included a treatment with ethanol during 15 minutes, using an ethanol/sample ratio of 2,9 ml/g and a subsequent dehydration step with microwaves at 40°C. This method produced a DFC with maximized values of hydration properties, oil absorption and specific volume and also containing phenolic compounds with maximized values. The same optimized process conditions observed for pulp DFC, were used to produce a DFC from peel papaya. Among the most significant results, it was found that pulp DFC had higher hydration properties than peel DFC and other products reported in literature. Likewise, both DFC (pulp and peel) showed interesting oil holding capacity. Finally, the content of phenolic compounds found in peel DFC was twice the one found in pulp DFC. These characteristics show that these concentrates might be used to supplement food and provide specific nutritional and functional properties.

**Keywords**: papaya, microwave, dietary fiber, response surface, functional properties.

#### INTRODUCCIÓN

En Argentina, la producción local de papaya se destina a la elaboración de fruta escurrida (proceso previo a "fruta abrillantada"), conservas, dulces y mermeladas, jugos y otra parte, al comercio informal (Parra 2012). Durante las etapas de transformación de frutos, partes como las cáscaras, semillas e inclusive la pulpa son generadas como subproductos. Estos sobrantes, junto con frutas que luego de la poscosecha no satisfacen los requerimientos de tamaño, forma y/o color para el consumidor o la industria, constituyen una fuente potencial de material para obtener otros productos con propiedades mejoradas. Para la investigación de nuevos materiales o ingredientes para la industria alimentaria, se hace necesaria la caracterización de dichos productos. En este sentido, investigadores como Guillon et al. (2011), resaltan la importancia del estudio de las características funcionales como las propiedades de hidratación y de absorción de aceite en un material alimenticio por su incidencia en aspectos fisiológicos. Por otra parte, otras investigaciones han hecho énfasis en el estudio de la presencia de fitoquímicos como los compuestos fenólicos y carotenoides, por su aporte a

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Godoy Cruz 2290 CABA.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN). Avenida Intendente Güiraldes 2160 CABA.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> INBA (CONICET), Facultad de Agronomía (UBA). Avenida San Martín 4453 CABA.

la prevención de diferentes enfermedades como el cáncer (Liu 2004). El objetivo de este trabajo fue determinar una metodología de producción de un concentrado en fibra dietaria (CFD) a partir de la pulpa de papaya con propiedades optimizadas, mediante un diseño experimental de superficie de respuesta. Además, con las condiciones óptimas producir nuevos lotes de CFD a partir de pulpa y cáscara de papaya con el objeto de comparar sus respectivas propiedades.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### Obtención de concentrados de fibra dietaria

Los concentrados de fibra dietaria (CFD) se obtuvieron mediante el tratamiento de la pulpa de papaya con etanol 96 mL/100mL y a una temperatura de 20°C. Los tiempos de tratamiento y las relaciones etanol/muestra utilizadas fueron de acuerdo a un diseño experimental (**Tabla 1**). Luego del tratamiento con etanol, el residuo obtenido se deshidrató en un equipo de microondas (Ethos Plus, Milestone Italia), trabajando a una potencia máxima de 500W. Se registró la pérdida de peso de la muestra hasta obtener peso constante, además se controló que la actividad de agua final del CFD deshidratado, fuera menor a 0.6 a fin de garantizar la estabilidad microbiológica (Muggeridge y Clay 2001). Finalmente, los concentrados fueron molidos con un molino de uso doméstico (Braun, Argentina) y tamizados con una malla ASTM 40 para obtener partículas con tamaños menores a 420 micrones. Se evaluó el porcentaje de rendimiento, así como las propiedades fisicoquímicas y/o funcionales de los CFD producidos.

## Propiedades de hidratación y de absorción de aceite

Las propiedades de hidratación y absorción de aceite de los CFD, se evaluaron de acuerdo a de Escalada Pla et al. (2010). Las propiedades se nombraron de acuerdo a las siglas usadas en la nomenclatura internacional. Las propiedades de hidratación se expresaron en las siguientes unidades: capacidad de hinchamiento (Swelling capacity, SC) en mL/g, capacidad de absorción de agua (Water holding capacity, WHC), en g/g, capacidad de retención de agua (Water retention capacity, WRC) en g/g, porcentaje de agua retenida (Retention of water, RW) en g/100g, así mismo la capacidad de absorción de aceite (Oil holding capacity, OHC), se expresó como g/g y la fracción soluble en agua (FSA) como g/100g.

#### Propiedades fisicoquímicas

El volumen específico se determinó como el cociente entre el volumen ocupado y la masa de muestra de CFD que ocupa dicho volumen.

El color de los CFD se midió en base a la escala *CIE*Lab y utilizando un fotocolorímetro (Minolta, Japón) bajo un ángulo de observación de 2° y utilizando el iluminante D65.

La actividad de agua de los CFD se determinó utilizando un higrómetro AQUA LAB Series 3 Quick (Start Decagon Devices, Inc., USA), mientras que la humedad fue determinada mediante un analizador de humedad MB45 Ohaus Corporation. Estas determinaciones se realizaron, al menos, por duplicado.

Los compuestos fenólicos fueron evaluados según el método propuesto por Bunzel et al. (2000). Brevemente, ~0,9000g de muestra fueron mezclados con 50 mL de una solución 1 mol/L de NaOH, bajo vacío y en condiciones de protección de la luz, a 25°C durante 18 horas. A continuación, el extracto fue acidificado con 9,5 mL de HCl obteniéndose una solución con pH < 2. Posteriormente, se centrifugó la muestra 15 min a 12000xg (6°C). El sobrenadante se usó para evaluar el contenido de compuestos fenólicos totales usando la técnica del Folin Ciocalteau (Shui y Leong 2006).

## Diseño experimental y análisis estadístico

El proceso de optimización de las propiedades de los CFD, se realizó a través de un diseño de superficie de respuesta, modelo de Box Behnken (Tabla 1). Se evaluó el efecto de 3 variables durante el proceso de producción de los CFD [tiempo de tratamiento con etanol (t), relación etanol/muestra (E/M) y temperatura de secado (Ts)] sobre las propiedades de hidratación (WHC, SC, WRC y RW), OHC, volumen específico, FSA, parámetros de color L\*, a\* b\* y el contenido de compuestos fenólicos. Para la optimización se utilizó la función maximizar cada propiedad o respuesta analizada. Se obtuvieron los coeficientes de la función polinomial que permiten predecir la respuesta de cada propiedad mediante la siguiente función:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i X_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} X_i^2 + \sum_{i< j}^k b_{ij} X_i X_j + e$$

Donde Y es la variable respuesta,  $b_0$  es el valor del intercepto,  $b_i$  (i=1,2,3...k) es el coeficiente de primer orden del modelo,  $b_{ij}$  es el coeficiente de interacción y  $b_{ii}$  representa el coeficiente cuadrático de  $X_i$ .  $X_i$  y  $X_j$ 

son las variables de proceso o factores que influyen sobre las respuestas y el coeficiente *e*, representa el error aleatorio (Betiku y Taiwo 2015).

Finalmente, mediante un análisis multi-respuesta se determinaron las condiciones de t, E/M y Ts necesarias para maximizar de forma conjunta varias de las respuestas estudiadas. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para verificar cuales de los factores tienen efectos significativos (p<0,05) sobre las propiedades analizadas y también para evaluar la proporción de la varianza explicada por el modelo propuesto mediante la determinación del coeficiente  $R^2$ . Además, se verificó que la prueba de falta de ajuste no resultase significativa p>0,05.

La formulación y análisis del diseño experimental se realizó con el programa Statgraphics Centurión XV (02/15/06 V, 2007. StatPoint Inc, Warrenton, Virginia). Las medias de los resultados se compararon (p<0,05) mediante el Test de Tukey.

**Tabla1**. Diseño experimental de superficie de respuesta (Box Behnken)

| t       | E/M     | Ts      |  |
|---------|---------|---------|--|
| (min)   | (ml/g)  | (°C)    |  |
| 15 (-1) | 2 (-1)  | 60 (0)  |  |
| 45 (1)  | 2 (-1)  | 60 (0)  |  |
| 15 (-1) | 5 (1)   | 60 (0)  |  |
| 45 (1)  | 5 (1)   | 60 (0)  |  |
| 15 (-1) | 3,5 (0) | 40 (-1) |  |
| 45 (1)  | 3,5 (0) | 40 (-1) |  |
| 15 (-1) | 3,5 (0) | 80 (1)  |  |
| 45 (1)  | 3,5 (0) | 80(1)   |  |
| 30 (0)  | 2 (-1)  | 40 (-1) |  |
| 30(0)   | 5 (1)   | 40 (-1) |  |
| 30 (0)  | 2 (-1)  | 80 (1)  |  |
| 30 (0)  | 5 (1)   | 80 (1)  |  |
| 30(0)   | 3,5 (0) | 60(0)   |  |
| 30 (0)  | 3,5 (0) | 60 (0)  |  |
| 30 (0)  | 3,5 (0) | 60 (0)  |  |

t: tiempo de tratamiento etanólico, E/M: relación etanol/muestra, Ts: Temperatura de secado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los CFD producidos mediante los tratamientos propuestos por el diseño experimental (Tabla 1) mostraron valores para las propiedades de hidratación entre 33,5±0,4 y 89±2 g/g para WHC, entre 27,1±0,4 y 90,6±0,2 mL/g para SC, entre 31,33±0,02 y 39,5±0,7 g/g para WRC y entre 47±1 y 66,3±0,8 g/100g para RW. Por otra parte, para las propiedades OHC, volumen específico, FSA, y rendimiento, los resultados oscilaron entre 1,02±0,03 y 1,40±0,03 g/g, entre 1,50±0,02 y 1,83±0,02 mL/g, entre 13±1, y 26±2 g/100g y entre 2,44±0,04 y 2,93±0,05 g/100g respectivamente. El color de los CFD osciló entre los valores de 53,665±0,007 y 62,43±0,06 para L\*, entre 26,66±0,02 y 32,29±0,02 para a\* y entre 28,88±0,01 y 44,53±0,05 para b\*. Finalmente, el contenido de compuestos fenólicos osciló entre los valores de 0,368±0,008 y 0,48±0,02 g/100g.

Los coeficientes que describen el polinomio para predecir las diferentes respuestas y su análisis de varianza, se muestran en la **Tabla 2**. Se verificó que el coeficiente R² para las propiedades de hidratación explicó, al menos, un 81% de la variabilidad de estas propiedades. Para OHC, volumen específico, FSA, el parámetro de color b\* y compuestos fenólicos, el porcentaje de la variabilidad explicado mediante el R² fue superior al 79%, mientras que para las coordenadas de color L\* y a\*, se encontraron bajos valores de R² (62% y 64% respectivamente). La prueba de falta de ajuste no fue significativa, indicando que el modelo utilizado fue adecuado para explicar los datos observados con un nivel de confianza del 95%.

Se observó que las propiedades WHC y SC (**Tabla 2**), fueron significativamente (p<0,01) afectadas y de forma negativa, por la Ts, por su coeficiente cuadrático y por la interacción entre Ts y E/M. Probablemente, el uso de altas temperaturas de secado y la presencia de azúcares libres debido a bajas E/M, promuevan fenómenos de colapso y encogimiento del tejido (Gerschenson et al. 1981), los cuales afectarían la porosidad del producto final, obteniéndose una baja capacidad de rehidratación (Sagar y Suresh Kumar 2010).

#### VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

En la **Tabla 2**, también se puede observar una tendencia similar para las propiedades WRC y RW, las cuales fueron afectadas significativamente y de forma negativa por la *Ts* y de forma positiva por la interacción entre *E/M* y *Ts*. En estudios realizados por Garau et al. (2007), se encontró que el incremento de la temperatura (secado con aire caliente) para la deshidratación de fracciones de fibra dietaria provenientes de la pulpa y la cáscara de naranja, promovía un fuerte decaimiento de la WRC y ello se atribuyó, en parte, a una posible degradación térmica de polisacáridos hidrofílicos presentes en la fibra, además de a los fenómenos de colapso y encogimiento (Kivelä 2011).

La propiedad OHC, sólo fue afectada significativamente y de forma positiva, por el coeficiente cuadrático correspondiente al tiempo de tratamiento (**Tabla 2**). La habilidad de un material para retener aceites, se ha asociado con las propiedades de superficie, la densidad de carga global, la estructura y la naturaleza hidrofílica de sus constituyentes (Elleuch et al. 2011), las cuales se ven afectadas por el historial de procesamiento.

Las propiedades volumen específico y FSA, al igual que los parámetros de color (L\* y a\*) no presentaron efectos significativos (p<0,05) de los factores considerados (Tabla 2).

La coordenada de color  $b^*$ , representa el rango de colores que oscila del azul (valores negativos de  $b^*$ ) al amarillo (valores positivos de  $b^*$ ). En la **Tabla 2**, se observa un efecto significativamente (p<0,01) negativo de E/M sobre este parámetro de color, lo cual significa que, para mayores cantidades de etanol, se produce una mayor pérdida del color, probablemente debido a la pérdida de compuestos como carotenoides característicos del fruto y que pueden ser solubilizados en la etapa del tratamiento con etanol. Craft y Soares (1992), reportaron valores de solubilidad en etanol para compuestos como el  $\beta$ -caroteno, de 30 mg/L y este compuesto ha sido reportado como presente en la papaya por Gayosso-García Sancho et al. (2011).

Finalmente, se encontró que los polifenoles se vieron afectados (p<0,01), de forma negativa por E/M, y de forma positiva por t y Ts. El efecto negativo de E/M, se puede asociar a una solubilización de polifenoles en la solución del tratamiento etanólico. El etanol es un solvente comúnmente usado como extractante para el análisis y cuantificación de compuestos fenólicos (Spigno et al. 2007). El efecto positivo de la Ts, puede ser atribuido, a una reducción importante de los tiempos de secado producto del incremento en la temperatura, lo cual podría contribuir a la inactivación de la actividad enzimática residual, como por ejemplo la de la enzima polifenol oxidasa. Este efecto positivo de la temperatura de secado fue también encontrado por Madrau et al. (2009), para el secado de albaricoques con aire caliente y a diferentes temperaturas.



# VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

Tabla 2. Coeficientes de la función polinomial que describen las respuestas analizadas.

|                              | WHC             | SC                 | WRC             | RW                  | OHC              | VE               | FSA            | L*                  | a*              | b*              | CF                      |
|------------------------------|-----------------|--------------------|-----------------|---------------------|------------------|------------------|----------------|---------------------|-----------------|-----------------|-------------------------|
|                              | (g/g)           | (mL/g)             | (g/g)           | (g/100g)            | (g/g)            | (mL/g)           | (g/100g)       | T.                  | a ·             | U ·             | (g/100g)                |
| Término<br>independient<br>e | 349,836         | 362,603            | 51,5122         | 104,089             | 1,62194          | 2,20027          | -15,6334       | 69,9811             | 26,9731         | 73,6193         | 0,438221                |
| A: (t)                       | -1,2052         | -0,704462          | 0,142909        | 0,591542            | -0,0297402       | -0,0200439       | 0,0836197      | -0,310111           | 0,281167        | -0,187139       | 0,000640899             |
| B (E/M)                      | -19,2758        | -20,4785           | -2,11247        | -5,27856            | 0,000308495      | -0,0123429       | 10,5539        | 0,295556            | 2,17653         | -10,8394**      | -0,03808**              |
| C: (Ts)                      | -7,53649**      | -<br>8,16464*<br>* | -0,399032*      | -1,37266*           | -0,00206179      | -0,00986313      | 0,369733       | -0,295042           | -0,121927       | -0,305219       | 0,00213839**            |
| AA                           | 0,0218994       | 0,020147<br>9      | 0,00091356<br>6 | -<br>0,0086490<br>7 | 0,000523586      | 0,000424373      | 0,0027134<br>9 | 0,0053583<br>3      | -0,003975       | 0,00086759<br>3 | 0,0000864457*<br>*      |
| AB                           | 0,114662        | 0,140832           | 0,0395107       | 0,0578889           | 0,00268987       | 0,00240821       | -0,132611      | 0,0807222           | -0,0573333      | -0,027          | -0,000217851            |
| AC                           | -<br>0,00687169 | -<br>0,013853<br>3 | -<br>0,00310614 | -<br>0,0038958<br>3 | -<br>0,000182084 | -<br>0,000194056 | 0,0033003<br>2 | -<br>0,0047208<br>3 | 0,00293333      | 0,00336667      | -<br>0,0000948842*<br>* |
| BB                           | -2,25859        | -2,5845            | -0,463199       | -0,949907           | -0,0286281       | -0,0263473       | -0,372181      | -0,803056           | -0,0202778      | 0,911759*       | 0,00798549              |
| BC                           | 0,483097**      | 0,525616<br>*      | 0,0782634*      | 0,166125*           | 0,00181899       | 0,00180142       | -<br>0,0383442 | 0,0557083           | -0,0172083      | 0,014375        | -0,0000281692           |
| CC                           | 0,0431927*<br>* | 0,048387<br>*      | 0,00119262      | 0,0057786<br>5      | 0,000026685<br>2 | 0,000090726<br>5 | -<br>0,0020875 | 0,0020078<br>1      | 0,00073593<br>7 | 0,0014224       | -<br>0,00000122849      |
| $\mathbb{R}^2$               | 91,91           | 91,87              | 81,10           | 92,94               | 95,11            | 79,28            | 85,57          | 62,19               | 63,87           | 98,81           | 84,18                   |
| Falta de ajuste (P)          | 0,0610          | 0,0923             | 0,1568          | 0,2007              | 0,4873           | 0,4592           | 0,6885         | 0,7774              | 0,9512          | 0,1886          | 0,0753                  |

A (t): tiempo de tratamiento etanólico,

WHC: Capacidad de absorción de agua, SC: Capacidad de hinchamiento, WRC: Capacidad de retención de agua, RW: Porcentaje de agua retenida, OHC: Capacidad de absorción de aceite, FSA: Fracción de solidos solubles en agua, VE: Volumen específico, CF: Compuestos fenólicos.

B (E/M): relación etanol/muestra,

C (Ts): Temperatura de secado.

Niveles de significancia aceptados ( $\alpha$ ): \*0,05; \*\*0,01.

## Resumen de la etapa de optimización por superficie de respuesta.

En la **Tabla 3** se resumen las condiciones de procesamiento (*t*, *E/M*, *Ts*) estimadas estadísticamente para obtener propiedades maximizadas.

**Tabla 3.** Resumen individual del análisis de superficie de respuesta.

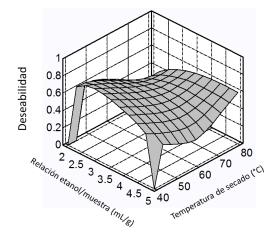
| Propiedad                     | Tiempo de   | Relación       | Temperatura | Valor estimado   |
|-------------------------------|-------------|----------------|-------------|------------------|
|                               | Tratamiento | etanol/muestra | de secado   | estadísticamente |
| WHC (g/g)                     | 44,99       | 2,00           | 40,00       | 96,71            |
| SC (mL/g)                     | 45,00       | 2,03           | 40,00       | 100,91           |
| WRC(g/g)                      | 45,00       | 3,02           | 40,00       | 40,67            |
| RW (g/100g)                   | 31,87       | 2,00           | 40,00       | 66,15            |
| OHC(g/g)                      | 15,00       | 3,33           | 80,00       | 1,38             |
| Volumen específico (mL/g)     | 45,00       | 3,19           | 40,00       | 1,83             |
| FSA (g/100g)                  | 15,00       | 5,00           | 54,57       | 25,95            |
| b*                            | 15,00       | 2,00           | 40,00       | 45,38            |
| Compuestos fenólicos (g/100g) | 15,00       | 4,99           | 80,00       | 0,50             |

WHC: Capacidad de absorción de agua, SC: Capacidad de hinchamiento, WRC: Capacidad de retención de agua, RW: Porcentaje de agua retenida, OHC: Capacidad de absorción de aceite, FSA: Fracción de solidos solubles en agua.

Se observó que para las propiedades de hidratación (WHC, SC, WRC y RW) hay una tendencia similar en las condiciones adecuadas para la optimización, es decir que para optimizarlas es necesario utilizar bajas relaciones etanol/ muestra y un alto tiempo de tratamiento, así como bajas temperaturas de secado. Las demás propiedades mostraron diferentes condiciones de proceso para maximizar sus resultados. Este análisis es de gran utilidad porque se obtiene, de forma individual, las condiciones de proceso adecuadas para obtener el valor máximo de cada propiedad, con lo cual la elección de la forma de procesamiento dependerá de la(s) propiedad(es) que se desee(n) optimizar.

En esta investigación se planteó a posteriori una optimización multi-respuesta. Las propiedades que se incluyeron para este análisis, fueron: WHC, SC, WRC, RW, OHC, volumen específico, FSA, el parámetro de color b\* y los compuestos fenólicos, debido a su importancia en cuanto a la calidad del producto y además porque fueron las propiedades que presentaron los mejores valores de R<sup>2</sup>.

El análisis multi-respuesta, sugirió para la etapa de producción de los CFD una E/M de 2,9 mL/g y un t de 15 minutos, mientras que para la etapa de secado la Ts, propuesta fue de  $40^{\circ}$ C. Para estas condiciones de proceso la función deseabilidad del análisis obtuvo un valor de d=0,82. El rango de la función deseabilidad (d) oscila entre d=0 para una respuesta completamente indeseable y d=1 para una respuesta completamente deseable (Bezerra et al. 2008). En la **Figura 1**, se puede observar, a modo de ejemplo, la superficie multi-respuesta del efecto de la Ts y la E/M sobre la función deseabilidad.



**Figura 1.** Análisis multi-respuesta para optimizar 9 de las propiedades estudiadas.

Con el objetivo de verificar los resultados que se estimaron estadísticamente para cada propiedad, se produjo un nuevo lote de CFD de pulpa de papaya, utilizando las condiciones de proceso optimizadas estadísticamente por el proceso multi-respuesta. Adicionalmente, estas mismas condiciones de proceso, se utilizaron para producir un CFD a partir de la cáscara de la papaya, aprovechando también otro de los subproductos del procesamiento. Los resultados estimados estadísticamente para el CFD de pulpa de papaya, así como los experimentales para ambos CFD (pulpa y cáscara), se presentan en la **Tabla 4**.

**Tabla 4.** Valores estimados mediante el análisis multi-respuesta para el CFD de pulpa y valores experimentales encontrados para las propiedades de los CFD de pulpa y cáscara.

| experimentales encontrados para las propredades de 10s er B de purpa y cascara. |                                    |                                       |                                       |  |  |  |  |
|---|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|--|--|--|
| Propiedad   | Valores estimados estadísticamente | Valores encontrados experimentalmente | Valores encontrados experimentalmente |  |  |  |  |
|   | Para el CFD de pulpa               | Para el CFD de                        | Para el CFD de                        |  |  |  |  |
|   | rara er CFD de purpa               | pulpa                                 | cáscara                               |  |  |  |  |
| WHC $(g/g)$   | 86,39                              | $90,7 \pm 0,9$                        | $27 \pm 1$                            |  |  |  |  |
| SC (mL/g)   | 85,11                              | $84,0 \pm 0,9$                        | $20,3 \pm 0,2$                        |  |  |  |  |
| WRC $(g/g)$   | 38,31                              | $30,4 \pm 0,4$                        | $21 \pm 2$                            |  |  |  |  |
| RW (g/100g)   | 61,52                              | $46,3 \pm 0,7$                        | $39 \pm 2$                            |  |  |  |  |
| OHC $(g/g)$   | 1,23                               | $1,20 \pm 0,01$                       | $1,37 \pm 0,03$                       |  |  |  |  |
| Volumen específico (mL/g)   | 1,68                               | $1,64 \pm 0,01$                       | $1,921 \pm 0,006$                     |  |  |  |  |
| FSA (g/100g   | 16,90                              | $24 \pm 2$                            | $15 \pm 1$                            |  |  |  |  |
| b*  | 39,84                              | $37,61 \pm 0,04$                      | $38,78 \pm 0.03$                      |  |  |  |  |
| Compuestos fenólicos (g/100g)   | 0,44                               | $0,47 \pm 0,03$                       | $0,99 \pm 0,03$                       |  |  |  |  |

WHC: Capacidad de absorción de agua, SC: Capacidad de hinchamiento, WRC: Capacidad de retención de agua, RW: Porcentaje de agua retenida, OHC: Capacidad de absorción de aceite, FSA: Fracción de solidos solubles en agua.

En general los resultados que se obtuvieron experimentalmente para el CFD de pulpa, se acercaron a los estimados estadísticamente, demostrando que los modelos estadísticos utilizados para predecir las respuestas estudiadas, fueron adecuados.

El CFD de cáscara mostró un mayor rendimiento (8,8 g/100g de tejido fresco) que el CFD de pulpa (2,56 g/100g de tejido fresco). El contenido de humedad en los CFD de pulpa y cáscara fue de 8,7 y 6,6 g/100 g respectivamente. Autores como Garau et al. (2007), también reportaron mayores rendimientos en concentrados de fibra dietaria obtenidas a partir de la cáscara de naranja que en las obtenidas de la pulpa. Por otra parte, de Escalada Pla et al. (2012) encontraron rendimientos del orden de 2,6 y 4,6 g/100g tejido fresco, en fracciones de fibra obtenidas a partir de la pulpa y la cáscara del durazno variedad Calred.

Se encontró también que el CFD de pulpa presentó propiedades de hidratación con valores más altos que el CFD de cáscara. Esta tendencia podría ser debida a diferencias estructurales y composicionales de los dos productos (Guillon et al. 2011). La WRC, representa el agua fuertemente retenida por la matriz de fibra luego de ser sometida a fuerzas externas como la centrifugación. Esta propiedad, permite aproximarse al efecto que se observaría en un producto suplementado con estos CFD, en procesos donde el producto sea sometido a fuerzas equivalentes, como por ejemplo en la elaboración de productos de panadería durante las etapas de amasado, o también en productos fluidos, durante las etapas de mezclado y transporte del producto por cañerías.

Es importante resaltar que los valores de las propiedades WHC y SC (**Tabla 4**) que presentan los CFD de pulpa en este trabajo (90,7 g/g y 84,0 mL/g respectivamente), son mucho mayores que las propiedades que se han reportado en productos similares, como por ejemplo en fracciones de fibra dietaria obtenidas a partir del bagazo de durazno variedad Jungold (35 g/g y 31mL/g respectivamente) en los estudios realizados por Nieto Calvache et al. (2015). Esto muestra que el CFD de la pulpa de papaya, posee una muy alta capacidad de absorción de agua y de hinchamiento, lo cual permite inferir que este producto podría incluirse como ingrediente en la formulación de un producto alimenticio donde se requiera un atrapamiento de moléculas de agua para modificar la viscosidad.

También, se encontró en este trabajo que los CFD de pulpa y cáscara presentaron valores para FSA, de 24 y 15 g/100g respectivamente. Estos valores son del orden de los encontrados en fracciones de fibra dietaria obtenida a partir de residuos del durazno y mediante diferentes tratamientos, en estudios realizados por Nieto Calvache et al. (2015), donde se reportaron valores entre 11 y 16 g/100g para esta misma propiedad.

Por otra parte, los CFD de cáscara presentaron valores significativamente (p<0,05) mayores para las propiedades OHC y volumen específico que los CFD de pulpa. Los valores de OHC para los CFD de pulpa y cáscara (1,20 y 1,37 g/g respectivamente) son del orden de los reportados por Gómez-Ordóñez et al. (2010), en aislados de fibra dietaria obtenidos a partir de algas comestibles de la costa noroeste española (1,22 y 1,67 g/g). El color es uno de los atributos sensoriales más importantes a la hora de evaluar la aceptación de un nuevo ingrediente o producto en la industria de alimentos (Tosh y Yada 2010). Como se discutió anteriormente, los diferentes tratamientos con etanol y secado produjeron variaciones en los parámetros de color, lo cual puede ser atribuido a la pérdida de pigmentos durante el tratamiento con etanol, mientras que el oscurecimiento de las muestras pueden ser debido a reacciones de caramelización (Krokida y Maroulis 2007). La concentración de compuestos fenólicos encontrada en el CFD de cáscara (0,99 g/100g) fue casi el doble de la encontrada en el CFD de pulpa (0,47 g/100g). Esta misma tendencia fue observada durante el análisis del tejido fresco de cascara y pulpa de papaya variedad Maradol, en los trabajos realizados por Rivera-Pastrana et al. (2010). En otras investigaciones, realizadas por Saura-Calixto et al. (2007) y por Hervert-Hernández et al. (2011), se han informado valores promedio de polifenoles de 0,538 y 0,742 g/100g en muestras deshidratadas de frutos típicos consumidos en la dieta española y mejicana, respectivamente. La presencia de compuestos fenólicos en un producto alimenticio, es deseable en cuanto se ha reportado que estos compuestos pueden proveer actividad antioxidante tanto en el organismo como en el propio alimento (Wootton-Beard et al. 2011).

#### **CONCLUSIONES**

Se desarrolló una metodología para producir un CFD a partir de la pulpa de papaya con propiedades de hidratación y de absorción de aceite, así mismo con un volumen específico, una fracción soluble en agua, el parámetro de color b\* y compuestos fenólicos optimizados. La técnica de producción desarrollada implicó una etapa de tratamiento con etanol durante 15 minutos, en una relación etanol/muestra de 2,9 mL/g y una temperatura de secado de 40°C. Se extendió la aplicación de esta técnica a la cáscara de papaya.

Entre los resultados más significativos, se encontró que los CFD de pulpa tenían alta capacidad de hinchamiento, de absorción y retención de agua, en comparación con los CFD de cáscara y que otros productos reportados en bibliografía. Así mismo ambos CFD (pulpa y cáscara), mostraron interesante capacidad de absorción de aceite. Finalmente, el contenido de compuestos fenólicos encontrados en el CFD de cáscara fue el doble de los encontrados en el de pulpa. Estas características muestran que estos concentrados podrían usarse para suplementar alimentos y aportar propiedades nutricionales y funcionales específicas.

## BIBLIOGRAFÍA

Betiku E y Taiwo AE. 2015. Modeling and optimization of bioethanol production from breadfruit starch hydrolyzate vis-à-vis response surface methodology and artificial neural network. Renewable Energy, 74, 87–94.

Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escaleira LA. 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. Talanta, 76(5), 965–977.

Bunzel M, Ralph J, Marita J, Steinhart H. 2000. Identification of 4-O-5'-coupled diferulic acid from insoluble cereal fiber. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(8), 3166–3169.

Craft NE y Soares JH. 1992. Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and beta-carotene in organic solvents. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40(3), 431–434.

de Escalada Pla MF, González P, Sette P, Portillo F, Rojas AM, Gerschenson LN. 2012. Effect of processing on physico-chemical characteristics of dietary fibre concentrates obtained from peach (*Prunus persica* L.) peel and pulp. Food Research International, 49(1), 184–192.

de Escalada Pla MF, Uribe M, Fissore EN, Gerschenson LN, Rojas AM. 2010. Influence of the isolation procedure on the characteristics of fiber-rich products obtained from quince wastes. Journal of Food Engineering, 96(2), 239–248.

Elleuch M, Bedigian D, Roiseux O, Besbes S, Blecker C, Attia H. 2011. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. Food Chemistry, 124(2), 411–421.

Garau MC, Simal S, Rosselló C, Femenia A. 2007. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. Food Chemistry, 104(3), 1014–1024.

Gayosso-García Sancho LE, Yahia EM, González-Aguilar GA. 2011. Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya L.*, cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. Food Research International, 44(5), 1284–1291.

Gerschenson LN, Bartholomai GB, Chirife J. 1981. Structural Collapse and Volatile Retention During Heating and Rehumidification of Freeze-Dried Tomato Juice. Journal of Food Science, 46(5), 1552–1556.

Gómez-Ordóñez E, Jiménez-Escrig A, Rupérez P. 2010. Dietary fibre and physicochemical properties of several edible seaweeds from the northwestern Spanish coast. Food Research International, 43(9), 2289–2294.

Guillon F, Champ M, Thibault JF, Saulnier L. 2011. Dietary fibre functional products. En: Saarela M, editor. Functional Foods. 2ª ed. Cambridge: England. Woodhead Publishing. pag 582–622

Hervert-Hernández D, García OP, Rosado JL, Goñi I. 2011. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. Food Research International, 44(5), 1182–1189.

Kivelä R. 2011. Non-enzymatic degradation of  $(1\rightarrow 3)$   $(1\rightarrow 4)$ -beta-D-Glucan in aqueous processing of oats. Recuperado de https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/27303/nonenzym.pdf?sequence=1

Krokida MK, Maroulis ZB. 2007. Effect of microwave drying on some quality properties of dehydrated products.

Drying Technology. Recuperado de

http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07373939908917545

Liu RH. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. The Journal of Nutrition, 134(12), 3479S–3485S.

Madrau MA, Piscopo A, Sanguinetti AM, Del Caro A, Poiana M, Romeo FV, Piga A. 2009. Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of apricots. European Food Research and Technology, 228(3), 441–448.

Muggeridge M y Clay M. 2001. Quality specifications for herbs and spices. En: Peter KV, editor. Handbook of Herbs and Spices, Cambridge: England. Woodhead Publishing. pag 13–21

Nieto Calvache JE, Fissore EN, Latorre ME, Soria M, De Escalada Pla MF, Gerschenson LN. 2015. Obtention of dietary fibre enriched fractions from peach bagasse using ethanol pre-treatment and microwave drying. LWT - Food Science and Technology, 62(2), 1169–1176.

Parra P. 2012. Papaya o Mamón (*Carica papaya*) en Argentina, Panorama de la Cadena Agroindustrial. Recuperado Mayo 11, 2016, de

http://www.minagri.gob.ar/site/desarrollo\_rural/producciones\_regionales/01\_origen\_vegetal/02\_frutas\_tropicales/\_informes/panorama\_papaya\_o\_mamon\_2012.pdf

Rivera-Pastrana DM, Yahia EM, González-Aguilar GA. 2010. Phenolic and carotenoid profiles of papaya fruit (*Carica papaya* L.) and their contents under low temperature storage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(14), 2358–2365.

Sagar VR, Suresh Kumar P. 2010. Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: A review. Journal of Food Science and Technology, 47(1), 15–26.

Saura-Calixto F, Serrano J, Goñi I. 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. Food Chemistry, 101(2), 492–501.

Shui G, Leong LP. 2006. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. Food Chemistry, 97(2), 277–284.

Spigno G, Tramelli L, De Faveri DM. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. Journal of Food Engineering, 81(1), 200–208.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo fue apoyado y financiado por la Universidad de Buenos (UBACyT 20020100100726 y 20020130100550BA/ 2014-2017), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2008-38239 y 2013-2088) y el CONICET (PIP 11220090100531 y 11220120100507/2013-2015).



179

VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

## Cinética de la extracción etanólica del aceite de soja Otero N.<sup>1</sup>, Baümler E.R.<sup>1</sup>, Carelli A.A.<sup>1</sup> y Carrín M.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI, UNS-CONICET), Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur – Camino Carrindanga, km 7- Bahía Blanca - Argentina Dirección de email: noelyotero@plapiqui.edu.ar

#### **RESUMEN**

El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar la efectividad del etanol, en comparación con el solvente convencional (hexano) en la extracción de aceite de soja, determinando su capacidad extractiva y la cinética de extracción y calidad del aceite extraído, evaluando su contenido de tocoles y fosfolípidos. Las extracciones del aceite fueron realizadas utilizando expandidos de soja (collets) desintegrados en un sistema batch a 60°C, utilizando una relación sólido: solvente de 1:10 (g/mL). Si bien la extracción de aceite con etanol resultó igualmente efectiva que la realizada con hexano, las curvas de extracción mostraron diferencias en los tiempos cortos. A partir del ajuste matemático de los datos cinéticos del aceite se obtuvo un valor de coeficiente difusivo para la extracción etanólica un orden de magnitud menor que para hexano. El etanol mostró mayor capacidad de extracción de los fosfolípidos, siendo fosfatidilcolina (PC) y ácido fosfatídico (PA) los mayoritarios. El contenido total de tocoles no mostró diferencias significativas al final de la extracción con ambos solventes.

Palabras clave: Extracción por solvente, aceite de soja, etanol, tocoles, fosfolípidos.

#### **ABSTRACT**

The main aim of this work was to evaluate the effectiveness of using ethanol, in comparison with the conventional solvent (hexane), to extract soybean oil by determining its extractive capacity and the extraction kinetics and quality of the extracted oil, evaluating its tocols and phospholipids content. The oil extractions were performed using disintegrated soybean expanded (collets) in a batch system at 60°C, using a solid: solvent ratio of 1:10 (g/mL). Although the extraction of oil with ethanol was equally effective than that carried out with hexane, the extraction curves showed differences in the short times. From the mathematical adjustment of the oil kinetic data, a diffusive coefficient value for the ethanolic extraction an order of magnitude lower than for hexane was obtained. Ethanol showed higher capacity for extracting phospholipids, being phosphatidylcholine (PC) and phosphatidic acid (PA) the majorities. The total tocols content did not show significant differences at the end of the extraction with both solvents.

**Keywords:** soybean oil, ethanol, solvent extraction, tocols, phospholipids.

## **INRODUCCIÓN**

En el proceso convencional de extracción de aceite de soja, se utiliza como solvente una mezcla de hidrocarburos denominada "hexanos" por su gran capacidad extractiva y bajo costo. La velocidad de extracción y el rendimiento obtenido utilizando este solvente es mayor que el resultante de la utilización de n-hexano de alta pureza, debido posiblemente a la presencia de metilpentano en el primero (Johnson y Lusas 1983, Johnson 1997). Como consecuencia de que estos hidrocarburos son altamente inflamables y provienen de fuentes no renovables, su sustitución por solventes alternativos, tales como etanol e isopropanol, resulta de gran interés. Estudios previos han demostrado que los alcoholes logran rendimientos de aceite de soja comparables con los obtenidos utilizando hexano y considerando que la harina de soja es el producto principal del proceso, además se obtienen harinas de mejor calidad (Johnson y Lusas 1983, Lusas et al. 1997, Gandhi et al. 2003, Seth et al. 2007, Sawada et al. 2014). Sin embargo, la mayoría de estos trabajos científicos no tienen en cuenta la baja selectividad que los alcoholes poseen por los triglicéridos y como resultado, los rendimientos de aceite (principalmente triglicéridos) informadosno son completamente precisos al reportar rendimientos del material total extraído sin discriminación de los componentes. Es así que en la actualidad existe poca información acerca de la composición detallada de los extractos obtenidos.

Ha sido informado que al utilizar etanol junto con el aceite, se extraen otros compuestos como fosfátidos, ácidos grasos libres, polifenoles, pigmentos y azúcares solubles (Hron et al. 1982, Hron et al. 1994, Sineiro et al. 1996, Toda et al. 2016).

El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar la efectividad del etanol, en comparación con el solvente convencional (hexano) en la extracción de aceite de soja, determinando su capacidad extractiva y la cinética de extracción y calidad del aceite extraído, evaluando su contenido de tocoles y fosfolípidos.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

# Caracterización de la materia prima

Todas las determinaciones experimentales fueron realizadas utilizando expandidos de soja (collets) desintegrados provistos por una empresa local, los cuales fueron almacenados a 4°C protegidos de la luz. El contenido inicial de aceite y la humedad se determinaron según normas IUPAC 1.121 y 1.122, respectivamente (Paquot y Hautfenne 1992). El tamaño de partícula del collet desintegrado de soja se determinó como el promedio ponderado de los diámetros obtenidos a partir del procesamiento de imágenes mediante el programa ImageJ® (2012).

# Ensavos de extracción

La extracción etanólica del aceite de soja se realizó con etanol anhidro (Dorwil) grado analítico. Asimismo, a modo comparativo se realizaron extracciones de aceite utilizando hexanos (Dorwil, rango de ebullición 62-70°C) grado analítico.

El rendimiento máximo de extracción utilizando etanol y hexanos se determinó por Soxhlet. Las extracciones fueron realizadas en un sistema batch utilizando balones de 200 mL provistos de agitación magnética a una temperatura de 60°C y distintos tiempos de extracción (5, 10, 30, 90, 300 y 960 min). Para las extracciones se empleó una relación sólido: solvente de 1:10 (g/mL). Para prevenir la presurización del sistema y pérdidas de solvente por evaporación se colocaron tubos refrigerantes en la parte superior de los balones. La micela obtenida después de cada extracción se filtró para separarla del sólido y finalmente se desolventizó bajo vacío a 60°C usando un evaporador rotativo. En el caso de las extracciones etanólicas dicho desolventizado fue parcial y la micela concentrada se fraccionó en dos fases: i) fracción soluble en n-hexano conteniendo el aceite y ii) fracción insoluble en n-hexano conteniendo el resto de los compuestos extraídos (extracto desgrasado) a través de ciclos consecutivos de lavado/centrifugado con n-hexano (Aberkon Química). Las fases se colectaron en frascos previamente pesados, donde posteriormente se eliminaron los restos de solvente bajo corriente de nitrógeno. El extracto desgrasado fue liofilizado para remover el agua residual. Finalmente, tanto el aceite extraído como el extracto desgrasado fueron pesados. Cada ensayo se realizó por duplicado.

# Determinación del contenido de fosfolípidos

La determinación del contenido de fosfolípidos (PL) en el aceite se realizó mediante enriquecimiento utilizando cartuchos de extracción de fase sólida diol de 0,500 gramos (J.T. Baker Inc., Phillipsburg, NJ, EE.UU.) y posterior análisis por HPLC-UV (Carelli et al. 1997). El sistema cromatográfico consistió en un cromatógrafo líquido WATERS 600, equipado con una columna Nucleosil 50-5 (250x4,6 mm, 5 μm de tamaño de partícula, Macherey-Nagel) y detector UV (WATERS PDA 996) operado a λ=206 nm. Como fase móvil se empleó hexano: isopropanol: buffer de acetato en relación 8:8:1 (v: v: v), con un flujo de 2 mL/min. El programa de procesamiento de datos utilizado fue Empower 2 (Shimadzu, Japón). La cuantificación de los fosfolípidos individuales se realizó por el método del estándar externo. Los patrones de fosfolípidos fueron adquiridos en SIGMA: PE (L-α-fosfatidiletanolamina, proveniente de soja, 98%, #P8193), PI (L-α-fosfatidilinositol, proveniente de soja, 48%, 489511). Se prepararon soluciones de los mismos en concentraciones de 0,1 a 4 mg/mL a fin de construir las curvas de calibrado. Las determinaciones cromatográficas fueron realizadas por duplicado.

# Determinación del contenido de tocoles

El contenido de tocoles del aceite fue determinado según la norma AOCS Ce 8-89 (Firestone 2009). Se utilizó un cromatógrafo líquido WATERS 600, equipado con una columna Nucleosil Si-100A (250x4,6 mm, 5  $\mu$ m de tamaño de partícula, Phenomenex, USA) y detector de fluorescencia, (Waters 2475) operando a  $\lambda_{excitación}$ =290 nm y  $\lambda_{emisión}$ =330 nm. Como fase móvil se empleó hexano: isopropanol en relación 99,5:0,5 (v:v), con un flujo de 1 mL/min. El programa de procesamiento de datos utilizado fue Empower 2 (Shimadzu, Japón). La identificación de todos los tocoles se realizó comparando los tiempos de retención

# Cinética de extracción

El modelo matemático utilizado para estudiar el proceso de extracción del aceite consideró que dicho proceso tiene lugar en dos etapas definidas por la velocidad con la que se extraen los componentes, una inicial donde el aceite libre es "lavado" rápidamente y una segunda donde la extracción es controlada por un mecanismo difusivo (Pérez et al. 2011). El modelo cinético se basa en la ley de difusión de Fick en estado no estacionario.

$$\frac{M_t}{M_{inf}} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} A_n \exp(-B_n t) \quad (1)$$

Donde los términos  $M_t$  and  $M_{inf}$  representan la masa de material extraído que difunde en el tiempo t y tiempo *infinito*, respectivamente.  $A_n$  y  $B_n$  son parámetros del ajuste que dependen de la geometría de la partícula (Crank 1975).

Para un tiempo prolongado, la Ec. 1 puede ser simplificada:

$$\frac{M_t}{M_{inf}} = 1 - A \exp(-B_1 t) \quad (2)$$

Donde el coeficiente A se define a partir de la siguiente ecuación:

$$A = \left(1 - \frac{M_0}{M_{inf}}\right) A_1 \exp(B_1 t_0) \quad (3)$$

Siendo  $M_0$  la masa del material extraído al finalizar la etapa de lavado y  $t_0$  el tiempo respectivo. Para partículas de geometría esférica, los parámetros  $A_1$  y  $B_1$  se obtienen de las siguientes ecuaciones (Crank 1975):

$$A_1 = \frac{6}{\pi^2} B_1 = \frac{D_e \pi^2}{R^2}$$
 (4)

Siendo R el radio promedio de las partículas y D<sub>e</sub> el coeficiente difusivo efectivo.

La expresión simplificada del modelo cinético (Ec. 2) se utilizó para ajustar, mediante regresión no lineal (Systat Software 2008, versión 11.0), los datos experimentales obtenidos a partir de la extracción etanólica del aceite, del extracto desgrasado y de la extracción realizada utilizando hexanos como solvente.

# Análisis estadístico

Para evaluar la existencia de diferencias entre los valores obtenidos en las distintas determinaciones se realizó en cada caso un análisis de la varianza (ANOVA) usando el programa InfoStat (Di Rienzo et al. 2011). Se utilizó el test de Fisher con un nivel de significancia del 5%. Los resultados se presentan como el valor promedio (n) ± desvío estándar, n=2.

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La caracterización de los collets de soja utilizados en los ensayos de extracción resultó en: contenido de aceite:  $22,55 \pm 0,04 \%$  b.s., humedad:  $7,64 \pm 0,05 \%$  y diámetro promedio de partícula:  $9,95 \cdot 10^{-2} \pm 1,48 \cdot 10^{-2}$  cm. El rendimiento máximo de extracción (material extraíble total) por Soxhlet utilizando hexanos fue  $23,92 \pm 0,24 \%$  b.s., mientras que utilizando etanol fue  $30,06 \pm 0,86 \%$  b.s.

En relación al efecto del tiempo de contacto en la extracción del aceite de soja, los resultados experimentales para los dos solventes evaluados son presentados en la **Figura 1**. En ambos casos se observa una primera etapa de extracción rápida correspondiente a la etapa de lavado. Se comprobó estadísticamente que los rendimientos del material extraído mediante hexanos y etanol no presentan diferencias significativas después de los 30 min de extracción (p>0,11). Resultados similares han sido reportados respecto a la cinética de material extraído de soja utilizando etanol (Dagostin et al. 2015). Si de todo el material extraído se considera sólo el aceite, se observa que los rendimientos alcanzados con hexanos y etanol no presentan diferencias significativas durante el periodo comprendido entre los 30 a 300 min, aunque finalmente a los 960 min se obtiene mayor rendimiento con hexanos que con etanol, 24,76 ± 0,47 y 22,86 ± 0,27 % b.s., respectivamente.

182

Por otro lado, los rendimientos a los 300 y 90 min, para etanol y hexanos respectivamente, no presentan diferencias significativas con los correspondientes a 960 min (p>0,10). Por lo tanto, se considera que dichos tiempos (300 y 90 min, respectivamente) son suficientes para llegar al equilibrio para la extracción de aceite de soja en cada caso. En función de estos resultados se puede concluir que la extracción de aceite de soja con hexanos y etanol absoluto como solventes resulta igualmente eficaz bajo las condiciones estudiadas.

En la **Tabla 1** se muestran los parámetros A y B y el coeficiente de determinación R<sup>2</sup> obtenidos a partir del ajuste de los datos al modelo cinético. En las **Figuras 2** y **3** se muestra el ajuste de los datos experimentales.

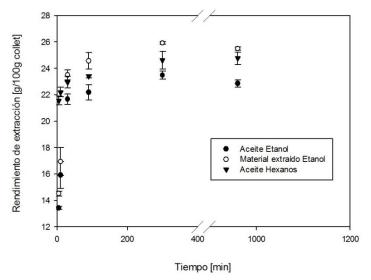


Figura 4. Resultados experimentales de extracción.

**Tabla 1.** Ajuste de los datos experimentales al modelo difusivo.

| Parámetros     |                           | Etanol                    |                           |  |  |  |
|----------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--|--|--|
| de ajuste      | Hexanos                   | Aceite                    | Extracto desgrasado       |  |  |  |
| A              | $0,99 \pm 5,45 \ 10^{-2}$ | $0.96 \pm 4.88 \ 10^{-2}$ | $0.84 \pm 6.03 \ 10^{-2}$ |  |  |  |
| $\mathbf{B}_1$ | $0.37 \pm 4.89 \ 10^{-2}$ | $0,14 \pm 1,28 \ 10^{-2}$ | $0.03 \pm 7.00 \ 10^{-3}$ |  |  |  |
| $\mathbb{R}^2$ | 0,95                      | 0,97                      | 0,92                      |  |  |  |
| <i>p</i>       | < 0,0001                  | <0,0001                   | < 0,0001                  |  |  |  |

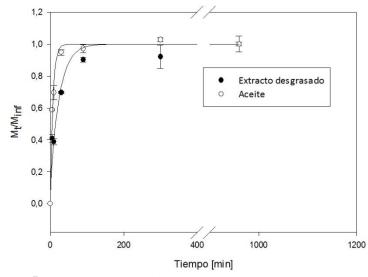


Figura 5. Curvas de extracción utilizando etanol absoluto como solvente.

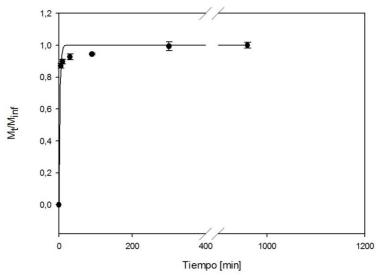
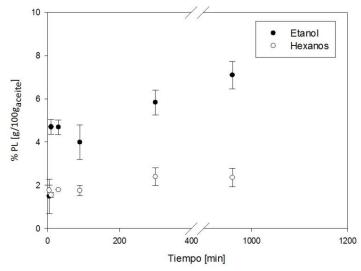


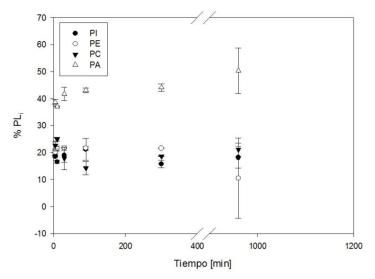
Figura 6. Curva de extracción de aceite de soja utilizando hexanos como solvente.

Los valores de los coeficientes difusivos efectivos ( $D_e$ ) determinados a partir del ajuste del modelo para el aceite y extracto desgrasado extraído con etanol y para el aceite extraído con hexanos fueron: 7,72  $10^{-11}$  m²/s, 1,97  $10^{-11}$  m²/s, 2,08 $10^{-10}$  m²/s, respectivamente. Se puede observar que el coeficiente difusivo para hexanos es un orden de magnitud mayor en comparación a los obtenidos para la extracción etanólica. Resultados similares fueron reportados para extracción etanólica de aceite de soja (Toda et al. 2016).

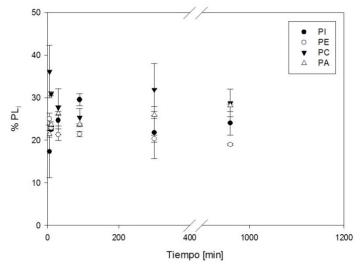
En la **Figura 4** se muestra el contenido total de fosfolípidos en los aceites con los dos solventes analizados en función del tiempo de extracción. Se puede observar que a partir de los 10 min de extracción, el aceite obtenido con etanol presentó mayor concentración de fosfolípidos que el respectivo con hexanos. Más aún, la cantidad de fosfolípidos extraída con etanol fue superior ya que los rendimientos de aceite de ambos solventes no presentaron diferencias significativas en el periodo comprendido entre 30 y 300 min. El contenido de fosfolípidos en el aceite extraído con etanol y hexanos fue de 1,37 ± 0,12 y 0,59 ± 0,08 g/100g<sub>collet</sub> b.s a los 300 min de extracción, respectivamente. Esto demuestra la mayor capacidad del etanol para la extracción de dichos compuestos. En las **Figuras 5** y **6** se muestra el perfil (% relativo) de ácido fosfatídico (PA), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilinositol (PI) y fosfatidilcolina (PC) en los aceites con los dos solventes analizados en función del tiempo de extracción. Los resultados indican que el fosfolípido mayoritario fue PA cuando el aceite fue extraído con hexanos, mientras que en el caso de etanol, en tiempos prolongados de extracción, fueron PC y PA.



**Figura 7.** Contenido de fosfolípidos en el aceite de soja en función del tiempo de extracción y para cada solvente utilizado.



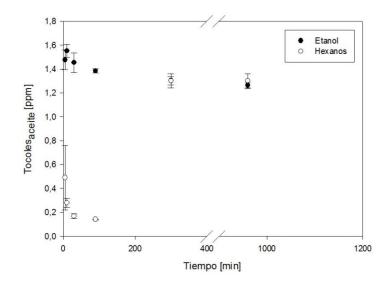
**Figura 5.** Perfil de fosfolípidos en el aceite de soja extraído con hexanos. (PA: ácido fosfatídico, PE: fosfatidiletanolamina, PI: fosfatidilinositol, PC: fosfatidilcolina).



**Figura 6.** Perfil de fosfolípidos en el aceite de soja extraído con etanol. (PA: ácido fosfatídico, PE: fosfatidiletanolamina, PI: fosfatidilinositol, PC: fosfatidilcolina).

Con respecto al contenido de tocoles en los aceites, ambos solventes resultaron igualmente eficaces en la extracción de estos compuestos a tiempos de extracción prolongados (p>0,5) (**Figura 7**). Adicionalmente, la proporción del tocoferol mayoritario (γ- tocoferol) tampoco presentaría diferencias entre los aceites (p>0,08). El etanol extrajo los tocoles con mayor rapidez, ya que el rendimiento de extracción de estos compuestos (g/100g<sub>collet</sub> b.s.) a los 90 min no presentó diferencias estadísticamente significativas con el correspondiente rendimiento obtenido a 960 min (p>0,11), indicando que a los 90 min se llegó al equilibrio de extracción de estos compuestos. En cambio, para hexanos este equilibrio recién se alcanza a los 300 min.





**Figura 7.** Contenido de tocoles en el aceite de soja extraído, en función del tiempo, para cada solvente utilizado.

#### CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que el etanol resulta una alternativa eficiente para la extracción de aceite de soja a partir de collets de soja. Sin embargo, si se compara al etanol con el solvente de referencia para este tipo de proceso extractivo, la condición de equilibrio en la extracción etanólica se alcanzó en tiempos más prolongados que utilizando hexanos. Por otro lado, en cuanto a la calidad del aceite, ambos solventes permitieron obtener productos con similar composición en tocoles, pero el aceite derivado de la extracción etanólica presentó mayor concentración en fosfolípidos en comparación al obtenido con hexanos. En función de esto, posiblemente sea necesario aplicar un proceso de refinación del aceite más exhaustivo en el caso de utilizar etanol como solvente de extracción.

# **BIBLIOGRAFÍA**

Carelli AA, Brevedan MI, Crapiste GH. 1997. Quantitative determination of phospholipids in sunflower oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 74: 511-514.

Crank J. 1975. Diffusion in a Cylinder. The mathematics of diffusion.  $2^{nd}$  ed.New York: Oxford University Press. 69-88.

Dagostin JLA, Carpiné D, Corazza ML. 2015. Extraction of soybean oil using ethanol and mixtures with alkyl esters (biodiesel) as co-solvent: Kinetics and thermodynamics. Industrial Crops and Products, 74: 69-75.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2016. InfoStat, versión 2016, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Firestone D. 2009. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign, AOCS Press.

Gandhi AP, Joshi KC, Jha K, Parihar VS, Srivastav DC, Raghunadh P, Kawalkar J, Jain SK, Tripathi RN. 2003. Studies on alternative solvents for the extraction of oil-I soybean. International Journal of Food Science & Technology, 38: 369-375.

Hron RJ, Koltun SP, Graci AV. 1982. Biorenewable solvents for vegetable oil extraction. Journal of the American Oil Chemists Society, 59: 674A-684A.

Hron RJ, Kuk MS, Abraham G, Wan PJ. 1994. Ethanol extraction of oil, gossypol and aflatoxin from cottonseed. Journal of the American Oil Chemists' Society, 71: 417-421.

Johnson LA. 1997. Theoretical, comparative and historical analyses of alternative technologies for oilseeds extraction. In: Wan P, Wakelyn P (eds). Technology and solvents for extracting oilseeds and nonpetroleum oils. Champaign: AOCS Press. 4-47.

Johnson LA, Lusas EW. 1983. Comparison of alternative solvents for oils extraction. Journal of the American Oil Chemists' Society, 60: 229-242.

Lusas EW, Watkins LR, Koseoglu SS, Rhee KC, Hernandez E, Riaz MN, Johnson JR, Doty SC. 1997. Final report: IPA as an extraction solvent. Inform, 8: 290-292.

Paquot C, Hautfenn A. 1992. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivates. 7<sup>th</sup> ed. Oxford, Blackwell Scientific.

Pérez EE, Carelli AA, Crapiste GH. 2011. Temperature-dependent diffusion coefficient of oil from different sunflower seeds during extraction with hexane. Journal of Food Engineering, 105: 180-185.

Sawada MM, Venâncio LL, Toda TA, Rodrigues CE. 2014. Effects of different alcoholic extraction conditions on soybean oil yield, fatty acid composition and protein solubility of defatted meal. Food Research International, 62: 662-670.

Seth S, Agrawal Y, Ghosh P, Jayas D, Singh B. 2007. Oil extraction rates of soya bean using isopropyl alcohol as solvent. Biosystems Engineering, 97: 209-217.

Sineiro J, Domínguez H, Núñez MJ, Lema JM. 1996. Ethanol extraction of polyphenols in an immersion extractor. Effect of pulsing flow. Journal of the American Oil Chemists' Society, 73: 1121-1125.

Toda TA, Sawada MM, Rodrigues CE. 2016. Kinetics of soybean oil extraction using ethanol as solvent: Experimental data and modeling. Food and Bioproducts Processing, 98: 1-10.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen el financiamiento del trabajo al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET (PIP 2013-20120100243), a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, ANPCyT (PICT 2014-1649) y a la Universidad Nacional del Sur, UNS (PGI 24/M132).



Caracterización química del subproducto obtenido en la extracción etanólica de aceite de soja Otero N.¹, Baümler E.R.¹, Carelli A.A.¹ y Carrín M.E.¹

<sup>1</sup>Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI, UNS-CONICET) – Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur – Camino La Carrindanga, Km 7 – Bahía Blanca – Argentina Dirección de email: <a href="mailto:noelyotero@plapiqui.edu.ar">noelyotero@plapiqui.edu.ar</a>

#### **RESUMEN**

Durante el proceso de extracción etanólica de aceite de soja se extraen junto con el aceite otros compuestos que constituyen un subproducto con posible aplicación industrial. El objetivo del trabajo fue caracterizar químicamente dicho subproducto obtenido a distintos tiempos de extracción. Para ello se realizaron extracciones etanólicas utilizando expandidos de soja (collets) desintegrados, en un sistema batch (60°C, proporción sólido: solvente= 1:10 (g/mL)) a diferentes tiempos de contacto (0-960 min). La micela obtenida, conteniendo la totalidad del material extraído (aceite y otros componentes) se fraccionó usando hexano como solvente. La fracción insoluble en hexano contiene el extracto desgrasado de interés (EDI) al cual se le evaluó el contenido de fosfolípidos, azúcares, proteínas y fibra. Los resultados indicaron que el EDI está compuesto por fosfolípidos y azúcares, siendo estos últimos los mayoritarios (79,59±13,63% b.s. a 960 min). La cantidad de azúcares extraídos aumentó con el tiempo de contacto, llegando a extraerse el 26,73% (960 min) de los azúcares presentes en el collet. Los azúcares mayoritarios fueron sacarosa y estaquiosa, representando más del 70% del total extraído. El contenido de fosfolípidos en el EDI aumentó con el tiempo hasta los 90 min de extracción, decreciendo a mayores tiempos de contacto. Los fosfolípidos detectados fueron fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina y ácido fosfatídico, siendo fosfatidilinositol el mayoritario (66,67±8,51% b.s. a 960 min). Los contenidos de fibra y proteína del collet no fueron modificados por la extracción etanólica. Los resultados demostraron que la extracción etanólica de aceite de soja permite obtener un subproducto rico en azúcares.

Palabras clave: etanol, soja, extracción por solvente, azúcares, fosfolípidos.

#### **ABSTRACT**

During the process of soybean oil ethanol extraction, other compounds are extracted simultaneously with the oil constituting a byproduct with possible industrial application. The aim of this work was to chemically characterize that by-product obtained at different extraction times. To do this, ethanol extractions were carried out using disintegrated soybean expanded (collets) in a batch system (60°C, solido: etanol ratio=1:10 (g/mL)) at different contact times (0-960 min). The obtained miscella, containing the total extracted material (oil and other compounds), was fractionated using hexane as solvent. The hexane-insoluble fraction, that contains the defatted extract of interest (EDI), was assessed for phospholipid, sugars, protein and fiber content. The results indicated that the EDI consisted of sugars and phospholipids, with sugars being the major component (79.59 ± 13.63% d.b. at 960 min). The amount of extracted sugars showed an upward trend over time, reaching 26.73% (960 min) of total sugars present in the collet. Sucrose and stachyose were the predominant sugars (over 70%). The content of phospholipids in the EDI increased with time until the 90 min of extraction, decreasing to greater times of contact. Phosphatidylinositol, phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine and phosphatidic acid were detected, being phosphatidylinositol the majority (66.67 ± 8.51% at 960 min). Protein and fiber contents of the soybean collet were not modified by ethanol extraction. The results demonstrated the possibility of obtaining a byproduct rich in sugars from the ethanol extraction of soybean oil.

**Keywords:** ethanol, soybean, solvent extraction, sugars, phospholipids.

#### INTRODUCCIÓN

La harina de soja desgrasada obtenida después de la extracción de aceite utilizando hexano, aunque es considerada un producto importante debido a su elevado contenido en proteínas, es comúnmente utilizada para alimentación animal. En la industria de alimentos, la utilización de esta harina como sustituto de

proteínas requiere tratamientos preliminares debido a la presencia de lípidos polares y neutros en su composición. El segundo componente mayoritario de la harina desgrasada son los carbohidratos, que incluyen azúcares simples, como glucosa y fructosa, oligosacáridos y polisacáridos. Dentro de los carbohidratos solubles, los oligosacáridos son actualmente los de mayor interés debido a que se les han atribuido propiedades prebióticas (Hayakawa et al. 1990, Roberfroid 1997). La extracción etanólica del aceite de soja es interesante no sólo por su efectividad en la extracción del aceite sino también por su capacidad para extraer otros componentes, tales como fosfátidos, azúcares y saponinas, debido a su naturaleza polar (Arnold y Choudhury 1961, Johnson y Lusas 1983). En comparación con las extracciones que involucran hexano, la menor selectividad del etanol por los triglicéridos no representa una desventaja en el proceso global, debido a que junto con el aceite se extraen otros componentes que pueden representar un subproducto con valor agregado. La utilización de etanol no representaría un aumento en los costos de refinación del aceite dado que la eficacia de la separación de la micela etanólica en frío ha sido comprobada, permitiendo separar el aceite de los compuestos polares retenidos en la fase etanólica (Beckel et al. 1948). Asimismo, la calidad de la harina resultante es mayor, en comparación a la obtenida cuando se utiliza hexano, debido a que presenta mejores características sensoriales (color, sabor) (Johnson y Lusas 1983) y además, es de esperarse una mayor concentración de proteínas debido a la extracción de otros compuestos. En función de esto, a partir de la utilización de etanol como solvente alternativo para la extracción de aceite de soja, se planteó el objetivo de caracterizar químicamente el extracto desgrasado (EDI) obtenido en distintos tiempos de extracción, constituido por los componentes extraídos distintos al aceite.

# MATERIALES Y MÉTODOS

# Caracterización de la materia prima

Todas las determinaciones experimentales fueron realizadas utilizando expandidos de soja (collets) desintegrados provistos por una empresa local, los cuales fueron almacenados a 4°C y protegidos de la luz hasta su utilización. El contenido inicial de aceite y la humedad de los collets se determinó según normas IUPAC 1.121 y 1.122, respectivamente (Paquot y Hautfenne 1992).

# Ensayos de extracción

La extracción etanólica del aceite de soja se realizó con etanol anhidro (Dorwil) de grado analítico. El rendimiento máximo de extracción de EDI utilizando etanol se determinó por Soxhlet. Las extracciones fueron realizadas en un sistema batch, utilizando balones de 200 mL con una relación sólido: solvente de 1:10 (g/mL) a 60°C, a distintos tiempos de extracción (5, 10, 30, 90, 300 y 960 min) a fin de evaluar el comportamiento cinético de los componentes extraídos. La temperatura fue controlada utilizando un baño termostatizado. Para prevenir sobrepresiones y pérdidas de solvente por evaporación se colocaron tubos refrigerantes en la parte superior de los balones. El mezclado sólido/ solvente se realizó por agitación magnética. La micela obtenida después de cada extracción se filtró para separarla del sólido residual (harina) y finalmente el solvente se evaporó parcialmente bajo vacío a 60°C usando un evaporador rotativo. La micela concentrada se fraccionó en dos fases, a través de ciclos consecutivos de lavado/ centrifugado con n-hexano (Aberkon Química): i) fracción soluble en n-hexano conteniendo el aceite, y ii) fracción insoluble en n-hexano conteniendo el resto de los compuestos extraídos (EDI) y que resultan ser los de interés para este trabajo. Las fases se colectaron en frascos previamente pesados, donde posteriormente se eliminaron los restos de solvente bajo corriente de nitrógeno. El EDI fue liofilizado para remover el agua residual. Cada ensayo se realizó por duplicado.

# Análisis de los componentes minoritarios

El contenido de proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN) y azúcares en el EDI se determinó por diferencia entre el contenido inicial de estos componentes en collet y el contenido de los mimos presentes en todas las harinas de soja resultantes de cada extracción etanólica. Por el contrario, el contenido de fosfolípidos fue determinado directamente en los EDI. La elección de las matrices para cada determinación fue realizada en base a las técnicas analíticas utilizadas.

# Análisis de proteína bruta (PB) v fibra detergente neutra (FDN)

El contenido de FDN fue determinado en el collet y en la harina obtenida luego de la extracción en Soxhlet utilizando etanol como solvente, a fin de confirmar que la extracción etanólica no modifica su contenido. En cambio, debido a que la extracción etanólica podría afectar el contenido de PB, el análisis de las mismas se realizó en el collet y en todas las harinas de soja obtenidas luego de cada extracción etanólica. Adicionalmente, se realizó una extracción batch de 960 min utilizando el solvente convencional, hexanos

(Dorwil, rango de ebullición 62-70°C), y se determinó PB en la harina resultante a fin de comparar, utilizando este parámetro, la calidad final obtenida con ambos solventes.

Para realizar estas determinaciones, el material fue molido, con un tamaño máximo de partícula de 1 mm (tamiz estándar de 1 mm), y desgrasado utilizando acetona. El contenido de PB se determinó usando la técnica macro Kjeldahl con un factor de transformación de 6,25 para la conversión de nitrógeno en PB (Horwitz 2000). El método secuencial descripto por Van Soest P (1991) se utilizó para obtener FDN. Los resultados se expresaron en porcentaje en base seca (b.s.). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

# Determinación del contenido y composición de azúcares

El análisis de azúcares fue realizado en el collet y en todas las harinas de soja obtenidas luego de cada extracción etanólica. El procedimiento de preparación de la muestra utilizado fue el descripto por Baümler et al. (2016), basado en las normas AOAC 925.05 (Horwitz 2000), con las modificaciones propuestas por Liu y Markakis (1987).

El contenido de azúcares fue determinado por HPLC-IR. Se utilizó un sistema cromatográfico Alliance e2695 (Waters, EEUU), equipado con una columna Rezex RCM-Monosachharide Ca²+ (Phenomenex, EEUU) de 100x7,8 mm, bucle de inyección de 10 μL y detector de índice de refracción modelo 2414 (Waters, EEUU). Como fase móvil se utilizó agua ultra pura, con un flujo de 0,6 mL/min. La columna y el detector se mantuvieron a 65°C y a 40°C, respectivamente. El programa de procesamiento de datos utilizado fue Empower 2 (Shimadzu, Japón). Los carbohidratos utilizados como estándares fueron: estaquiosa, rafinosa, sacarosa, fructosa, glucosa, ramnosa, galactosa y xilosa.

La identificación de los carbohidratos presentes en las muestras se realizó por comparación de los tiempos de retención con los estándares. El análisis cuantitativo se realizó por comparación de áreas por el método del estándar externo, utilizando como referencia soluciones de los diferentes azúcares en concentraciones de 0,1 a 1 mg/ mL en todos los casos, con excepción de la sacarosa donde se trabajó con concentraciones hasta 3 mg/ mL. En la **Tabla 1** se presentan las curvas de calibración obtenidas para los estándares de los azúcares identificados en las muestras.

**Tabla 7.** Pendiente de la recta de calibrado de estándares de azúcares.

| Azúcar     | Pendiente, b (1) | ${\bf R^{2}}^{(2)}$ |  |  |
|------------|------------------|---------------------|--|--|
| Rafinosa   | 96966            | 0,996               |  |  |
| Sacarosa   | 71784            | 0,987               |  |  |
| Xilosa     | 86789            | 0,999               |  |  |
| Estaquiosa | 94708            | 0,995               |  |  |

 $^{1}$ C<sub>az</sub>=  $A_{az}$ /b; Caz= cantidad del azúcar considerado ( $\mu$ g) presente en el volumen de inyección ( $10~\mu$ L);  $A_{az}$ = área del pico cromatográfico correspondiente;  $^{2}$ R $^{2}$ : coeficiente de determinación.

#### Determinación del contenido y composición de fosfolípidos

Las determinaciones del contenido y composición de fosfolípidos se realizaron en los EDI obtenidos luego de cada extracción etanólica. Los fosfolípidos se identificaron y cuantificaron mediante HPLC-UV, según la norma para lecitinas de soja AOCS Ja 7b-91 (Firestone 2009). Se utilizó un cromatógrafo liquido WATERS 600, equipado con una columna Nucleosil 50-5 (Macherey-Nagel) de 250 x 4,6 mm y 5  $\mu$ m de tamaño de partícula y detector WATERS PDA 996 operando a  $\lambda$ =206 nm.

Los estándares de fosfolípidos utilizados para construir las curvas de calibrado fueron de origen soja: PE (L-α-fosfatidiletanolamina, 98%, #P8193), PI (L-α-fosfatidilinositol, 50%, #P6636), PC (L-α-fosfatidilcolina, 98%, #P7443); y PA (L-α-ácido fosfatídico, 98%, #P9511) proveniente de yema de huevo (Sigma). La cuantificación se realizó por comparación de áreas por el método del estándar externo, utilizando como referencia soluciones de los diferentes fosfolípidos en concentraciones de 0,1 a 4 mg/mL. El programa de procesamiento de datos utilizado fue Empower 2. En la **Tabla 2** se detallan los parámetros resultantes de la regresión lineal realizada en cada caso.



**Tabla 8.** Pendientes de las rectas de calibrado de fosfolípidos (PL).

| Fosfolípido | Pendiente, b (1) | $R^{2(2)}$ |
|-------------|------------------|------------|
| PE          | 3092444          | 0,996      |
| PA          | 1209698          | 0,984      |
| PI          | 1357379          | 0,994      |
| PC          | 3067030          | 0,998      |

<sup>1</sup>C<sub>PL</sub>= b A<sub>PL</sub>; C<sub>PL</sub>= concentración del PL considerado [mg/mL]; A<sub>PL</sub>= área del pico cromatográfico correspondiente; <sup>2</sup>R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación.

#### Análisis estadístico de resultados

Para evaluar la existencia de diferencias entre los valores obtenidos en las distintas determinaciones, se usó un análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 5% usando el test de Fisher. Todos los análisis estadísticos fueron realizados usando el programa InfoStat (Di Rienzo et al. 2016). Los resultados se presentan como el valor promedio (n) ± desvío estándar, con n=2 en todas las determinaciones.

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los collets de soja utilizados en los ensayos de extracción presentaron la siguiente composición: contenido de aceite =  $22,55 \pm 0,04\%$  (b.s.), humedad =  $7,64 \pm 0,05\%$  y azúcares solubles totales =  $7,89 \pm 0,42\%$  (b.s.), donde el perfil de los mismos se presenta en la **Tabla 3**. El rendimiento máximo de EDI utilizando etanol como solvente, obtenido por Soxhlet, fue de  $5,82 \pm 1,80\%$  b.s.

**Tabla 9.** Perfil de azúcares solubles en los collets de soja.

| Azúcar     | %                |
|------------|------------------|
| Estaquiosa | $22,06 \pm 0,31$ |
| Rafinosa   | $7,81 \pm 0,11$  |
| Sacarosa   | $66,12 \pm 5,02$ |
| Xilosa     | $4,01 \pm 0,19$  |

Valores medios ± desviación estándar, n=3

# Cinética de extracción del extracto desgrasado

La cantidad de EDI extraído, en términos de rendimiento de extracción expresados como [g/100gcollet] en base libre de humedad en los diferentes tiempos, no presenta diferencias significativas a partir de los 90 min de extracción. En la **Figura 1** se presentan los resultados experimentales de extracción del extracto desgrasado de soja, EDI, obtenida utilizando etanol a 60°C. Dichos resultados fueron expresados como  $M_t/M_{inf}$  en función del tiempo, donde  $M_t$  y  $M_{inf}$  corresponden a la cantidad de EDI extraída en el tiempo t y tiempo infinito ( $M_{inf} = 2,64 \pm 0,13\%$  (b.s.)) respectivamente. En la figura mencionada se observa una primera etapa, hasta los 90 min, de extracción rápida.



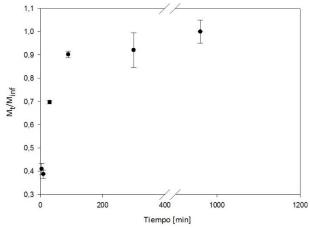


Figura 8. Resultados experimentales de extracción de EDI en el tiempo.

# Análisis de los componentes minoritarios

En las **Tablas 4** y **5** se muestran los resultados de las determinaciones del contenido de proteína y fibra expresados como el contenido de dichos componentes en la harina y collet en base seca, a fin de realizar una comparación entre los mismos. No se observaron diferencias significativas entre los valores determinados de PB (g/100g collet, b.s.) (p=0,5808) ni entre los valores determinados de FDN (g/100g collet, b.s.) (p=0,1982) respecto al contenido de estos componentes en la materia prima inicial; por lo tanto queda demostrado que el etanol no fue capaz de extraer dichos componentes en las condiciones analizadas. Por otro lado, se puede observar que realizando la extracción batch con etanol durante 960 min se obtuvo una harina de similar contenido proteico que al utilizar hexanos (p=0,7845).

Tabla 10. Contenido de proteínas del collet y las harinas obtenidas en distintas condiciones de extracción.

| to contenias as proteinas as contenis in its | ius scieniuus en uistint        | to commendates are em |
|--|---------------------------------|-----------------------|
| Muestras                                     | %PB (g/100g <sub>harina</sub> ) | %PB (g/100gcollet)    |
| Collet                                       |                                 | 38,53 ± 1,11 a        |
| Harinas de extracciones batch                |                                 |                       |
| Con etanol                                   |                                 |                       |
| 5 min  | $45,81 \pm 2,09$                | $39,16 \pm 1,70$ a    |
| 10 min                                       | $48,08 \pm 0,42$                | $39,93 \pm 0,16$ a    |
| <b>30 min</b>                                | $50,485 \pm 0,22$               | $38,61 \pm 0,36$ a    |
| 90 min                                       | $51,65 \pm 0,61$                | $38,96 \pm 0,14$ a    |
| 300 min                                      | $53,43 \pm 0,28$                | $39,58 \pm 0,15$ a    |
| 960 min                                      | $51,56 \pm 1,29$                | $38,41 \pm 0,47$ a    |
| Con hexanos                                  |                                 |                       |
| 960 min                                      | $51,39 \pm 0,72$                | $38,66 \pm 0,43$ a    |
| Harina de extracción Soxhlet con Etanol      | $54,62 \pm 0,48$                | $39,32 \pm 0,56$ a    |

Valores medios  $\pm$  desviación estándar, n=3.

Valores en la misma columna seguidos de letras diferentes son significativamente diferentes (p<0,05)



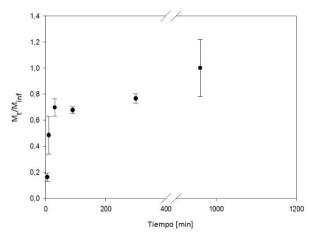
**Tabla 11.** Contenido de FDN en el collet y la harina resultante de extracción Soxhlet con etanol.

| Muestras                                | %FDN (g/100g <sub>harina</sub> ) | %FDN (g/100g <sub>collet</sub> ) |
|---|----------------------------------|----------------------------------|
| Collet                                  |                                  | 10,78 ± 0,38 a                   |
| Harina de extracción Soxhlet con Etanol | $17,52 \pm 0,90$                 | $12,61 \pm 0,92$ a               |

Valores medios ± desviación estándar, n=3.

Valores en la misma columna seguidos de letras diferentes son significativamente diferentes (p<0,05)

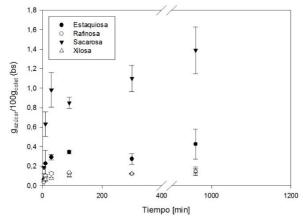
En la **Figura 2** se presenta el contenido de azúcares totales en los EDI, expresados como  $M_t/M_{inf}$ , en función del tiempo. A partir de estos datos, puede observarse que el contenido de azúcares en el EDI aumenta en los primeros tiempos de contacto considerados (5-30 min), demostrando la capacidad del etanol para extraer otros compuestos distintos al aceite. Se determinó que a partir de los 30 min de extracción no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en el contenido total de azúcares en los EDI (p=0,1458), representando el 26,72% de los azúcares totales presentes en el collet (materia prima inicial).



**Figura 9.** Resultados experimentalesdel contenido de azúcares totales en el EDI, expresados como  $M_t/M_{inf}$ , en función del tiempo de extracción.

En la **Figura 3** se presentan los resultados de los azúcares individuales presentes en los EDI, expresados en término de rendimiento de extracción, y en la **Tabla 6** se reportan las cantidades extraídas a 960 min respecto a la cantidad inicial de cada uno en el collet, expresadas como porcentaje. La sacarosa y estaquiosa fueron los azúcares mayoritarios. Por otro lado, xilosa fue el azúcar minoritario pero el más extraído respecto a su cantidad inicial. Con respecto al perfil de azúcares en el tiempo, se observó que tanto la proporción de sacarosa como la de estaquiosa no tuvieron diferencias significativas (p=0,3611 y 0,9126, respectivamente).





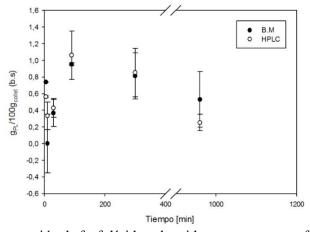
**Figura 10.** Resultados experimentalesdel contenido de azúcares individuales en el EDI, expresados como g<sub>azúcar</sub>/100g<sub>collet</sub>, en función del tiempo de extracción.

**Tabla 12.** Porcentaje de los azúcares individuales extraídos a 960 min, respeto al contenido inicial en el collet.

| Azúcares   | % Extraído       |  |  |  |  |
|------------|------------------|--|--|--|--|
| Estaquiosa | $24,48 \pm 8,75$ |  |  |  |  |
| Rafinosa   | $23,92 \pm 7,29$ |  |  |  |  |
| Sacarosa   | $26,60 \pm 4,58$ |  |  |  |  |
| Xilosa     | $46,65 \pm 8,86$ |  |  |  |  |

Valores medios ± desviación estándar, n=3

En la **Figura 4** se comparan los resultados de los fosfolípidos extraídos obtenidos a partir del análisis cromatográfico y los que resultan de calcular la diferencia entre los gramos de EDI obtenidos y los gramos de azúcares contenidos en cada EDI. Se observa semejanza entre los valores (teniendo en cuenta los desvíos asociados a cada uno), demostrándose que sólo fosfolípidos y azúcares conforman el EDI. En dicha Figura se observa que la extracción de fosfolípidos aumentó en el tiempo hasta los 90 min. Estadísticamente se pudo comprobar que no hay diferencias significativas en la cantidad de fosfolípidos extraídos entre los 90 y 300 min (p=0,6623), pero a los 960 min la cantidad extraída disminuye. Esto no implicaría una disminución en la extracción de fosfolípidos totales desde el collet de soja, sino una migración preferencial hacia la fase oleosa.



**Figura 4.** Cinética de extracción de fosfolípidos obtenidos por cromatografía (HPLC) y estimados por diferencia con el contenido de azúcares (balance de masa, B.M.) en los EDI.

En la **Figura 5** se presenta el perfil de fosfolípidos extraídos en el tiempo, donde se observa que PI fue el mayoritario, seguido por PC. A partir de los 300 min de extracción, PC y PA no presentan diferencias

significativas (p>0,3). Se determinó que en todo el rango de tiempo evaluado el valor de PI no presentó diferencias significativas a partir de los 30 min de extracción (p=0,2851).

A partir de los resultados de extracción de los compuestos que conforman el EDI, se aprecia que los azúcares constituyen el componente mayoritario del mismo.

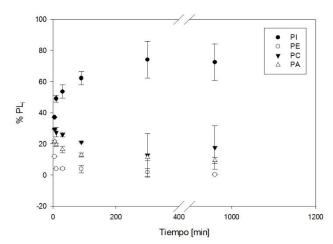


Figura 5. Perfil de fosfolípidos en el extracto en función del tiempo.

#### CONCLUSIONES

La utilización de etanol como solvente alternativo al hexano en la extracción de aceite de soja permite no solo extraer aceite si no que adicionalmente, obtener un subproducto compuesto por azúcares y fosfolípidos, siendo sacarosa y estaquiosa los compuestos mayoritarios identificados en el caso de los azúcares y fosfatidilinositol en el caso de los fosfolípidos.

#### BIBLIOGRAFÍA

Arnold LK, Choudhury RBR. 1961. Ethanol Extraction of Soybean Oil. The Journal Of The American Oil Chemists' Society, 39: 379-380.

Baümler ER, Carrín ME, Carelli AA. 2016. Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent. Journal of Food Engineering, 178: 190-197.

Beckel AC, Belter PA, Smith AK. 1948. The Nondistillation Alcohol Extraction Process for Soybean Oil. The Journal of the American Oil Chemists' Society, 25: 10-11.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2016. InfoStat, versión 2016, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Firestone D. 2009. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 6<sup>th</sup> ed. Champaign, AOCS Press.

Hayakawa K, Mizutani J, Wada K, Masai T, Yoshihara I, Mitsuoka T. 1990. Effects of Soybean Oligosaccharides on Human Faecal Flora. Microbial Ecology In Health And Disease, 3: 293-303.

Horwitz W. 2000. Official methods of analysis of AOAC international. 17th ed. Washington, AOAC International.

Johnson LA, Lusas E. 1983. Comparison of alternative solvents for oils extraction. Journal of the American Oil Chemists' Society, 60: 229-242.

Liu K, Markakis P. 1987. Effect of maturity and processing on the trypsin inhibitor and oligosaccharides of soybeans. Journal of Food Science, 52: 222-223.

Paquot C, Hautfenn A. 1992. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivates. 7<sup>th</sup> ed. Oxford, Blackwell Scientific.

Roberfroid MB. 1997. Health benefits of non-digestible oligosaccharides. In: Kritchevsky D, Bonfield C, Eds. Dietary Fiber in Health and Disease. 427. New York: Plenum Press. 211-219.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.

# **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen el financiamiento del trabajo al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET (PIP 2013-20120100243), a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, ANPCyT (PICT 2014-1649) y a la Universidad Nacional del Sur, UNS (PGI 24/M132).



196

# Efecto del estadio gonadal sobre las propiedades bioquímicas de actomiosina de corvina almacenada en hielo Paredi ME, <sup>1,2</sup> Crupkin M<sup>1</sup>

- (1) Facultad de Ciencias Agrarias. FCAB-UNMdP Ruta 226 Km 73,5.Tel/Fax 02266430456. (7620). Balcarce Argentina. E-mail: meparedi@ mdp.edu.ar.
- (2) Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia de Buenos Aires (CIC)

#### RESUMEN

Se investigó la posible influencia de la condición gonadal de los ejemplares de corvina rubia (*Micropogoniasfurnieri*) almacenada en hielo, sobre las propiedades bioquímicas y funcionales de laactomiosina (AM). Mediante determinaciones de viscosidad reducida, hidrofobicidad y actividades enzimáticas (Mg<sup>+2</sup>(Ca<sup>+2</sup>) y Mg<sup>+2</sup>(EGTA) ATPasas) se observó un cambio conformacional en las AM de ejemplares en pre y post-desove, el que tiene lugar en los 3 primeros días de almacenamiento. Los estudios de SDS-PAGE y de los perfiles densitométricos de los geles revelan ausencia de proteólisis y agregación de las AM a partir del día 6 de almacenamiento. Esa agregación parece ser mayor en la AM de ejemplares en predesove.

Palabras claves: actomiosina, proteínas miofibrilares, corvina rubia, almacenamiento en hielo.

#### **ABSTRACT**

The possible influence of the gonadal conditions of the fish (Micropogoniasfurnieri) on biochemical and functional properties of the actomyosin (AM), periodically obtained from fish stored on ice, was investigated. By determinations of reduced viscosity, superficial hydrofobicity, enzymatic activities (Mg<sup>+2</sup>(Ca<sup>+2</sup>), Mg<sup>+2</sup>(EGTA) ATPases activities conformational change in AM was detected from fish in pre and postspawning stage within the first 3 days of storage. The electrophoresis study and densitometric profiles show absence of proteolysis and protein aggregation of protein up to final of storage. Signal of proteolysis was absent during the storage. Aggregation of AM was observed since day 6 of storage. This aggregation of AM was more important in AM from fish in pre-spawned stage.

**Keywords:** actomyosin, myofibrillar proteins, white croaker, iced stored.

# INTRODUCCIÓN

La corvina rubia (*Micropogoniasfurnieri*) es una especie demersal que habita fondos arenosos hasta profundidades no mayores a 60 m. Se la encuentra en la costa este americana desde Veracruz, México (20° 20'N) hasta El Rincón, en Argentina (41° 00' S) y esporádicamente en la costa norte del Golfo San Matías (41° 10'S). Su captura anual varió en los últimos años entre 5000 y 19000 toneladas. Esta especie, junto con la pescadilla de red y la corvina negra, constituye un gran porcentaje del *variado costero* y tiene un gran interés comercial, el cual se ha acrecentado en los últimos años (Carozzaet al. 2000, MINAGRI 2015). Además, esta especie es capturada en la provincia de Buenos Aires, siendo Mar del Plata su principal puerto de desembarque, destinada al mercado interno, habiendo crecido en los últimos años la demanda internacional del mismo (MINAGRI 2015).

Como es ampliamente conocido, las proteínas miofibrilares son las principales responsables de las propiedades tecnológicas de la carne y se ha demostrado en algunas especies pesqueras como en la merluza argentina (*Merlucciushubssi*), lenguado (*Flounderspp*) y calamar (*I. argentinus*), que las proteínas miofibrilares sufren modificaciones por la conservación en frío, algunas de las cuales están relacionadas con el estadio de maduración sexual de los ejemplares (Montecchiaet al. 1990; Paredi y Crupkin 1997, Benjakulet al. 1997, Paredi y Crupkin2006, Rodrigueset al. 2013). Sin embargo, es escasa la información acerca de la influencia del estadio gonadal sobre el comportamiento de las proteínas miofibrilares de corvina rubia almacenada a bajas temperatura (Folcoet al. 1984, Lemmesmidt 2003, Pagano 2005). Se cuenta con algunos estudios sobre las características bioquímicas y fisicoquímicas de las proteínas musculares estructurales con

la conservación en frio (Lemesmidt 2003). Sin embargo, son pocos aquellos relacionados con la influencia del ciclo gonadal sobre las mismas. En función de esto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la influencia de la condición gonadal de ejemplares de corvina rubia (*Micropogoniasfurnieri*) almacenada en hielo, sobre las propiedades bioquímicas de la actomiosina.

# MATERIALES Y MÉTODOS

#### Muestras

Se utilizaron 30 hembras maduras de corvina (Micropogoniasfurnieri) en pre y post-desove de 40 a 55 cm de longitud, capturados por buques comerciales y mantenidos en hielo relación (1:1). Los ejemplares fueron transportados en frío hasta su llegada al laboratorio, en estado de post-rigor temprano (48-72 h de la captura) y mantenidos en hielo por un periodo de 9 a 10 días. La determinación del estadio gonadal se realizó por análisis macroscópico e histológico de las gónadas de acuerdo a lo descripto por Macchi (1992). Se utilizaron 4 ejemplares para el día cero y 5 ejemplares para los días 2, 5, 7 y 9 de almacenamiento en hielo.

# Preparación de actomiosina

La actomiosina purificada fue obtenida según lo descripto en trabajos previos (Crupkin 1982). Para ello se utilizaron 8g de filetes picados y se homogeneizaron con una solución de bicarbonato de sodio 20mM conteniendo 0,6MNaCl en un homogenizador Omni-Mixer 17106 durante 3 min con intervalos de 5 seg. Posteriormente, se centrífugó en una centrifuga refrigerada (Sorvall RC-5B) a 8000g durante 15 min. El sobrenadante fue diluido (proceso precipitación -dilución) en agua destilada fría para bajar la fuera iónica, luego se centrifugó a la misma velocidad y en este caso el precipitado (actomiosina impurificada) fue resuspendido en igual volumen inicial y posteriormente se reitero la centrifugación. Este procedimiento se efectuó 2 veces más, el precipitado final obtenido fue suspendido en buffer Tris Maleato 30mM conteniendo 0,6 MKCl. La extractabilidad de actomiosina fue expresada como mg de AM por gramo de músculo.

# Solubilidad de proteínas

Los extractos de proteínas miofibrilares totales fueron obtenidos homogeneizando 8g de músculo en 160 ml de buffer CO<sub>3</sub>HNa 0,003M (pH 7) conteniendo 0,6 M de KCl durante 1 min en un homogenizador (Omni-Mixer 17106). Posteriormente, los homogenatosfueron centrifugados por 20 min a 5000g en una centrífuga refrigerada (Sorvall RC Plus) a 3-5°C. El sobrenadante fue definido como la fracción soluble en sal. El resultado fue expresado como porcentaje de proteínas solubles en sal respecto del total de proteínas.

#### Cuantificación de proteínas

La concentración de proteína fue determinada por el método de Lowryet al. (1951), usando seroalbúmina bovina como estándar.

#### Determinación de las actividades enzimáticas

Las actividades Mg<sup>+2</sup>(Ca<sup>+2</sup>) y Mg<sup>+2</sup>(EGTA) ATPasas fueron determinadas a 37°C en un buffer Tris-Maleato 25 mM (pH 6,8) siendo las concentraciones óptimas para la MgCa<sup>2+</sup> (Proteína 0,1 mg/ml, ATP, 1 mM, KCl 2 mM , Cl<sub>2</sub>Mg 2 mM y un tiempo de incubación de 5 min., para el caso de Mg) ( EGTA ATPasa) las condiciones fueron similares MgCa<sup>2+</sup>ATPasa solo que se utilizó 0,25 mg/ml de proteínas, 0,5 mM de ácido EGTA y un tiempo de incubación de 3 min, de acuerdo a lo descripto en un trabajo previo Lemesmidt (2003). En ambos casos el volumen final de incubación fue de 1,5 ml. Las reacciones fueron frenadas por adición de 0,5 ml de ácido tricoloro acético (TCA 40%) en frio. Las muestras fueron mantenidas en hielo, luego centrifugadas a 4000 rpm durante 5 min. Se tomaron alícuotas de los sobrenadantes y se cuantificó el fósforo liberado por el método colorimétrico de Chen et at. (1956).

#### Viscosidad reducida

La viscosidad reducida fue medida en la solución de actomiosina 20±0,1°C usando un viscosímetro de Ostwald de acuerdo a lo descripto por Crupkin et al. (1979).

# Hidrofobicidad superficial

La hidrofobicidad superficial de las proteínas fue determinada en las soluciones de AM utilizando 8naftalen sulfato de sodio (ANS) de acuerdo a lo descripto en un trabajo previo (Paredi 1994). Se utilizaron soluciones de proteínas de 1 mg/ml en buffer fosfato (pH 6,0) conteniendo 0,6 MKCl las que fueron diluidas desde 0,01 a 0,04% utilizando el mismo buffer. A 2 ml de cada dilución se le adicionaron 20 µl de solución 8 mM en buffer fosfato 0,1 M pH 7,0 de sal amoniacal de 1-anilino 8 naftalensulfonato (ANS). Los valores de intensidad relativa de los blancos de proteínas fueron medidos para cada dilución de proteína en ausencia de ANS. Los valores de intensidad relativa (RFI) del ANS-conjugado fueron determinados en un espectrofluómetro (Shimadzu RF-531PC) a una longitud de onda de excitación de 270 nm y de emisión de

470 nm. Las pendientes iniciales (So) del gráfico de RFI versus concentración de proteínas fueron calculados por análisis de regresión lineal y se definieron SoANS (Paredi 1994).

# Electroforesis en geles de poliacrilamida 10% (SDS-PAGE)

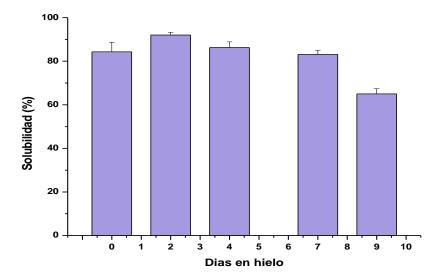
Alícuotas de actomiosina fueron desnaturalizadas por calentamiento a 100°C durante 5 min en buffer desnaturalizante (Tris ClH pH 6.8, SDS 10%, glicerol, β-mercaptoetanol y agua destilada) utilizando una relación muestra-buffer desnaturalizante de 1:1. La electroforesis fue realizada según el procedimiento de Laemmli (1970) en un equipo vertical mini-Slab Sigma. Se utilizaron estándares de masa molecular Sigma en el rango 6500 a 205000 Da y el estándar SDS-6H. La composición cuantitativa de bandas se determinó por análisis fotodensitométrico de los geles utilizando el programa Gel-pro Analyzer. La relación miosina/actina fue calculada dividiendo el área de cadena pesada de miosina más el área de cadenas livianas de miosina por el área de actina (Paredi 1994).

#### Análisis estadístico

Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) y test de rango Múltiple de Duncan's usando el paquete de análisis estadístico Statistica/Mac (Statistica/Mac1994).

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

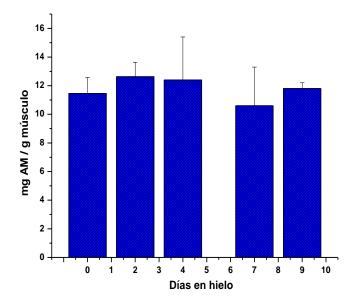
En la **Figura 1** se muestra el comportamiento de la solubilidad de proteínas de músculo de corvina durante el almacenamiento en hielo. Se observó un incremento significativo de las proteínas solubles a los 2 días de almacenamiento en frío para luego disminuir hacia el final del mismo. Resultados semejantes han sido descriptos para actomiosina y miofibrillas de merluza y de lenguado almacenados en hielo. En todas las especies mencionadas la pérdida de solubilidad es más notable cuando el almacenamiento es congelado (Pagano, 2005, Xiong 1997, Wang et al. 2003).



**Figura 1.** Cambios en la solubilidad de proteína de corvina en pre-desove durante el almacenamiento en hielo.

Se representan los valores promedio ±DS (n=20)

Wang et al. (2003) encontraron un incremento significativo de la solubilidad de las proteínas con la temperatura de almacenamiento sin analizar la influencia de la condición biológica. Un comportamiento similar se observó en miofibrillas de merluza en pre y post-desove mostrando las miofibrillas de merluza en pre-desove una mayor labilidad de sus proteínas (Pagano 2005). Resultados similares pero con incremento en los primeros días de almacenamiento han sido descriptos por otros autores mostrando una mayor labilidad de las proteínas en otras especies pesqueras durante almacenamiento en frio y durante el almacenamiento congelado (Tarnowski 2009, Elias 2010).

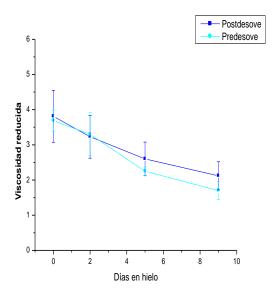


**Figura 2.** Extractabilidad de AM de ejemplares en pre-desove de corvina. Los resultados representan los valores promedios  $\pm$  DS (n= 30).

En la **Figura 2** se muestra la evolución de la extractabilidad de AM con el almacenamiento. No se detectaron diferencias significativas (p > 0.05) en la extractabilidad de actomiosina. Comportamientos similares han sido descriptos en actomiosina de merluza almacenada en hielo y en filetes de pez palo almacenados congelados (Pagano 2005, Tarnoswki 2010).

La viscosidad reducida es un indicador aceptado de cambios en el estado conformacional de la proteína (AM) y de la integridad de la misma. En la **Figura 3** se observa una disminución similar en las viscosidades para las AM provenientes de ejemplares en pre y post-desove hasta el día 3 de almacenamiento. Sin embargo, se observó una mayor caída en la viscosidad de la AM de pre-desove hacia el final de almacenamiento. Resultados similares ha sido informados para los valores de viscosidad de AM de otras especies tales como calamar (*I argentinus*) y Pescadilla de red (*Cynosciosguatucupa*) entre otras (Paredi y Crupkin2006, Elias2010). Comparando el valor a tiempo cero de almacenamiento de la VER (Figura 3) luego de siete días de almacenamiento fue de un 50-60% para ambas actomiosinas. Una caída similar fue informada para actomiosina de lenguado durante el almacenamiento en hielo (Paredi y Crupkin 2006).





**Figura 3**. Viscosidad reducida de actomiosina de corvina en pre y post-desove almacenada en hielo. Se representan los valores promedios  $\pm DS$ . (n=6)

**Tabla1.** Hidrofobicidad superficial de la actomiosina durante el almacenamiento de corvina en hielo.

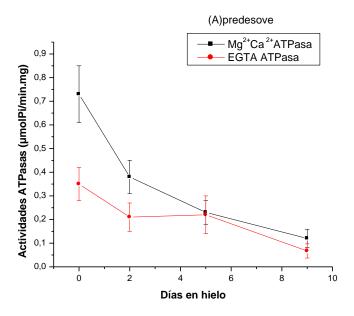
| Tiempo de almacenamiento(Días) | Hidrofobicidad Superficial (ANS) |            |  |  |
|--------------------------------|----------------------------------|------------|--|--|
|                                | Predesove                        | Postdesove |  |  |
| 0                              | $4,5\pm0,8$                      | 4,6±0,9    |  |  |
| 2                              | 12,4±1,1                         | 13,1±0,8   |  |  |
| 5                              | 13,5± 2,1                        | 12,5±1,1   |  |  |
| 7                              | $14,5\pm 2,1$                    | 13,8±0,7   |  |  |
| 9                              | 15,5±1,2                         | 14,0±0,50  |  |  |

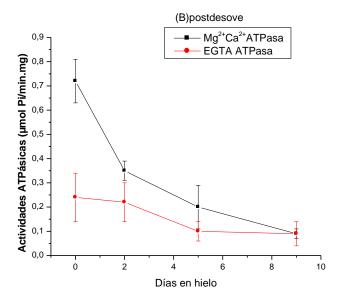
Se presentan los valores promedio  $\pm$  DS (n=6).

La hidrofobicidad superficial (**Tabla 1**) de la AM de ejemplares en ambos estadios gonadales mostró un incremento significativo durante los dos primeros días de almacenamiento, estos resultados sugieren que tiene lugar un cambio conformacional de AM en los 2 primeros días de almacenamiento. Similares resultados fueron obtenidos para otras especies pesqueras (Paredi, 1994, Paredi y Crupkin, 2006, Elias, 2010). Estudios realizados sobre la relación función-estructura de las proteínas alimentarias han demostrado la importancia de la hidrofobicidad sobre el comportamiento de las mismas cuando se aplican distintos tratamientos y/o procesos (Mackie 1993, Paredi y Crupkin 2006). Los cambios en la hidrofobicidad de las proteínas se pueden monitorear determinando la fluorescencia que emite el ANS; un cambio, como un incremento en el SoANS, está relacionado con un incremento de la exposición de grupos hidrofóbicos debido a un desplegamiento de las proteínas por desnaturalización (Paredi 1994). Los resultados observados durante los primeros días en la AM obtenida de ejemplares almacenados por 2 días sugiere un cambio conformacional durante los primeros días de almacenamiento que pueden conducir a una desnaturalización relacionada con los cambios detectados en la VER.

Las **Figuras 4** A y B muestran la evolución de las actividades enzimáticas de las actomiosinas de ejemplares de pre y post-desove. Se puede observar una caída de un 60% en la actividad de Mg<sup>2+</sup> (Ca<sup>2+)</sup> ATPasa que también tiene lugar en los primeros 2 días, la que luego disminuye gradualmente hasta el final del almacenamiento. La actividad de Mg<sup>+2</sup> (EGTA) ATPasa de AM no mostró mayores cambios hasta el día 5 de almacenamiento observándose luego una disminución significativa de la misma. El comportamientode las actividades enzimáticas fue similar para las AM proveniente de ejemplares en ambos estadios gonadales. Las

actividades enzimáticas son clásicamente utilizadas para monitorear la integridad de la actomiosina y seguir el comportamiento postmortem del pescado durante su almacenamiento en hielo (Seki y Narita 1980, Paredi y Crupkin2006). La desnaturalización o agregación de la AM también se ve reflejada en el comportamiento de las actividades enzimáticas. Por otra parte, es aceptado que las proteínas miofibrilares son susceptibles a la degradación por enzimas lisosomales y proteínasas neutras activadas por calcio (Pagano 2005). Las actividades de Mg<sup>+2</sup> y Mg<sup>+2</sup>(Ca<sup>+2</sup>) ATPasas reflejan la integridad del complejo AM en presencia de calcio endógeno o exógeno. La Mg<sup>+2</sup> (EGTA) ATPasa refleja la integridad del complejo troponina-tropomiosina (Watabeet al. 1989).

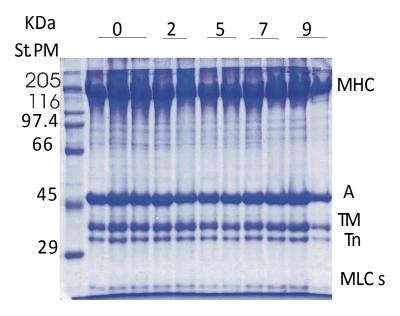




**Figura 4 A y B.**Actividad enzimática de las actomiosinas de corvina rubia en (A) pre y (B) post-desove almacenada en hielo. Se representan los valores promedios±DS (n=6).

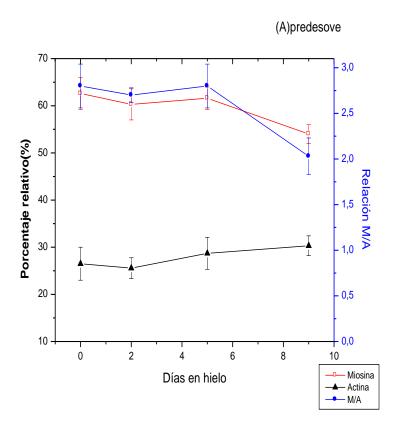
Los resultados obtenidos con las actividades enzimáticas son similares a los descriptos para otras especies almacenadas en hielo (Montechiaet al. 1990, Paredi y Crupkin 2006, Elias 2010). Los resultados obtenidos en dichas actividades enzimáticas podrían estar indicando un cambio en la integridad del complejo miosina-actina y una disminución en la sensibilidad al calcio. La determinación de actividades enzimáticas es considerada como una medida que refleja mejor la calidad de la proteína que la solubilidad de proteínas y la extractabilidad de AM. Esto es debido a que pequeños cambios microestructurales en la molécula de proteínas se reflejan en las actividades enzimáticas (Pagano 2005, Paredi y Crupkin, 2006).

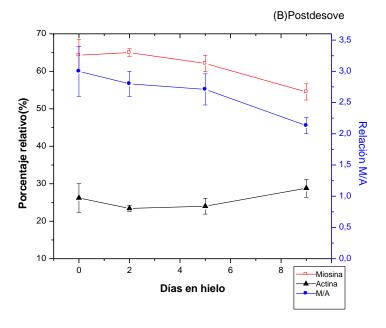
En la **Figura 5** y **6** A se muestran los perfiles electroforéticos y densitométricos de las AM provenientes de corvina en postdesove almacenada en hielo. A tiempo 0 de almacenamiento se pueden distinguir las típicas cadenas polipeptídicas de la AM, sin señales de proteólisis. Los perfiles de SDS-PAGE tampoco se modifican significativamente durante el almacenamiento, sugiriendo que durante ese proceso tampoco hay signos de proteólisis. Similares resultados se obtuvieron con la AM de predesove. (Resultados no mostrados).



**Figura 5.** SDS-PAGE (10%) de actomiosina de corvina de post-desove almacenada en hielo durante 0, 2, 5, 7, 9 días. MHC: cadena pesada de miosina (200 KDa) A: actina (45 KDa), Tm: tropomiosina (38 KDa), Tn: tropomina (30 KDa), MLCs: cadenas livianas de miosina (18-20KDa). St PM. Estándar de masa molecular.







**Figura 6**. Porcentajes relativos y relación miosina/actina de las actomiosinas de corvina rubia en (A) pre y (B) post-desove almacenada en hielo. Se representan los valores promedios  $\pm$  DS (n= 6).

Como se muestra en las **Figuras 6** (**A** y **B**) del análisis fotodensitométrico de los geles en SDS-PAGE 10% de la AM reveló una disminución significativa (p<0,05) en el porcentaje relativo de miosina y en la relación miosina/ actina y un incremento significativo en el porcentaje de actina entre los días 6 y 9 de almacenamiento. Este comportamiento es más evidente en la actomiosina de corvina de pre-desove y sugiere la posibilidad de una agregación de miosina al final del almacenamiento.

# **CONCLUSIONES**

La AM de corvina rubia se desnaturaliza durante el almacenamiento en hielo. Estos cambios ocurren en ausencia de proteólisis y a cambios conformacionales en los 2 primeros días, seguidos por una agregación de la proteína hacia el final del almacenamiento. Las modificacionesmás importantes fueron observadas en la AM de pescados en pre-desove. Estas mencionadas modificaciones disminuyen la calidad de la carne.

# **BIBLIOGRAFÍA**

Benjakul S, Seymour TA, Morrissey T AN H. 1997. Physicochemical changes in Pacific whiting muscle proteins during iced storage. Journal of Food Science 62:729-733.

Carrozza C Lasta C Ruarte C. 2000. Corvina Rubia. Pesquerías Argentinas, 1997-1999; 53-64.

Chen PS Toribara T Y Warner H. 1956. Microdetermination of phosphorus. Analitycal Chemistry, 28: 1129-1134.

Crupkin M. Barassi CA Martone C B Trucco RE.1979. Effect of storing hake(*M. hubbsi*) on ice on the viscosity of the extract of soluble muscle proteins. JournalFoodScience and Agricultural. 30:911-918

Crupkin M. 1982. Cambios en las proteínas miofibrilares de merluza(*M. hubbsi*) durante el almacenamiento en frío. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Tucumán. p 152

Elias M R 2010.Propiedades bioquímicas y funcionales de las proteínas miofibrilares de músculo de pescadilla de red (*Cynosciongustucupa*). Efecto del almacenamiento en frio (2-4°C). Tesis de grado Licenciatura den Ciencia y etnología de Alimentos. Facultad de CS Agrarias, UNMDP.p52

Folco E, Busconi L, Martone C B, Trucco RE., Sanchez. JJ. 1984. Action of two alkaline proteases and trypsin inhibitor from white croaker (*Micropogoniasopercularis*) in the degradation of myofibrillar proteins. FEBS 176:215-400.

LaemmliV H.1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227:680.

Lemesmidt, V L 2003. Propiedades bioquímicas y funcionales de actomiosina de corvine rubia Cynosciosguatucupa (*Micropogoniasfurnieri*) almacenada en hielo (Hembras en predesove). Tesis para optar Lic. Ciencia y Tecnologia de Alimentos. Fac. Cs Agrarias. UNMDP. P.32.

Lowry, O H, Rosebrugh N J., Farr N, Randall R J.1951. Protein measurement with Folin reagent. J.Biol., Chem. 5: 193:265

Macchi, G.J. 1992. Estudios histológicos aplicados al ciclo reproductivo y a diagnósticos patológicos en la corvina rubia (*Micropogoniasfurnieri*). Su vinculación a la biología pesquera y al análisis de las relaciones ecológicas de la especie. UNMDP, Facultad de Cs. Exactas y Naturales.

Mackie JM.1993. The effects of feezing of flesh proteins. Food Review International,9(4): 575-610-

Montecchia, C.L., Crupkin, M., Trucco R E 1990. Seasonal variation in biochemical and physicochemical properties of actomyosin and energy content of the liver, gonads and muscle of mature Argentinian hake, M. hubbsi Marini. J. Fish Biol., 37:837-843.

MINAGRI ,2015. Ministerio de agricultura ganadería y Pesca de la Nación, Informe pesca 2015.

Pagano M R 2005. Propiedades bioquímicas de miofibrillas de distintas especies pesqueras. Tesis Doctoral FCEyN. UNMdP.

Paredi M.E. Propiedades fisicoquímicas, bioquímicas y funcionales de las proteínas miofirilares de moluscos 1994. Tesis Doctoral Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UNMDP. P 150

Paredi, M.E., Crupkin, M. 1997. Biochemical properties of actomyosin from frozen stored mantles of squid (*Illexargentinus*) at different sexual maturation. Journal Agricultural and Food Chemistry, 45:1629-1632.

Paredi M ECrupkin, 2006. Biochemical and pysicochemical properties of actomyosin and myofibrils from frozen stored flounder. (*Paralichtyspatagónicus*). LWT., 40: 1716-1722.

REDES- 2015 Revista de la Industria Pesquera. Seafood 199: 90-181-183.

Rodrigues, K A Macchi G J Massa A E Militelli M I.2013. Seasonal analysis of condition, biochemical and bioenergeticindices o females of Brazilian, *Perchopis Brasiliensis* Neotropical Ichyology. 11:153-162 Seki N Narita 1980. Changes in ATPase activities of carp myofibrillar protein during ice-storage. Bulletin Japannesse Society Scientific Fisheries. 46: 207-213.

Statistica/Mac. 1994. Statistica for Macintosh. Tulsa, Okla. Statsoft Inc.

Wang H, Liceaga-Gesualdo A M, Li Chan ECY. 2003. Biochemical and physicochemical characteristic of muscle and natural actomyosin isolated from young atlantic salmon (*Salmon salar*) Fillets stored at 0-4°C Watabe S Ushio H Iwuamoto M Yamanaka,HHashimoto K. 1989. Temperature dependency of rigor mortis of fish muscle. Myofibrillar Mg<sup>2+</sup>ATPase activity and Ca<sup>2+</sup> sarcoplasmic reticulum. Journal of Food Science 54: 1107-115.

Xiong Y L. 1997. Structure – functionality relationships of muscle protein. En: Damodaran S.Paraf A.editores1997 Food Protein and their applications, New York: Marcel Dekker Inc, USA.pag 341-392.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Mar del Plata y a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Bs. As (CIC).



206



# Optimización de la infusión asistida con altas presiones hidrostáticas de cubos de mango tratados con sorbitol y lactato de calcio

Perdomo Lamilla, C.<sup>1</sup>, Sanow, C.<sup>2</sup>, Sancho A.M.<sup>2</sup>, Aguirre C<sup>4</sup>., Vaudagna, S.<sup>2,3</sup> y Rodriguez A.<sup>2\*</sup>

#### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo consistió en la optimización del procesamiento de infusión asistida con altas presiones hidrostáticas (APH) de cubos de mango tratados con sorbitol y lactato de calcio. Para este estudio, se utilizó un diseño experimental Box-Behnken con tres factores independientes y tres niveles. Los factores de proceso fueron, nivel de presión (0.1, 300 y 600 MPa), concentración de lactato de calcio (0, 1 y 2 %p/p) y concentración de sorbitol (20, 40 y 60°Brix). Las condiciones de procesamiento fueron optimizadas para conseguir la mínima pérdida de peso (PP), pérdida de agua (PA), ganancia de sólidos (GS), índice de pardeamiento (IP) junto con la mínima diferencia de tono (*D*h), Fuerza máxima (*D*Fm (kgf)) y Trabajo (*D*T (kgf\*s)) con respecto a la fruta fresca. El análisis de varianza (ANOVA) indicó que el modelo ajustó adecuadamente (p>0.05) a los datos observados. La función DESIRABILITY mostró que las condiciones óptimas de procesamiento fueron presión 600MPa combinado con una solución de 20°Brix de sorbitol y 1.20% (p/p) lactato de calcio. Bajo estas condiciones, los valores predichos fueron PP: 15.81%, PA: 19.42%, GS: 3.61%, IP: 123, *D*Fm: -0.040kgf, *D*T: 0.41 kgf\*s y *D*h: -1.94.

Palabras claves: Cubos de mango, infusión asistida con APH, Box-Behnken, parámetros de calidad.

# **ABSTRACT**

The aim of this work consisted in the optimization of assisted-infusion under high hydrostatic pressure (HHP) of mango cubes treated with sorbitol and calcium lactate. Cubes mango were treated at different pressure levels (0.1, 300 and 600 MPa) with different concentrations of calcium lactate (0, 1 y 2% w/w) and sorbitol (20, 40 and 60°Brix). A Box-Behnken design was used to determine the optimum processing conditions that yield a minimum of weight reduction (WR), water loss (WL), solids gain (SG), browning index (BI) along with a minimum difference in tone (*D*h), maximum force (*D*MF) and work (*D*W) respect to fresh fruit. ANOVA analysis showed that model fit properly (p>0.05) for all observed data. The DESIRABILITY function showed that optimum process conditions were pressure level 600MPa combined with a solution of 20°Brix sorbitol and 1.20% (w/w) calcium lactate. At these optimal conditions, predicted values were WR: 15.81%, WL: 19.42%, SG: 3.61%, BI: 123, *D*MF: -0.040kgf, *D*W: 0.41 kgf\*s y *D*h: -1.94.

**Keywords:** Mango cubes, assisted-infusion under high hydrostatic pressure (HHP), Box-Behnken, quality parameters.

# INTRODUCCIÓN

El mango (*Magnifera indica*) es un fruto que se caracteriza por su aroma intenso, delicioso sabor y alto valor nutritivo (vitamina C, β-caroteno, minerales, ácido cítrico y málico y polifenoles) (Tharanathan et al. 2006, Jahurul et al. 2015). El mango es comúnmente procesado y comercializado como pulpa, néctar, jugo, mermelada y deshidratado (Siddiq et al. 2012). Sin embargo, la creciente demanda de productos listos para consumir preparados a base de frutas ha impulsado la búsqueda y adopción de métodos alternativos de procesamiento y es así como el tratamiento de infusión asistida con alta presión hidrostática (APH) se convierte en una alternativa para desarrollar productos de este tipo.

Durante la deshidratación osmótica la fruta es colocada en una solución hipertónica, llevándose a cabo la difusión del agua desde el tejido vegetal hacia la solución a través de la membrana semipermeable, debido a la diferencia de presión osmótica. Simultáneamente, hay una difusión de solutos desde la solución hacia el

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Buenos Aires,

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Instituto Tecnología de Alimentos, (CIA-INTA, Castelar)

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Estación Experimental de Cultivos Tropicales de Yuto de INTA

<sup>\*</sup>E-mail: rodriguezracca.anabel@inta.gob.ar

tejido. Adicionalmente la difusión de agua es acompañada por sustancias naturales como vitaminas, ácidos orgánicos, pigmentos, minerales, etc. (Mastrantonio et al. 2005). La sacarosa es el agente osmótico más empleado en frutas; sin embargo, polialcoholes como el sorbitol pueden ser utilizados como agentes osmóticos alternativos reducidos en calorías, ya que su bajo peso molecular favorecería la transferencia de materia.

APH es un proceso no térmico que consiste en la aplicación de un alto nivel de presión hidrostática (100-900 MPa) de manera uniforme y cuasi-instantánea a los productos envasados en envases flexibles y herméticos, por tiempos cortos (< 10 min). En general, las APH a temperatura de refrigeración o ambiente producen la inactivación de microorganismos vegetativos y enzimas, con efecto mínimo sobre los atributos sensoriales y las propiedades nutricionales del producto. Las APH se pueden utilizar para mejorar y acelerar la infusión de moléculas de la solución circundante; ya que provoca alteraciones en la pared o estructura celular, haciendo las células más permeables, lo cual incrementa la velocidad de transferencia de masa (Rastogi et al. 2000). Fenómenos como la pérdida de agua o solutos nativos, penetración/ difusión de solutos o solución externa, provocan cambios en las propiedades mecánicas, dependiendo de las condiciones de proceso y características del producto (Chiraltet al. 2001, Torres et al. 2006). Por lo tanto, la fortificación de frutas y hortalizas con calcio mejoraría las propiedades mecánicas de los tejidos, ya que el mismo puede interactuar con el tejido vegetal, formando uniones entre las pectinas y otros componentes de la pared celular, modificando su

La metodología de superficie de respuesta (RSM) es una técnica estadística y matemática que ha sido utilizada para el desarrollo, mejora y optimización de procesos cuando una o varias respuestas de interés están influenciadas por varias variables independientes, además la RSM ofrece una gran cantidad de información a partir de pocas experiencias (Baş y Boyacı, 2007).

Son escasos los estudios previos sobre la aplicación de infusión asistida con APH en productos frutihortícolas. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue optimizar la infusión asistida con APH de cubos de mango tratados con sorbitol y lactato de calcio mediante el uso de un diseño experimental de superficie de respuesta de Box-Behnken. Se evaluaron los efectos de las condiciones de procesamiento sobre las variables respuestas e identificaron las condiciones óptimas de procesamiento que permitieron obtener un producto con la mínima pérdida de peso (PP), pérdida de agua (PA), ganancia de sólidos (GS), índice de pardeamiento (IP) junto con la mínima diferencia del tono (*Dh*), Fuerza máxima (*DFm*) y trabajo (*DT*) respecto a la fruta fresca

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

respuesta estructural (Gras et al. 2003).

# Materia prima y preparación de las muestras

Se trabajó con mango (*Mangifera indica*) cv. Keitt provistos por la Estación Experimental de Cultivos Tropicales (EECT) Yuto de INTA, (Jujuy, Argentina). Los frutos se seleccionaron en función de su firmeza al tacto, luego fueron lavados con solución de hipoclorito 100 ppm durante 2 min, enjuagados con agua y escurridos a temperatura ambiente. Posteriormente, fueron pelados, cortados en cubos de 15mm de lado y sumergidos en una solución de ácido ascórbico al 1% y ácido cítrico al 1% durante 2 min.

Las soluciones osmóticas fueron preparadas usando sorbitol ((D-glucitol), LTS Powder 50M, Indonesia) como agente osmótico (20°Brix, 40°Brix y 60°Brix) (), y lactato de calcio (0%,1%, 2%) (ADAMA, Argentina) en diferentes concentraciones.

# Preparación de trozos de mango mediante infusión asistida con APH

Los cubos de fruta y la solución osmótica se envasaron en bolsas Cryovac BB2800 (Sealed Air, Buenos Aires, Argentina) en una relación cubos de fruta/solución (g/g) de 1/5. Una vez envasados, se cargaron en el cilindro del equipo APH (Stansted Fluid Power Ltd. modelo FPG 9400:922, Stansted, Reino Unido). Las muestras fueron sometidas a tres niveles de presión 0.1, 300 y 600 MPa aplicando un tiempo de mantenimiento de 5 min, a temperatura ambiente (25°C). Luego del tratamiento con APH, las muestras fueron refrigeradas a 5°C por 24 horas. Pasado ese tiempo, los cubos de mango fueron extraídos de la solución osmótica y el exceso de solución fue removido con papel absorbente. Se registró el peso de las muestras antes y después del procesamiento. Posteriormente los cubos de mango procesados fueron fraccionados para su posterior análisis.

#### Determinación de los parámetros de transferencia de masa

Los parámetros de transferencia de masa se determinaron mediante la pérdida de peso (PP), pérdida de agua (PA) y ganancia de sólidos (GS) para cada tratamiento, se calcularon a partir de las ecuaciones (1, 2 y 3).

$$PP(\%) = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \times 100 \quad (1)$$

$$PA(\%) = \left[ \left( 1 - \frac{TS^0}{100} \right) - \left( 1 - \frac{TS_{DO}}{100} \right) \left( 1 - \frac{PP}{100} \right) \right] \times 100 \quad (2)$$

$$GS(\%) = \left( 1 - \frac{PP}{100} \right) \times TS_{DO} - TS^0 \quad (3)$$

Donde,  $m_i$  y  $m_{f\,es}$  la masa inicial (g) y final (g) de los cubos de mango fresco (sin procesar) y los procesados, respectivamente.  $TS_{DO}$  son los sólidos totales de los cubos de mango procesados (100- humedad  $_{producto}$  procesado) y  $TS^0$  son los sólidos totales de los cubos de mango fresco (100- humedad  $_{fresco}$ ).

La concentración de sólidos solubles (°Brix) se midió utilizando un refractómetro (Refractómetro digital Reichert AR 200 Hand-Held, USA) a 20°C. La humedad se determinó gravimétricamente utilizando un horno Gallenkamp (OVA031.XXI.5, UK) hasta peso constante a 70°C, acorde a la metodología de AOAC N° 93406 (AOAC, 1990) con modificaciones menores. El contenido de humedad (H %), se calculó mediante la ecuación (4) y los resultados se expresaron como porcentaje de peso inicial de la muestra.

$$H(\%) = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \times 100$$
 (4)

Donde m<sub>i</sub> es la masa inicial (g) y m<sub>f</sub> masa final (g) de las muestras.

# Análisis de los parámetros de calidad

# Determinación de parámetros cromáticos

Los parámetros cromáticos de los cubos de mango se midieron con un colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc. Osaka, Japan), 8 mm apertura, iluminante D65, observador  $2^{\circ}$ . El instrumento fue calibrado con una placa blanca estándar (Y = 92.9; x = 31.37; y = 31.98). Las lecturas se obtuvieron mediante el sistema CIE L\*a\*b\*: L\* (luminosidad), a\* (verde (-) -rojo (+)) y b\* (azul (-) - amarillo (+)). A partir de estos parámetros, se calculó el ángulo de tono (h), y el índice de pardeamiento (IP) (ecuación 5 y 6, respectivamente). Se utilizaron 10 cubos de mango por tratamiento, se midieron tres caras de cada cubo y se informó el valor promedio. En el caso del parámetro h, se informó la diferencia entre la muestra fresca y tratada (Dh).

$$h = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \text{ cuando } a > 0 \text{ ; } h = 180 + \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \text{ cuando } a < 0 \qquad (5)$$
 
$$IP = \left[\frac{100 \times (x - 0.31)}{(0.17)}\right] \qquad (6)$$

Donde x es:

$$x = \frac{(a^* + 1.75 \times L^*)}{(5.645 \times L^* + a^* - 3.012 \times b^*)}$$

#### Determinación de las propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de los cubos de mango frescos y procesados se determinaron utilizando un analizador de textura Stable Micro Systems modelo TA. XTplus (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, Reino Unido). El ensayo de penetración se realizó según lo descrito por Lovera et al. (2014) con modificaciones menores. Para este ensayo, se utilizó una punta de prueba de punción plana (SMSP/diámetro 2mm), con una celda de carga de 5 kg. Los parámetros de ensayo fueron: velocidad de deformación de 1 mm/s y una distancia de recorrido de la sonda de 6 mm con respecto a la altura inicial del cubo. Las propiedades mecánicas analizadas fueron la fuerza máxima (kgf) y el trabajo (kgf\*s), área bajo la curva. Para estas mediciones se utilizaron 10 cubos por tratamiento. Se informaron los valores promedio de ambos parámetros proveniente de la diferencia entre la muestra fresca y tratada por APH (DFm y DT).

La metodología de superficie de respuesta (MSR) fue empleada para optimizar las condiciones de procesamiento. Se estudió el efecto de las variables de proceso sobre las variables respuesta PP, PA, GS, IP, *Dh*, *DFm* y *DT*. Los experimentos se establecieron en base a un diseño Box-Behnken con tres factores y tres niveles: bajo (-1), central (0), y alto (+1) (**Tabla 1**). El diseño incluyo 15 experimentos con 3 puntos centrales. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Los datos experimentales fueron ajustados usando la ecuación polinómica de segundo orden (ecuación 7):

$$Y_{i} = \beta_{0} + \sum_{j=1}^{k} \beta_{j} X_{j} + \sum_{j=1}^{k} \beta_{jj} X_{j}^{2} + \sum_{i} \sum_{j=1}^{k} \beta_{ij} X_{i} X_{j} + e_{i}$$
 (7)

Donde Y es la respuesta a ser optimizada;  $X_i$  y  $X_j$  son las variables independientes (i y j rango entre 1 y k);  $\beta_0$  es el coeficiente de regresión del modelo;  $\beta_i$ ,  $\beta_{ij}$  y  $\beta_{ij}$  son los coeficientes de regresión lineales, cuadráticos y de interacción; k es el número de parámetros independientes (k=3); y  $e_i$  es el error. Los datos experimentales fueron examinados mediante un análisis de varianza (ANOVA) para encontrar los términos significativos (p<0.05) en el modelo. Mediante la función DESIRABILITY fueron seleccionadas las condiciones óptimas de procesamiento para obtener un producto con características similares a la fruta fresca, para ello se buscó que el producto procesado tuviera la mínima PP, PA, GS, IP, Dh, DFm y DT. Para el análisis estadístico del diseño experimental se utilizó el software STATISTICA V12.

**Tabla 1-** Variables independientes y niveles usados para el diseño Box-Behnken

| Variables independientes (factores) | Unidad  | Factor | Nivel |     |     |
|-------------------------------------|---------|--------|-------|-----|-----|
| Variables independientes (factores) | Umaaa   | X      | -1    | 0   | 1   |
| Nivel de presión                    | MPa     | $X_1$  | 0.1   | 300 | 600 |
| Concentración de lactato de calcio  | % (w/w) | $X_2$  | 0     | 1   | 2   |
| Concentración de sorbitol           | °Brix   | $X_3$  | 20    | 40  | 60  |

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Tabla 2** se presentan los valores promedios de cada variable respuesta (PP, PA, GS, DFm, DT, Dh y IP) de acuerdo al diseño experimental empleado. En la misma, se puede observar la variación de cada respuesta para las diferentes combinaciones experimentales.

**Tabla 2-** Matriz del diseño experimental Box-Behnken y valores experimentales.

| Corrida | 1                | l de fac       |                       |        | s respuest |        | <b>/</b>  | с схреттени |            |        |
|---------|------------------|----------------|-----------------------|--------|------------|--------|-----------|-------------|------------|--------|
| Corrida | $\mathbf{X}_{1}$ | $\mathbf{X}_2$ | <b>X</b> <sub>3</sub> | PP (%) | PA (%)     | GS (%) | DFm (kgf) | DT (kgf*s)  | <i>D</i> h | IP     |
| 1       | -1               | -1             | 0                     | 19.45  | 28.83      | 9.38   | 0.24      | 1.21        | 2.56       | 154.25 |
| 2       | 1                | -1             | 0                     | 29.74  | 39.99      | 10.25  | 0.18      | 1.08        | 0.44       | 151.05 |
| 3       | -1               | 1              | 0                     | 24.14  | 32.07      | 7.93   | 0.14      | 0.92        | 3.07       | 146.43 |
| 4       | 1                | 1              | 0                     | 33.31  | 42.69      | 9.38   | 0.00      | 0.70        | -0.09      | 145.52 |
| 5       | -1               | 0              | -1                    | 8.09   | 12.03      | 3.94   | 0.07      | 0.56        | 1.80       | 128.99 |
| 6       | 1                | 0              | -1                    | 16.06  | 19.49      | 3.43   | -0.01     | 0.46        | -1.41      | 131.72 |
| 7       | -1               | 0              | 1                     | 35.48  | 42.83      | 7.35   | 0.16      | 1.06        | 3.61       | 154.82 |
| 8       | 1                | 0              | 1                     | 48.94  | 56.62      | 7.68   | 0.07      | 0.97        | 1.89       | 164.75 |
| 9       | 0                | -1             | -1                    | 9.06   | 13.90      | 4.84   | 0.09      | 0.76        | -1.99      | 125.27 |
| 10      | 0                | 1              | -1                    | 13.00  | 17.48      | 4.48   | -0.04     | 0.42        | -0.90      | 126.36 |
| 11      | 0                | -1             | 1                     | 41.47  | 51.22      | 9.76   | 0.20      | 1.15        | 3.40       | 186.74 |
| 12      | 0                | 1              | 1                     | 43.27  | 51.55      | 8.29   | 0.09      | 0.98        | 3.22       | 180.20 |
| 13      | 0                | 0              | 0                     | 31.74  | 41.23      | 9.49   | 0.14      | 1.00        | -0.11      | 150.91 |
| 14      | 0                | 0              | 0                     | 31.25  | 41.21      | 9.96   | 0.14      | 0.89        | 0.05       | 146.63 |
| 15      | 0                | 0              | 0                     | 30.94  | 40.14      | 9.20   | 0.14      | 0.98        | -1.30      | 140.02 |

210

En la **Tabla 3** y **4**, se muestran los coeficientes de regresión, la significación estadística, el R<sup>2</sup> ajustado y la falta de ajuste para cada respuesta. El ANOVA mostró que la falta de ajuste fue no significativa para todas las variables respuestas (95% de nivel de confianza), lo cual confirma la validez del modelo. Para el modelo final solo se tuvieron en cuenta aquellos parámetros que fueron significativos (p<0,05) (**Tabla 5**).

**Tabla 3.** Valores de los coeficientes de regresión y valor p de los parámetros de transferencia de masa.

|                 | %PP         |        | %PA         |        | %GS         |        |  |
|-----------------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|--|
|                 | Coeficiente | n      | Coeficiente | n      | Coeficiente | n      |  |
|                 | Regresión   | p      | Regresión   | p      | Regresión   | p      |  |
| Modelo          | 31.3098*    | 0.0001 | 40.8582*    | 0.0001 | 9.5484*     | 0.0005 |  |
| $X_1$           | 5.1110*     | 0.0008 | 5.3786*     | 0.0017 | 0.2675      | 0.1863 |  |
| $X_1^2$         | -2.1035*    | 0.0098 | -2.8797*    | 0.0124 | -0.7762     | 0.0598 |  |
| $X_2$           | 1.7490*     | 0.0066 | 1.2299*     | 0.0305 | -0.5190     | 0.0616 |  |
| $X_2^2$         | -2.5465*    | 0.0067 | -2.0825*    | 0.0233 | 0.4640      | 0.1449 |  |
| $X_3$           | 15.3676*    | 0.0001 | 17.4155*    | 0.0002 | 2.0479*     | 0.0043 |  |
| $X_3^2$         | -2.0654*    | 0.0101 | -5.2354*    | 0.0038 | -3.1700*    | 0.0039 |  |
| $X_1 X_2$       | -0.2790     | 0.2999 | -0.1360     | 0.7043 | 0.1430      | 0.5325 |  |
| $X_1 X_3$       | 1.3749*     | 0.0207 | 1.5846*     | 0.0364 | 0.2097      | 0.3870 |  |
| $X_2 X_3$       | -0.5347     | 0.1172 | -0.8110     | 0.1208 | -0.2763     | 0.2851 |  |
| Falta de ajuste |             | 0.202  |             | 0.382  |             | 0.331  |  |
| $R^2$ Adj       | 0.997       |        | 0.997       |        | 0.956       |        |  |

<sup>\*</sup> Significativo a nivel de 5% (0.05)

**Tabla 4.** Valores de los coeficientes de regresión y valor p de los parámetros de calidad.

|                    | <i>D</i> Fm              |        | DT                       |        | $D\mathbf{h}$            |        | IP                       |        |
|--------------------|--------------------------|--------|--------------------------|--------|--------------------------|--------|--------------------------|--------|
|                    | Coeficiente<br>Regresión | p      | Coeficiente<br>Regresión | p      | Coeficiente<br>Regresión | p      | Coeficiente<br>Regresión | p      |
| Modelo             | 0.1395*                  | 0.0003 | 0.9567*                  | 0.0014 | -0.4515                  | 0.4004 | 145.8553*                | 0.0005 |
| $\mathbf{X}_1$     | -0.0468*                 | 0.0010 | -0.0668                  | 0.0942 | -1.2769*                 | 0.0393 | 1.0701                   | 0.6367 |
| $X_1^2$            | -0.0073                  | 0.0788 | -0.0220                  | 0.5681 | 1.2449                   | 0.0835 | -3.0547                  | 0.3968 |
| $\mathbf{X}_2$     | -0.0645*                 | 0.0005 | -0.1469*                 | 0.0219 | 0.1102                   | 0.7138 | -2.3511                  | 0.3494 |
| $X_2^2$            | 0.0073                   | 0.0780 | 0.0426                   | 0.3205 | 0.7028                   | 0.2088 | 6.5146                   | 0.1501 |
| $X_3$              | 0.0511*                  | 0.0008 | 0.2435*                  | 0.0081 | 1.8277*                  | 0.0198 | 21.7716*                 | 0.0078 |
| $X_3^2$            | -0.0613*                 | 0.0013 | -0.1732*                 | 0.0335 | 0.6818                   | 0.2179 | 2.2706                   | 0.5100 |
| $X_1 X_2$          | -0.0194*                 | 0.0114 | -0.0233                  | 0.5333 | -0.2619                  | 0.5515 | 0.5736                   | 0.8538 |
| $X_1 X_3$          | -0.0053                  | 0.1279 | 0.0008                   | 0.9825 | 0.3723                   | 0.4192 | 1.8022                   | 0.5788 |
| $X_2 X_3$          | 0.0067                   | 0.0849 | 0.0437                   | 0.2967 | -0.3167                  | 0.4813 | -1.9085                  | 0.5587 |
| Falta de           |                          | 0.084  |                          | 0.675  |                          | 0.415  |                          | 0.175  |
| ajuste             |                          | 0.004  |                          | 0.073  |                          | 0.713  |                          | 0.173  |
| R <sup>2</sup> Adj | 0.980                    |        | 0.950                    |        | 0.808                    |        | 0.694                    |        |

<sup>\*</sup> Significativo a nivel de 5% (0.05)



| Tabla 5. Ecuaciones del modelo reducido. |  |
|--|--|
| RESPUESTA                                | ECUACIÓN DEL MODELO REDUCIDO   |
| Pérdida de peso (PP %)                   | PP (%) = $31.31+5.11X_1-2.10X_1^2+1.75X_2-2.55X_2^2+15.37X_3$  |
|  | $-2.07X_3^2+1.37X_1X_3$  |
| Perdida de agua (PA %)                   | PA (%) = $40.86+5.38X_1-2.88X_1^2 +1.23X_2 -$  |
|  | $2.08X_2^2 + 17.42X_3 - 5.24X_3^2 + 1.58X_1X_3$  |
| Ganancia de solido (GS %)                | GS (%) = $9.37 + 2.05X_3 - 3.15X_3^2$  |
| Diferencia de fuerza                     | $DFm = 0.14 - 0.05X_1 - 0.06X_2 + 0.05X_3 - 0.06X_3^2 - 0.02X_1X_2$  |
| máxima (DFm)                             | $D1 \text{ III} = 0.14 - 0.03 \text{ A}_1 - 0.00 \text{ A}_2 + 0.03 \text{ A}_3 - 0.00 \text{ A}_3 - 0.02 \text{ A}_1 \text{ A}_2$ |
| Diferencia de trabajo (DT)               | $DT = 0.97 - 0.15X_2 + 0.24X_3 - 0.17X_3^2$  |
| Diferencia tono (Dh)                     | $Dh = 0.95 - 1.28X_1 + 1.83X_3$  |
| Índice de pardeamiento (IP)              | $IP = 148.91 + 21.77X_3$   |

**Tabla 5.** Ecuaciones del modelo reducido.

# Efecto sobre los parámetros de transferencia de masa Pérdida de peso y pérdida de agua

La pérdida de peso y pérdida de agua (PP y PA) fueron afectadas significativamente (p<0,05) en términos lineales y cuadráticos por los tres factores: nivel de presión  $(X_1)$ , concentración de calcio  $(X_2)$  y concentración de sorbitol  $(X_3)$  y la interacción  $X_1X_3$ . Todos los coeficientes lineales y de interacción fueron positivos mientras que los cuadráticos negativos. El coeficiente positivo indica que un aumento en cualquiera de los tres factores genera un aumento de la PP y la PA. Asimismo, la magnitud de los coeficientes muestra que el factor que más influyo sobre la PP y PA fue  $X_3$ , seguido por  $X_1$  y  $X_2$ .

La PP es consecuencia de la eliminación de agua e incorporación de sólidos en el producto. Sin embargo, PP se ve más afectada por la PA ya que la velocidad de pérdida de agua fue mayor en comparación con la velocidad de ganancia de sólidos. Este fenómeno se produce como consecuencia de la permeabilidad selectiva de la membrana celular, que permite el transporte de moléculas pequeñas (agua) pero restringe el transporte de moléculas más grandes (azucares); lo cual reduce la difusión de los sólidos a través del tejido celular (Silva et al. 2014). Este hecho hace que la pérdida de peso se encuentre directamente relacionada con el comportamiento de la pérdida de agua.

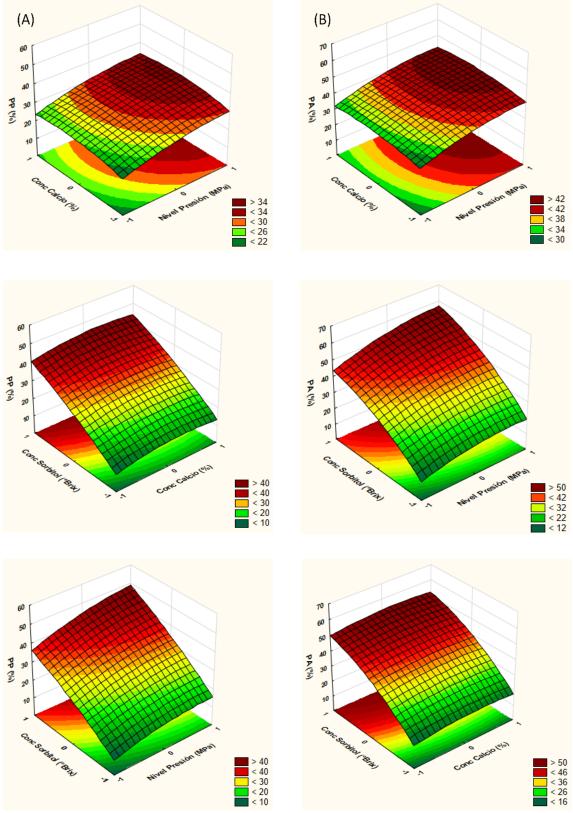
En las **Figura 1A** y **1B**, se puede observar que la PP y PA aumentan rápidamente con el aumento de la concentración de sorbitol producto del aumento de las tasas de transferencia de masa debido a una mayor diferencia de presión osmótica entre la fruta y la solución circundante (Zhao et al. 2014). Por otra parte, la PP y PA también aumentaron con el incremento del nivel de presión. La aplicación de APH causa daños en la estructura de la pared celular de los tejidos, dejando las células más permeables, provocando un aumento en las tasas de transferencias de masas (Rastogi et al. 2000, Nuñez-Mancilla et al. 2011). También se observó un leve incremento en la PP con el aumento de la concentración de calcio en la solución (Mastrantonio et al. 2005) atribuyo este comportamiento a la acción combinada de azúcares y sales en la solución, teniendo un mejor efecto en la deshidratación.

# Ganancia de sólidos

La ganancia de sólidos (GS) fue afectada significativamente (p<0.05) por la concentración de sorbitol ( $X_3$ ), en términos lineales y cuadráticos. El coeficiente positivo en términos lineales muestra que un incremento de  $X_3$  induce a una mayor GS (**Figura 2.**), este comportamiento es atribuido al aumento de la fuerza impulsora producto del gradiente de concentración entre la fruta y la solución circundante (Falade et al. 2007).

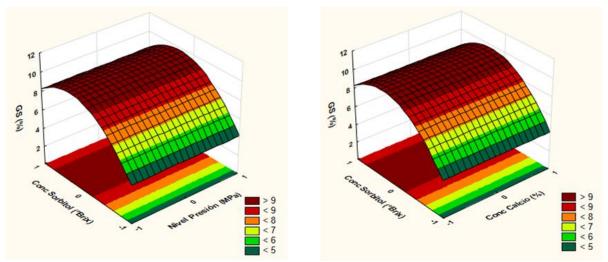
A su vez, en la **Figura 2.**, puede observarse que a concentraciones de sorbitol cercanas a 60°Brix hay una ligera disminución de la GS. Esto puede deberse a dos razones: a) un incremento en la concentración de la solución provoca un aumento de la viscosidad, lo que lleva a la formación de una capa en la superficie del producto tratado, limitando así la transferencia de masa (Mastrantonio et al. 2005); o b) por la disminución de la permeabilidad de la pared celular producto del refuerzo de su estructura polimérica por puentes de calcio (Guiamba et al. 2016).





**Figura 1.** Gráfico de superficie de respuesta del efecto de las condiciones de procesamiento sobre (A) pérdida de peso y (B) pérdida de agua.

Asimismo, se pudo observar que la GS aumenta con un incremento en el nivel de presión (X1) y disminuye con un aumento en la concentración de calcio  $(X_2)$ . Sin embargo, el efecto de ambos parámetros no fue significativo (p>0.05). Resultados similares fueron observados por Guiamba et al. (2016) donde el calcio no tuvo efecto sobre la ganancia de sólidos en cilindros de mango osmo-deshidratados.



**Figura 2.** Gráfico de superficie de respuesta del efecto de las condiciones de procesamiento sobre la ganancia de sólido.

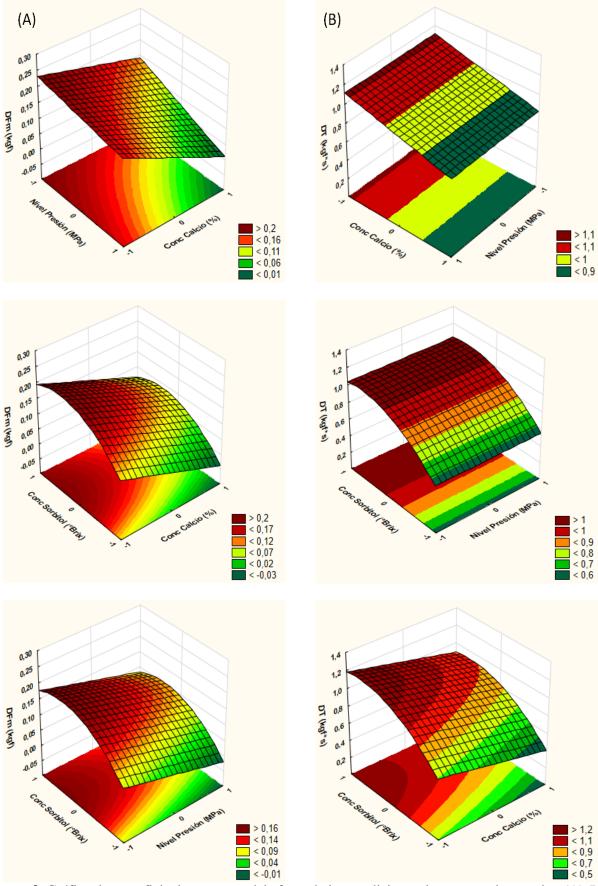
# Efecto sobre los parámetros de calidad Propiedades mecánicas

La diferencia de fuerza máxima (DFm) y trabajo (DT) entre la fruta fresca y tratada, fueron afectadas significativamente (p<0.05) en términos lineales por la concentración de calcio ( $X_2$ ) y la concentración de sorbitol ( $X_3$ ) y en términos cuadráticos por  $X_3$ . Adicionalmente, la DFm también fue afectada en términos lineales por  $X_1$  y la interacción  $X_1X_2$ . Tanto para DFm y DT todos los coeficientes fueron negativos, lo que indica un efecto decreciente sobre estos parámetros a excepción de  $X_3$  (positivo) que tuvo un efecto creciente. Según la magnitud de los coeficientes, el factor que más influyó en la DFm fue  $X_2$  y en el caso de DT fue  $X_3$ . Simultáneamente, se pudo observar que  $X_1$  tuvo efecto sobre DT, pero no fue significativo (p>0.05).

En la **Figura 3** (**A**) y **3** (**B**) se puede observar que tanto la *D*Fm y *D*T disminuyó cuando la solución contenía calcio, esto se debe a que el calcio puede formar enlaces cruzados con los grupos carboxilo libres de las cadenas de pectina, lo que resulta en el fortalecimiento de la pared celular y por tanto una disminución del daño textural (Ferrari et al. 2010). Por otro lado, si bien la aplicación de APH induce a una pérdida de firmeza producto de la alteración y permeabilización de la membrana celular (Nuñez-Mancilla et al. 2011) el agregado de calcio disminuiría este efecto. Los resultados obtenidos mostraron que las muestras tratadas con APH y calcio presentaron una disminución en la pérdida de firmeza (menor *D*Fm). La aplicación de la tecnología de APH favoreció la transferencia de masa, por lo que hay una mejor difusión del calcio hacia el tejido lo que facilita la formación de los enlaces cruzados entre los iones de calcio y los grupos carboxilo de la pectina (Rastogi et al. 2008).

Asimismo, se observó que un aumento en  $X_3$  afecta negativamente DFm y DT de los cubos de mango (**Figura 3 (A)** y **3 (B)**). Este comportamiento está asociado a la pérdida de agua e incorporación de sólidos durante la deshidratación osmótica, que provoca alteraciones como la pérdida de turgencia, la división y la degradación de la laminilla media, alteraciones en la resistencia y/o deformación de la pared celular, lisis de las membranas (plasmalema y tonoplasto), colapso celular, plasmólisis y la contracción del tejido provocando cambios en las propiedades mecánicas del producto final (Ferrari et al. 2010).

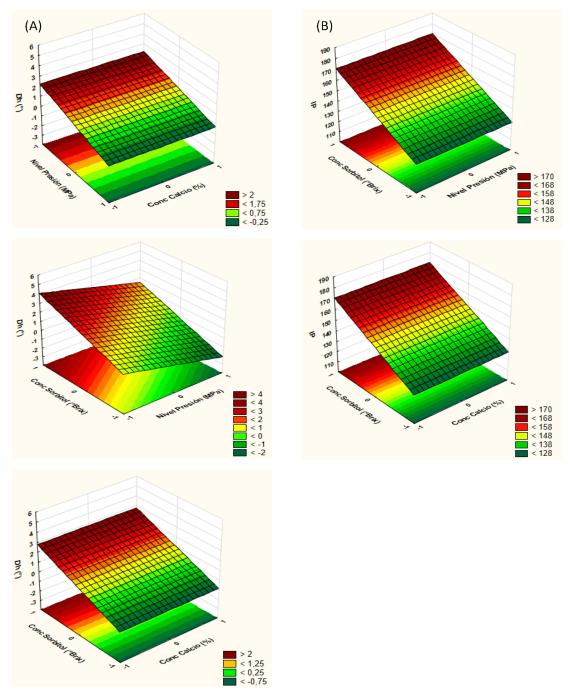




**Figura 3.** Gráfico de superficie de respuesta del efecto de las condiciones de procesamiento sobre (A) *D*Fm y (B) *D*T.

# Parámetros cromáticos

Los parámetros cromáticos, diferencia de tono (Dh) e índice de pardeamiento (IP) fueron afectados significativamente en términos lineales por la concentración de sorbitol ( $X_3$ ) y en caso de Dh fue ligeramente afectado por el nivel de presión ( $X_1$ ) (Figura 4 (A) y (B)). El coeficiente positivo de  $X_3$ , indica un efecto negativo sobre los parámetros cromáticos (aumenta IP y Dh). En tanto, el coeficiente negativo de  $X_1$  disminuye el efecto sobre Dh.



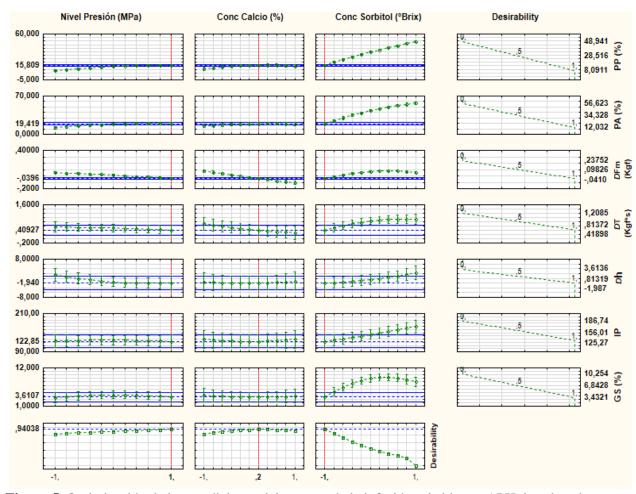
**Figura 4.** Gráfico de superficie de respuesta del efecto de las condiciones de procesamiento sobre (A) *D*h y (B) IP

Todas las muestras presentaron un h (tono) cercano a los 90° correspondientes al color amarillo de la escala CIELab. La *D*h entre las muestras frescas y tratadas se encontró en un rango de -1.99° a 3.60° (**Figura 4(A)**). La diferencia positiva indicó una reducción del h en las muestras procesadas, tendiendo hacia una leve

coloración anaranjada, mientras que la diferencia negativa tendía hacia una leve coloración verde. Estos resultados están directamente relacionados con los parámetros a\* y b\* (datos no presentados). En este trabajo, se observó que el incremento de la concentración de sorbitol generó un aumento de ambos. Por un lado, b\* presentó un rango de valores positivos, lo que indicaría una concentración de pigmentos como consecuencia de una mayor deshidratación del producto final (Landim et al. 2016). Con respecto al parámetro a\*, el mismo se ubicó entre valores negativos y positivos. Sin embargo, el rango de variación no fue mayor, lo que indicaría que el incremento de dicho parámetro se debe por la misma razón que en el comportamiento del parámetro b\*. Tanto el comportamiento de a\* como b\* se correlacionaría con el incremento de IP, ya que la concentración de los pigmentos generó una leve alteración en el color de las muestras. Visualmente, se observó que las muestras pasaron de una coloración amarilla a levemente anaranjado a medida que la solución de sorbitol era más concentrada (**Figura 4(B)**).

#### **Optimización**

La **Figura 5** muestra los perfiles de los valores predichos de las variables respuesta (pérdida de peso (PP), pérdida de agua (PA), ganancia de sólidos (GS), índice de pardeamiento (IP), diferencia del tono (*Dh*), diferencia fuerza máxima (*D*Fm) y diferencia trabajo (*D*T)), en los diferentes niveles de procesamiento para cada variable independiente (nivel de presión, concentración de calcio y concentración de sorbitol en solución osmótica). La **Figura 5** también muestra los perfiles deseabilidad (desirability) para cada respuesta y el perfil global de la función deseabilidad. De acuerdo a los valores obtenidos las condiciones óptimas de procesamiento de la infusión asistida por APH de cubos de mango fueron nivel de presión de 600MPa combinado con una solución de 20°Brix de sorbitol y 1.20% (p/p) de lactato de calcio, con esta combinación se consigue el valor máximo de desirability (0,94). Bajo estas condiciones los valores predichos de cada variable respuesta fueron PP: 15.81%, PA: 19.42%, GS: 3.61%, IP: 123 *D*Fm: -0.040 kgf, *D*T: 0.41 kgf\*s y *D*h: -1.94.



**Figura 5.** Optimización de las condiciones del proceso de la infusión asistida por APH de cubos de mango. Perfiles de valores predichos y desirability para cada respuesta y desirability global.

## **CONCLUSIONES**

El diseño experimental Box-Benhken utilizado en este trabajo fue una herramienta eficaz para optimizar las condiciones del procesamiento infusión asistida con (APH) de cubos de mango, alcanzando los objetivos deseables de las variables respuestas. El modelo aplicado ajustó correctamente para todas las variables de respuestas analizadas. Las condiciones óptimas de procesamiento encontradas fueron nivel de presión de 600MPa combinado con una solución de 20°Brix de sorbitol y 1.20% (p/p) de lactato de calcio. Bajo estas condiciones, los valores predichos fueron PP: 15.81%, PA: 19.42%, GS: 3.61%, IP: 123, DFm: -0.040kgf, DT: 0.41 kgf\*s y Dh: -1.94. Por lo tanto, las condiciones óptimas obtenidas pueden ser recomendables para la aplicación de la infusión asistida con altas presiones hidrostáticas para cubos de mango tratados con sorbitol y lactato de calcio.

# **BIBLIOGRAFÍA**

AOAC (1990) Association of Official Analytical Chemists no. 934.06 (15th ed), Arlington, MA, Washington Baş, D., & Boyacı, İ. H. (2007). Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. Journal of Food Engineering, 78(3), 836-845.

Chiralt, A., Martínez-Navarrete, N., Martínez-Monzó, J., Talens, P., Moraga, G., Ayala, A., & Fito, P. (2001). Changes in mechanical properties throughout osmotic processes: Cryoprotectant effect. Journal of Food Engineering, 49(2–3), 129-135.

Falade, K. O., Igbeka, J. C., & Ayanwuyi, F. A. (2007). Kinetics of mass transfer, and colour changes during osmotic dehydration of watermelon. Journal of Food Engineering, 80(3), 979-985.

Ferrari, C. C., Carmello-Guerreiro, S. M., Bolini, H. M. A., & Hubinger, M. D. (2010). Structural Changes, Mechanical Properties and Sensory Preference of Osmodehydrated Melon Pieces with Sucrose and Calcium Lactate Solutions. International Journal of Food Properties, 13(1), 112-130.

Gras, M. L., Vidal, D., Betoret, N., Chiralt, A., &Fito, P. (2003). Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation: Interactions with cellular matrix. Journal of Food Engineering, 56(2–3), 279-284.

Guiamba, I., Ahrné, L., Khan, M. A. M., &Svanberg, U. (2016). Retention of β-carotene and vitamin C in dried mango osmotically pretreated with osmotic solutions containing calcium or ascorbic acid. Food and Bioproducts Processing, 98, 320-326.

Jahurul, M. H., Zaidul, I. S., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F. Y., Nyam, K. L., Norulaini, N. A., . . . Mohd Omar, A. K. (2015). Mango (Mangiferaindica L.) by-products and their valuable components: a review. Food Chem, 183, 173-180.

Landim, A. P. M., Barbosa, M. I. M. J., & Júnior, J. L. B. (2016). Influence of osmotic dehydration on bioactive compounds, antioxidant capacity, color and texture of fruits and vegetables: a review. Ciência Rural, 46, 1714-1722.

Lovera, N., Ramallo, L., & Salvadori, V. (2014). Effect of Processing Conditions on Calcium Content, Firmness, and Color of Papaya in Syrup. Journal of Food Processing, 2014, 1-8.

Mastrantonio, S., Pereira, L. M., & Hubinger, M. D. (2005). Osmotic dehydration kinetics of guavas in maltose solutions with calcium salt. Alimentos e Nutrição Araraquara, 16(4), 309-314.

Nuñez-Mancilla, Y., Pérez-Won, M., Uribe, E., Vega-Gálvez, A., & Di Scala, K. (2013). Osmotic dehydration under high hydrostatic pressure: Effects on antioxidant activity, total phenolics compounds, vitamin C and colour of strawberry (Fragariavesca). LWT - FoodScience and Technology, 52(2), 151-156.

Nuñez-Mancilla, Y., Perez-Won, M., Vega-Gálvez, A., Arias, V., Tabilo-Munizaga, G., Briones-Labarca, V., Di Scala, K. (2011). Modeling mass transfer during osmotic dehydration of strawberries under high hydrostatic pressure conditions. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 12(3), 338-343.

Rastogi, N. K., Angersbach, A., & Knorr, D. (2000). Synergistic effect of high hydrostatic pressure pretreatment and osmotic stress on mass transfer during osmotic dehydration. Journal of Food Engineering, 45(1), 25-31.

Rastogi, N. K., Nguyen, L. T., Jiang, B., &Balasubramaniam, V. M. (2008). Improvement in Texture of Pressure-Assisted Thermally Processed Carrots by Combined Pretreatment using Response Surface Methodology. Food and Bioprocess Technology, 3(5), 762-771.

Siddiq, M., Akhtar, S., &Siddiq, R. (2012). Mango Processing, Products and Nutrition Tropical and Subtropical Fruits (pp. 277-297): Wiley-Blackwell.

Silva, K. S., Fernandes, M. A., & Mauro, M. A. (2014). Effect of calcium on the osmotic dehydration kinetics and quality of pineapple. Journal of Food Engineering, 134, 37-44.

Tharanathan, R. N., Yashoda, H. M., &Prabha, T. N. (2006). Mango (Mangiferaindica L.), "The King of Fruits"—An Overview. Food Reviews International, 22(2), 95-123.

Torres, J. D., Talens, P., Escriche, I., &Chiralt, A. (2006). Influence of process conditions on mechanical properties of osmotically dehydrated mango. Journal of Food Engineering, 74(2), 240-246.

Verma, D., Kaushik, N., & Rao, P. S. (2013). Application of High Hydrostatic Pressure as a Pretreatment for Osmotic Dehydration of Banana Slices (Musa cavendishii) Finish-Dried by Dehumidified Air Drying. Food and Bioprocess Technology, 7(5), 1281-1297.

Zhao, J.-H., Hu, R., Xiao, H.-W., Yang, Y., Liu, F., Gan, Z.-L., & Ni, Y.-Y. (2014). Osmotic dehydration pretreatment for improving the quality attributes of frozen mango: effects of different osmotic solutes and concentrations on the samples. International Journal of FoodScience&Technology, 49(4), 960-968.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen el apoyo financiero del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuario (INTA) a través del proyecto PNAIyAV 1130033 y a la Estación Experimental de Cultivos Tropicales de Yuto de INTA por cedernos los frutos para la realización del trabajo.



## VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

# Estudio del proceso de rehidratación de frambuesas deshidratadas por diferentes métodos Sette P.1\*, Gasparri A.1, Schebor C.2\* y Salvatori D.1\*

Dirección de e-mail: daniela.salvatori@probien.gob.ar

#### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de rehidratación a 25°C, 40°C y 60°C de frambuesas deshidratadas por diferentes métodos. Se realizó un pretratamiento de deshidratación osmótica (DO) y posterior secado convectivo (S) y liofilizado (L). La DO consistió en procesos de infusión seca (IS) e infusión húmeda (IH), estudiándose el efecto del agregado de bisulfito de sodio y ácido cítrico (BAC) en comparación con muestras sin pretratamiento (C). El modelo de Weibull resultó el más adecuado para describir la cinética de rehidratación a las tres temperaturas estudiadas y las frambuesas sin pre-tratamiento registraron la mayor capacidad de absorción de agua. Con respecto al volumen del producto rehidratado, las frambuesas controles liofilizados fueron las que más recuperaron el volumen de la fruta fresca. Según el análisis de color superficial predominaron las tonalidades anaranjadas al final de la rehidratación en muestras pretratadas, ya que las muestras control mantuvieron las tonalidades rojas aún en el estado de máxima capacidad de absorción. Se detectó un aumento de luminosidad en todas las muestras y en todas las condiciones. De acuerdo a los resultados obtenidos se arriba a la posibilidad de desarrollar productos diferentes en base a frambuesas rehidratadas.

Palabras clave: frambuesas, deshidratación osmótica, liofilización, secado convectivo, capacidad de rehidratación.

## **ABSTRACT**

The aim of this study was to analyze the rehydration ability at 25°C, 40°C and 60°C of raspberries that were dehydrated by air-drying and freeze-drying. Prior to dehydration, raspberries were subjected to the following pretreatments: dry infusion in sucrose (IS) and wet infusion in sucrose syrup (IH). Additives were added to the infusions: sodium bisulfite and citric acid (IS-BAC, IH-BAC). Results were compared to fruits dehydrated without pretreatment (C). The Weibull model properly described the rehydration kinetics at the three studied temperatures. It was observed that raspberries without pretreatment showed the highest water absorption capacity. With respect to the volume of the rehydrated product, freeze-dried control raspberries (CL) presented the highest volume recovery of the fresh fruit. Regarding superficial color, orange hues predominated at the end of rehydration in pretreated samples, while control samples maintained the red tones even at maximum absorption capacity. An increased in lightness was observed in all samples at all conditions. According to the results obtained, the possibility of developing different products based on rehydrated raspberries was achieved.

Keywords: raspberry, osmotic dehydration, freeze-drying, air-drying, rehydration capacity.

# INTRODUCCIÓN

Algunos alimentos deshidratados enteros, en trozos o pulverizados, deben ser rehidratados para su consumo o su uso posterior en diferentes procesos. El objetivo fundamental de una correcta rehidratación es poder reconstituir el alimento deshidratado de manera que sea lo más parecido posible a su estado fresco. Sin embargo, no son sólo los criterios de calidad los que se deben tener en cuenta, sino también el método de secado utilizado y las condiciones operativas elegidas en las distintas etapas de procesamiento. Es por ello que el estudio de la transferencia de materia ocurrida durante el fenómeno de rehidratación es importante. Se debe considerar por un lado que la rehidratación no es el proceso inverso a la deshidratación, ya que ambos fenómenos tienen lugar mediante diferentes mecanismos de transferencia de materia y dependen de diversos

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> PROBIEN (CONICET-UNCO), Universidad Nacional del Comahue. Argentina.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Argentina.

<sup>\*</sup>Miembros del CONICET, Argentina

factores. Además, las operaciones previas a la deshidratación tienen marcada influencia sobre las características y la composición del producto finalmente rehidratado. Por ejemplo, ciertos azúcares presentan un comportamiento protector sobre la estructura celular no sólo durante la deshidratación sino también durante la posterior rehidratación, al modificar las condiciones de transición de fase de los lípidos de la membrana, responsables de la rotura de la bicapa lipídica (Lewicki, 1998).

Otro aspecto a considerar es que una cantidad importante de sólidos solubles puede migrar a la solución durante la rehidratación, afectando la calidad nutricional del producto y su capacidad de captación de agua (Aguado Alonso, 2002). Aquellos pre-tratamientos que contribuyan a mantener la integridad de los tejidos podrían evitar mayores pérdidas de sólidos.

La capacidad de los productos alimenticios para reconstituir su estructura original dependerá ante todo de la estructura interna del producto rehidratado y del grado en que los componentes de retención de agua (por ejemplo, proteínas y almidón) han sido dañados durante la deshidratación (Breman et al., 1990).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de rehidratación, el color superficial y la recuperación de volumen de frambuesas deshidratadas por distintos métodos, luego de la rehidratación a 25°C, 40°C y 60°C.

# MATERIALES Y MÉTODOS

#### **Materiales**

Se utilizaron frambuesas congeladas var. Autumn Bliss (humedad 85% (p/p), aw 0,97 y 8,8°Brix), cultivadas en Plottier (provincia de Neuquén, Argentina).

## **Pre-tratamientos**

Se realizaron tratamientos de infusión seca (IS) e infusión húmeda (IH). Se utilizó sacarosa como humectante y distintos conservadores (sorbato de potasio, bisulfito de sodio y ácido cítrico. En ambos casos los solutos fueron calculados para alcanzar una actividad de agua (a<sub>w</sub>) final en el sistema osmotizado de 0,85. Los sistemas preparados fueron los siguientes:

- 1) Infusión seca con agregado de ácido cítrico y bisulfito de sodio (IS-BAC): las frutas fueron mezcladas en seco con el humectante y los aditivos.
- 2) Infusión húmeda con agregado de ácido cítrico y bisulfito de sodio (IH-BAC): las frutas se sumergieron en una solución acuosa del humectante y los aditivos

#### Proceso de deshidratación

La deshidratación se llevó a cabo mediante secado convectivo (S) y liofilización (L) hasta alcanzar un valor de  $a_w$  de 0,33 El secado convectivo se realizó en estufa de convección ( $T_{aire} = 60^{\circ}$ C, velocidad<sub>aire</sub> = 1,3 m/s y % HR = 10%) y la liofilización se llevó a cabo por 48 hs ( $T_{placa\ condensadora} = -95^{\circ}$ C y presión = 4 Pa).

# Proceso de rehidratación

El proceso de rehidratación fue llevado a cabo en un baño termostatizado con agua destilada a diferentes temperaturas (25, 40 y 60°C), utilizando una relación de 1 g de fruta deshidratada en 20 mL de agua. Para el estudio de la cinética de rehidratación se pesaron las muestras a distintos intervalos de tiempo hasta alcanzar un plateau y/o un descenso de la ganancia de peso. Para el resto de los ensayos se eligieron tres tiempos específicos (5 minutos, 20 minutos y final de la rehidratación).

## Modelos matemáticos para el estudio de la cinética de rehidratación

Se utilizaron dos modelos semiempíricos (Peleg, Weibull) y el modelo difusional de Fick

Modelo de Peleg 
$$X = X_0 + \frac{t}{(k_1 + k_2 t)}(1)$$

#### Donde:

X = humedad del producto a un tiempo t (kg agua/kg m.s.)

 $X_0$  = humedad inicial del producto (kg agua/kg m.s.)

t = tiempo del proceso (min)

k<sub>1</sub>= constante de velocidad de Peleg (min<sup>-1</sup>)

 $k_2$  = constante de capacidad de Peleg (kg agua/kg m.s.)<sup>-1</sup>

El parámetro  $k_1$  se define como la inversa de la velocidad de transferencia de agua al inicio del proceso y  $k_2$  es la inversa de los valores asintóticos de las curvas, de manera que:

a 
$$t = 0$$
  $dX/dt = 1/k_1$ 

a 
$$t \rightarrow \infty$$
  $X_e = X_0 + 1/k_2$ 

Modelo Probabilístico de Weibull

$$X^* = \exp(-(\frac{t}{\beta}))^{\alpha} \tag{2}$$

Donde:

 $\beta$  = parámetro de velocidad (min<sup>-1</sup>)

 $\alpha$  = parámetro de forma (adimensional)

Análogamente a la constante  $k_1$  del modelo de Peleg, el parámetro  $\beta$  mide la velocidad de absorción de agua del proceso cuando todavía los capilares y las cavidades cercanas a la superficie se llenan muy rápido. El parámetro de forma estaría relacionado con los diferentes mecanismos de transporte que pueden tener lugar como los difusivos, los convectivos y los mecanismos de relajación de la matriz del tejido (Goula y Adamopoulos, 2009).

Modelo de Fick

$$X^* = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-n^2 \frac{D_{\text{eff}} t}{r^2}\right)$$
 (3)

Donde:

 $X^* = (X - X_e)/(X_0 - X_e)$ 

 $D_{eff}$  = coeficiente de difusión (m<sup>2</sup>/h)

 $r = es el radio promedio correspondiente a <math>X_0$  (m),

t = tiempo de rehidratación (h)

X<sub>e</sub> = humedad del producto en el equilibrio (kg agua/kg m.s.)

Se asumió geometría esférica y constante, humedad inicial uniforme, resistencia externa despreciables a la transferencia de masa, proceso isotérmico y  $D_{\text{eff}}$  constante a lo largo de todo el sólido.

## Índice de rehidratación

Se calculó la capacidad de rehidratación CR, definida según Levi et al. (1988) como:

$$CR\left(\%\frac{p}{p}\right) = \left(\frac{m_{rh}}{m_{dh}}\right) \times 100 \tag{4}$$

Donde:

 $m_{rh}$  = masa de la muestra rehidratada (g)

m<sub>dh</sub> = masa de la muestra deshidratada (g)

## Análisis fisicoquímico de las muestras rehidratadas

Actividad Acuosa (aw)

Se midió a 25°C empleando un higrómetro de punto de rocío (método 925.09 AOAC, 1990).

## Recuperación de volumen

Se calculó a partir de la medida de volumen (por picnometría) de las muestras antes y después de la rehidratación según la ecuación:

$$V = \frac{\left(M_m + M_{p+a} - M_{p+a+m}\right)}{\rho_a} \tag{5}$$

Donde:

V = volumen de la muestra (mL)

 $M_m = masa de la muestra (g)$ 

M<sub>p+a</sub> = masa del picnómetro con tolueno

M<sub>p+a+m</sub> = masa del picnómetro con tolueno conteniendo la muestra (g)

 $\rho_a$  = densidad del tolueno, corregida por temperatura (g/mL)

La recuperación de volumen (Rv, %), se calculó a partir de la siguiente ecuación:



VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

$$Rv\% = \frac{Vx100}{V_f}$$
 (6)

Donde:

V = volumen de la fruta rehidratada

V<sub>f</sub> = volumen de la fruta de referencia (frambuesa congelada)

## Color superficial

El color fue medido en un fotocolorímetro con iluminante C y 2º de ángulo de observador, sobre 10 frambuesas, registrando los parámetros L\*, a\*, b\* del espacio CIELAB.

## Análisis estadístico

Se realizó un ANOVA factorial y el test Tukey (p < 0.05) para analizar las diferencias entre los distintos tratamientos aplicados. Se utilizaron triplicados para todas las determinaciones, excepto para la medición de color. La bondad del ajuste de los modelos matemáticos utilizados para el estudio de la cinética de rehidratación se analizó mediante los estadísticos  $r^2$  (coeficiente de determinación) y RMSE (error cuadrado medio residual):

RMSE = 
$$\left[\frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N} \left(X_{\text{exp, i}}^* - X_{\text{pre, i}}^*\right)\right]^{1/2}$$
 (7)

Donde:

 $X_{exp}^*$  es el contenido de humedad determinado experimentalmente y  $X_{pre}^*$  es el contenido de humedad predicho mediante los modelos matemáticos aplicados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Estudio de la cinética de rehidratación

La **Figura 1** muestra las curvas de rehidratación experimentales a 25°C, 40°C y 60°C de los distintos productos con las correspondientes curvas predichas con el modelo de Weibull (líneas continuas). El modelo teórico de Fick no resultó adecuado para describir matemáticamente los datos experimentales de rehidratación, siendo los valores de r²< 0,94 en todas las muestras (datos no mostrados). Los parámetros cinéticos de los modelos empíricos se presentan en la **Tabla 1** (modelo de Peleg) y **Tabla 2** (modelo de Weibull), en las que se observa que con el modelo de Weibull se obtuvieron valores de r²> 0,98 y RMSE<0,05 en la mayoría de los casos. Por otro lado, con ambos modelos el ajuste fue mejor al aumentar la temperatura del proceso, (>r² y <RMSE). Varios autores obtuvieron resultados similares al estudiar la cinética de rehidratación en diferentes productosvegetales (Marabi et al., 2003; García-Pascual et al., 2006; Vega-Galvez et al., 2009).

La muestra liofilizada (CL) presentó mayor velocidad de rehidratación que la muestra control secada por corriente de aire (CS) (Figura 1), la cual disminuyó a mayores temperaturas de rehidratación. La curva CL presentó una pendiente inicial más abrupta (>  $1/k_1$  y  $1/\beta$ ) alcanzando su máxima capacidad de rehidratación en un período muy corto de tiempo (<1min). Estudios realizados sobre distintos productos deshidratados indicaron que durante la primera etapa de rehidratación el agua llena los espacios de aire presentes en el alimento (Witrowa-Rajchert y Lewicki, 2006), razón por la cual una mayor porosidad de las muestras CL justificaría la mayor velocidad de rehidratación. Por otro lado, las altas temperaturas a las que es sometido el tejido durante el secado convectivo, conducen a una estructura de capilares colapsados que reducen la velocidad de rehidratación (Falade et al., 2007). Este comportamiento se presentó a 25°C y a 40°C, pero a 60°C ambas muestras alcanzaron la máxima capacidad de rehidratación a una misma velocidad y tiempo, alcanzando el mismo contenido de agua final luego de la rehidratación.



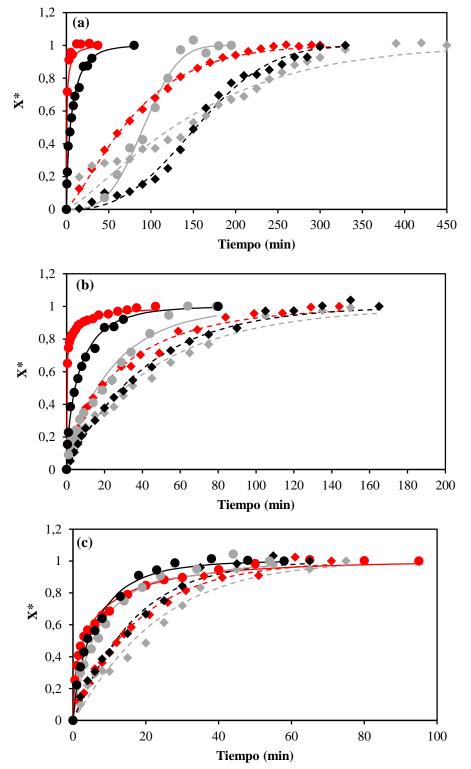


Figura 1. Curvas experimentales y predichas de la cinética de rehidratación: datos experimentales (símbolos) y datos predichos por el modelo de Weibull (líneas). (a) 25°C, (b) 40°C, (c) 60°C. Frambuesas secadas por corriente de aire (círculos y líneas punteadas) y liofilizadas (rombohttps://www.facebook.com/viqui.bustos?fref=pb&hc\_location=profile\_browsers y líneas continuas) = C (◆), IH-BAC (▲), IS-BAC (●).

**Tabla 1.** Parámetros del modelo de Peleg (k<sub>1</sub> y k<sub>2</sub>) utilizado para describir las cinéticas de rehidratación a 25°C, 40°C y 60°C de muestras control (CL y CS) y pretratadas (IH-BAC, IS-BAC) sometidas a procesos de deshidratación por liofilización y secado convectivo.

| Temperatura rehidratación | Muestras             |                          | $k_1$                                  | $k_2$                                | $r^2$ | RMSE  |
|---------------------------|----------------------|--------------------------|--|--------------------------------------|-------|-------|
| 25°C                      | Secado<br>convectivo | C                        | $0,56 \pm 0,08^{a}$                    | $0,0038 \pm 0,0005^{ab}$             | 0,99  | 2,238 |
|                           |                      | IH-BAC                   | $5,27 \pm 0,09^{b}$                    | $0,016 \pm 0,003^{e}$                | 0,97  | 1,849 |
|                           |                      | IS-BAC                   | $7,2 \pm 0,2^{c}$                      | $0,0023 \pm 0,0002^{a}$              | 0,98  | 2,012 |
|                           | Liofilización        | С                        | $0,0033 \pm 0,0003^{a}$                | $0,0056 \pm 0,0004^{abcd}$           | 0,99  | 3,287 |
|                           |                      | IH-BAC                   | $6.9 \pm 0.9^{c}$                      | $0,007 \pm 0,002^{bcd}$              | 0,97  | 1,173 |
|                           |                      | IS-BAC                   | $6,3 \pm 0,6^{c}$                      | $0,059 \pm 0,003^{g}$                | 0,95  | 0,697 |
| 40°C                      | Secado<br>convectivo | С                        | $0,12 \pm 0,02^{a}$                    | $0,0048 \pm 0,0002^{abc}$            | 0,99  | 0,992 |
|                           |                      | IH-BAC                   | $0,51 \pm 0,04^{a}$                    | $0,0098 \pm 0,0007^{d}$              | 0,98  | 0,774 |
|                           |                      | IS-BAC                   | $0,51 \pm 0,09^{a}$                    | $0,00875 \pm 0,00001^{bcd}$          | 0,99  | 0,435 |
|                           | Liofilización        | С                        | $0,003 \pm 0,002^{a}$                  | $0,00501 \pm 0,00001^{abc}$          | 0,97  | 1,693 |
|                           |                      | IH-BAC                   | $0,34 \pm 0,07^{a}$                    | $0,0089 \pm 0,0009^{cd}$             | 0,97  | 0,989 |
|                           |                      | IS-BAC                   | $0,1386 \pm 0,0105^{a}$                | $0,\!028 \pm 0,\!002^{\mathrm{f}}$   | 0,97  | 0,464 |
| 60°C                      | Secado<br>convectivo | C                        | $0,066 \pm 0,005^a$                    | $0,0047 \pm 0,0004^{abc}$            | 0,99  | 1,279 |
|                           |                      | IH-BAC                   | $0,59 \pm 0,02^{a}$                    | $0,017195 \pm 0,00002^{e}$           | 0,97  | 0,557 |
|                           |                      | IS-BAC                   | $0,25 \pm 0,03^{a}$                    | $0,0178 \pm 0,0001^{e}$              | 0,97  | 0,617 |
|                           | Liofilización        | С                        | $0,015 \pm 0,001^{a}$                  | $0,00602 \pm 0,00004^{abcd}$         | 0,96  | 2,201 |
|                           |                      | IH-BAC                   | $0,1005 \pm 0,0174^{a}$                | $0,\!0152 \pm 0,\!0012^{\rm e}$      | 0,97  | 0,769 |
|                           |                      | IS-BAC                   | $0,08 \pm 0,02^{a}$                    | $0,019 \pm 0,0012^{e}$               | 0,98  | 0,506 |
|                           |                      | Interacción <sup>I</sup> | secado*infusion<br>*temp.rehidratacion | secado*infusion * temp.rehidratacion |       |       |

En cada columna, las medias con el mismo superíndice no presentan diferencias significativas (p> 0,05).

Interacción obtenida del análisis de ANOVA factorial

La temperatura influye sobre ciertas características del producto como la estructura de paredes y membranas celulares, produciendo normalmente la pérdida de nutrientes y pigmentos, lo que puede evitarse en parte con algunos tratamientos previos al secado. Se ha demostrado que rehidratar a temperaturas menores a 40°C mantiene la estructura original de las pectinas presentes en la pared celular mejorando la capacidad de absorción de agua por el tejido (Marín et al., 2006).

Las frambuesas pretratadas (**Figura 1**) presentaron una menor capacidad de incorporación de agua que las muestras control en todos los tiempos de rehidratación evaluados, como consecuencia de los cambios en la composición química y de la distribución de los componentes en el tejido provocados por la deshidratación osmótica. Se evidenció una tasa de incorporación de agua muy inferior ( $>k_1$ ) y un menor valor de equilibriosobre todo a  $25^{\circ}$ C, probablemente debido a la presencia de una resistencia adicional generada por concentración de solutos en la fruta durante la ósmosis previa. En los primeros estadios de rehidratación se disuelve esta capa superficial de azúcar que hace que la absorción de agua en el interior sea más difícil. Este comportamiento no se observó para el caso de las frutas deshidratadas control, lo cual se refleja en la pendiente inicial más abrupta en la velocidad de rehidratación con respecto a las muestras pretratadas.

En la **Tabla 2** se muestran los valores de los parámetros  $\alpha$  y  $\beta$  característicos obtenidos mediante el modelo de Weibull. Se observó que la temperatura no tuvo una influencia clara sobre el parámetro  $\alpha$ , ya que en todos los casos disminuyó a los 40°C, pero a 60°C el comportamiento fue aleatorio. Análogamente a la constante de velocidad de Peleg  $k_1$ , el parámetro de escala  $\beta$  evolucionó de manera inversamente proporcional a la temperatura de rehidratación aplicada, excepto en las muestras CL, en las que se observó un aumento de  $\beta$  y

k<sub>1</sub> con la temperatura. Este comportamiento podría deberse al daño que causaron las altas temperaturas sobre la porosidad de las muestras liofilizadas sin pretratamiento, lo que evidencia la mayor fragilidad de estas muestras. Si bien durante la liofilización se logra una estructura más abierta y porosa en el producto seco que admite una rápida incorporación de agua, al mismo tiempo, el efecto del congelado previo sobre la estructura, combinado con las altas temperaturas de rehidratación conducen a un tejido más desorganizado con pérdida de porosidad y con una menor capacidad de recuperación del agua inicial de la fruta.

**Tabla 2.** Parámetros del modelo de Weibull (α y β) utilizado para describir las cinéticas de rehidratación a 25°C, 40°C y 60°C de muestras control (CL y CS) y pretratadas (IH-BAC, IS-BAC) sometidas a procesos de deshidratación por liofilización y secado convectivo.

| Temperatura<br>rehidratación | Muestras             |                          | α                                      | В                                      | $\mathbf{r}^2$ | RMSE  |
|------------------------------|----------------------|--------------------------|--|--|----------------|-------|
| 25°C                         | Secado<br>convectivo | С                        | $1,259 \pm 0,024^{\rm e}$              | $89,55 \pm 0,31^{\rm f}$               | 0,99           | 0,016 |
|                              |                      | IH-BAC                   | $1,08 \pm 0,23^{de}$                   | $171,33 \pm 3,16^{g}$                  | 0,94           | 0,068 |
|                              |                      | IS-BAC                   | $2,3 \pm 0,4^{\rm f}$                  | $178,9 \pm 3,2^{g}$                    | 0,98           | 0,045 |
|                              | Liofilización        | С                        | $0,\!467 \pm 0,\!107^{ab}$             | $0,68 \pm 0,05^{\mathrm{a}}$           | 0,99           | 0,035 |
|                              |                      | IH-BAC                   | $2,636 \pm 0,107^{g}$                  | $95,7073 \pm 6,1005^{\mathrm{f}}$      | 0,96           | 0,08  |
|                              |                      | IS-BAC                   | $1.8 \pm 0.2^{\rm f}$                  | $62,33 \pm 6,15^{e}$                   | 0,97           | 0,057 |
|                              | Secado<br>convectivo | C                        | $0.87 \pm 0.09^{bcde}$                 | $28,3 \pm 2,4^{c}$                     | 0,99           | 0,027 |
|                              |                      | IH-BAC                   | $0,92\pm0,03^{bcde}$                   | $42,99 \pm 5,59^{d}$                   | 0,97           | 0,05  |
| 400.0                        |                      | IS-BAC                   | $0.99\pm0.02^{cde}$                    | $45.8 \pm 5.8^{de}$                    | 0,99           | 0,029 |
| 40°C                         | Liofilización        | C                        | $0,34 \pm 0,09^{a}$                    | $1,19 \pm 1,14^{ab}$                   | 0,98           | 0,025 |
|                              |                      | IH-BAC                   | $0.93 \pm 0.05^{bcde}$                 | $26,12 \pm 2,53^{\circ}$               | 0,96           | 0,06  |
|                              |                      | IS-BAC                   | $0,64 \pm 0,06^{abcd}$                 | $7.3 \pm 0.4^{ab}$                     | 0,98           | 0,045 |
|                              | Secado<br>convectivo | C                        | $0.88 \pm 0.07^{\text{bcde}}$          | $15,99 \pm 1,44$ <sup>bc</sup>         | 0,99           | 0,03  |
|                              |                      | IH-BAC                   | $0,9576 \pm 0,1017^{cde}$              | $23,96 \pm 1,15^{c}$                   | 0,96           | 0,062 |
| 60°C                         |                      | IS-BAC                   | $1,08 \pm 0,06^{	ext{de}}$             | $15,18 \pm 1,54^{abc}$                 | 0,99           | 0,044 |
| 60°C                         | Liofilización        | С                        | $0,49 \pm 0,03^{abc}$                  | $5,94 \pm 0,14^{ab}$                   | 0,99           | 0,024 |
|                              |                      | IH-BAC                   | $0.81 \pm 0.21^{abcde}$                | $17,6 \pm 14,5^{abc}$                  | 0,98           | 0,168 |
|                              |                      | IS-BAC                   | $0,66 \pm 0,16^{abcd}$                 | $6.3 \pm 0.6^{ab}$                     | 0,99           | 0,029 |
|                              |                      | Interacción <sup>I</sup> | secado*infusion<br>*temp.rehidratacion | secado*infusion<br>*temp.rehidratacion |                |       |

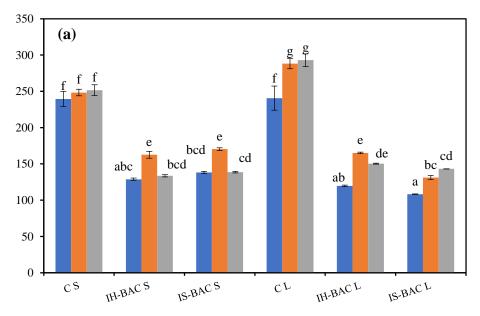
En cada columna, las medias con el mismo superíndice no presentan diferencias significativas (p> 0,05).

Interacción obtenida del análisis de ANOVA factorial

# Índices de rehidratación

Se analizó el índice de rehidratación CR calculado al final del proceso de rehidratación (**Figura 2**). Las frambuesas sin pretratamiento (CS y CL) registraron una mayor capacidad de absorción de agua a las tres temperaturas, en comparación con las frambuesas pretratadas. Al final de la rehidratación a 25°C el valor de CR fue similar en ambas muestras, pero se observaron diferencias a 40 y 60°C. Por otro lado, los valores de CR disminuyeron significativamente (p<0,05) en muestras pretratadas en comparación con sus respectivos controles. El pretratamiento causó una disminución de la capacidad de captación de agua final debido al ingreso de azúcares a los espacios intercelulares de las frutas (Lazárides et al., 1999) durante la etapa de infusión, lo cual condujo a una menor porosidad de estas muestras durante el secado posterior. La capacidad de rehidratación pudo verse disminuida en las frambuesas pretratadas debido a la combinación de distintos factores que afectan la habilidad de la estructura para absorber agua. El colapso de la estructura y el encostramiento superficial desarrollado durante el secado dificulta la rehidratación posterior, lo que pudo

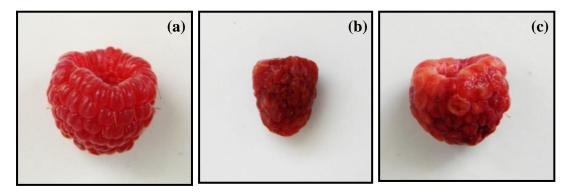
observarse principalmente en muestras con un mayor contenido de azúcares. En términos generales el CR de las muestras pretratadas no registró grandes diferencias entre secadas y liofilizadas, lo que demuestra que, si bien la liofilización protege la estructura primaria y la forma de los materiales durante la sublimación del agua, con este proceso no es posible la restauración completa de las muestras frescas luego de la rehidratación. Por otro lado, se observa en las muestras pretratadas que la capacidad final aumenta a los 40°C pero vuelve a disminuir a los 60°C, probablemente debido a una mayor pérdida de solutos al medio de rehidratación, así como también debido a que los cambios estructurales se vuelven irreversibles, de manera que los materiales perdieron la habilidad para recuperar el agua perdida.



**Figura 2.** Índice de rehidratación CRa25°C (■), 40°C (■) y 60°C (■) al tiempo final de la rehidratación de las frambuesas pretratadas (IH-BAC e IS-BAC) y sin pretratamiento (C) sometidas a procesos de secado por corriente de aire (S) y liofilización (L). En cada barra, las medias con el mismo superíndice no presentan diferencias significativas (p> 0,05).

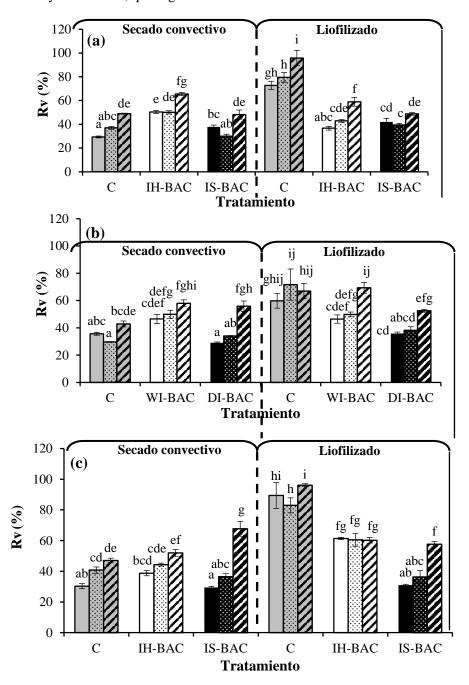
## Recuperación de volumen (Rv)

En la Figura 3se presentan imágenes de algunas muestras rehidratadas en distintas condiciones y la frambuesa fresca o muestra de referencia (a). Puede observarse que en el caso de la frambuesa pretratada IS-BAC secada por corriente de aire (b), la muestra experimentó una baja recuperación de volumen (29,9 %  $\pm$  1,7 %), en cambio en la frambuesa control liofilizada (c) se obtuvo una recuperación cercana al volumen de la referencia (95,7 %  $\pm$  6,4 %).



**Figura 3.** Imágenes de frambuesa fresca (a), muestra IS-BAC S rehidratada por 20 minutos a 25°C (b) y muestra control liofilizada rehidratada a tiempo final a 25°C (c).

Se observó que el porcentaje de Rv conseguido luego del proceso de rehidratación aumentó a mayores tiempos de rehidratación (Figura 4). En cambio, el aumento de la temperatura no produjo cambios significativos en Rv a un mismo tiempo de rehidratación, excepto en las muestras pretratadas con infusión seca (IS-BAC) secadas y liofilizadas, que registraron un aumento en Rv al final de la rehidratación.



**Figura 4.** Porcentaje de recuperación de volumen (Rv) observado en las frambuesas rehidratadas a5 minutos (□), a 20 minutos (iii) y al final de la rehidratación (ℤ), a 25°C (a), 40°C (b) y 60°C (c), después de ser sometidas a secado por corriente de aire o liofilizado para las diferentes muestras: Control, IH-BAC e IS-BAC. Las barras verticales representan la desviación estándar de la media. Barras con diferente letra son significativamente distintas (p<0,05).

Por otro lado, las mayores recuperaciones de volumen se registraron en las frambuesas pretratadas con infusiones húmedas, tanto secadas por corriente de aire como liofilizadas, y en las muestras control liofilizadas (CL). El menor valor de Rv se observó en las muestras IS-BAC S.

## Evaluación del color superficial

Todas las muestras rehidratadas registraron un aumento en los valores de L\*, a\* y b\* respecto a la fruta fresca (**Tablas 3**). En general, el aumento de a\* en muestras control fue más significativo en las muestras liofilizadas, lo que estaría indicando mayores tonalidades rojas en comparación con las muestras secadas en corriente de aire, las cuales sufren cambios fundamentalmente en b\*, es decir hay un desplazamiento hacia tonalidades más amarillentas, sobre todo las muestras pretratadas. En cuanto a la luminosidad (L\*), es interesante notar que el proceso de rehidratación promovió un aumento en los valores en todas las temperaturas estudiadas, debido no sólo al mayor contenido de agua sino también a la pérdida de pigmentos al medio de rehidratación (Gowen et al., 2008),

**Tabla 3.** Parámetros L\*, a\* y b\* de frambuesa fresca y de frambuesas rehidratadas a 25°C, 40°C y 60°C hasta tiempo final de rehidratación.

| Temperatura<br>rehidratación | Mue                  | estras                   | $L^*$                                  | a*                                     | <i>b</i> *                           |  |
|------------------------------|----------------------|--------------------------|--|--|--------------------------------------|--|
|                              | Frambuesa Fresca     |                          | $24,4 \pm 2,2^{k}$                     | $15,9 \pm 1,9^{a}$                     | $4,32 \pm 1,04^{k}$                  |  |
| 25°C                         | Secado<br>convectivo | С                        | $35,3 \pm 1,9^{bc}$                    | $18,46 \pm 2,12^{abc}$                 | $9,4 \pm 1,5^{bcd}$                  |  |
|                              |                      | IH-BAC                   | $43.5 \pm 2.9$ hi                      | $21,74 \pm 2,19^{de}$                  | $17,3 \pm 2,5^{bcd}$                 |  |
|                              |                      | IS-BAC                   | $44.4\pm2.2^{ij}$                      | $19.8 \pm 1.5^{bcd}$                   | $17.8 \pm 2.9^{gh}$                  |  |
|                              | Liofilización        | С                        | $33,1 \pm 2,8^{a}$                     | $29,9 \pm 3,2^{i}$                     | 11,2 ±2,5 <sup>d</sup>               |  |
|                              |                      | IH-BAC                   | $42.7\pm2.4^{\rm hi}$                  | $25{,}4\pm1{,}5^{fg}$                  | $18{,}7\pm1{,}9^{\mathrm{hi}}$       |  |
|                              |                      | IS-BAC                   | $46,6\pm2,5^{gh}$                      | $23,2\pm2,8^{ef}$                      | $20,\!4\pm2,\!2^{\mathrm{i}}$        |  |
| 40°C                         | Secado<br>convectivo | С                        | $40,94 \pm 3,14^{cde}$                 | $27,5 \pm 2,6^{ab}$                    | $19,2 \pm 2,8^{bcd}$                 |  |
|                              |                      | IH-BAC                   | $40,2\pm3,2^{ghi}$                     | $21,6 \pm 2,3^{cd}$                    | $15{,}5\pm2{,}7^{gh}$                |  |
|                              |                      | IS-BAC                   | $39.8 \pm 2.3^{gh}$                    | $20,12 \pm 2,13^{bc}$                  | $15,5 \pm 2,4^{\rm gh}$              |  |
|                              | Liofilización        | С                        | $36,1 \pm 2,7^{\text{cde}}$            | $29,2 \pm 2,7^{\mathrm{gh}}$           | $12,4 \pm 2,6^{ef}$                  |  |
|                              |                      | IH-BAC                   | $42,4\pm2,7^{ij}$                      | $23,9 \pm 2,9^{de}$                    | $16,7\pm1,7^{\rm h}$                 |  |
|                              |                      | IS-BAC                   | $44,7\pm2,7^j$                         | $22.9 \pm 3.2^{\rm e}$                 | $21,6\pm2,5^{j}$                     |  |
| 60°C                         | Secado<br>convectivo | С                        | $36,3 \pm 1,8^{bcd}$                   | $16,5 \pm 2,5^{a}$                     | $9,3 \pm 1,6^{bc}$                   |  |
|                              |                      | IH-BAC                   | $41.8\pm2.3^{\rm h}$                   | $22,07 \pm 1,66^{ef}$                  | $18,2\pm1,8^{fgh}$                   |  |
|                              |                      | IS-BAC                   | $41,\!4\pm2,\!9^{gh}$                  | $18,9 \pm 1,5^{bcd}$                   | $13,8 \pm 1,8^{e}$                   |  |
|                              | Liofilización        | С                        | $38,7 \pm 2,9^{\rm ef}$                | $30,5 \pm 1,7^{k}$                     | $16.8 \pm 1.9^{\mathrm{fg}}$         |  |
|                              |                      | IH-BAC                   | $41,01 \pm 2,62^{fgh}$                 | $23,4\pm2,2^{fg}$                      | $18.8\pm2.8^{gh}$                    |  |
|                              |                      | IS-BAC                   | $44,6\pm2,3^i$                         | $23,4\pm2,3^{fg}$                      | $24,8\pm2,9^i$                       |  |
|                              |                      | Interacción <sup>I</sup> | secado*infusion*<br>temp.rehidratacion | secado*infusion*<br>temp.rehidratacion | secado*infusion<br>temp.rehidratacio |  |

En cada columna, las medias con el mismo superíndice no presentan diferencias significativas (p> 0,05).

<sup>I</sup> Interacción obtenida del análisis de ANOVA factorial

## **CONCLUSIONES**

Los resultados muestran que los pretratamientos aplicados afectaron considerablemente la velocidad y la capacidad de rehidratación de las distintas frutas obtenidas, lo que permitiría contar con productos rehidratados con distintas aplicaciones en la industria alimenticia. Las posibles aplicaciones incluyen, por ejemplo, su uso como ingredientes en un mix de cereales. Todas las frutas pretratadas, mostraron una baja capacidad de rehidratación a tiempos cortos, sugiriendo que, si estos productos se mezclan con un líquido como leche o jugo, podrán conservar las características de textura en el tiempo esperado de consumo de este

VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 - Córdoba, Argentina

tipo de alimento. Otra posible aplicación sería su uso como un producto más similar a la fruta fresca. En este caso, se requiere que la fruta se rehidrate rápidamente y alcance valores de humedad y volumen similares a los de la fruta original. Para ello, la muestra sin pretratamiento liofilizada (CL) sería la más adecuada. En el caso de elaboración de productos donde se requiera que la fruta se rehidrate por períodos prolongados es conveniente seleccionar las frambuesas sin pretratamientos (CS y CL), ya que éstas conservaron su color y altos contenidos de antocianinas hasta los tiempos finales de rehidratación.

Por último, es importante considerar que el uso de elevadas temperaturas de rehidratación (60°C), si bien aumentó la capacidad de absorción de agua, afectó el color superficial de la fruta, por lo que puede concluirse que una temperatura de 40°C constituye una temperatura adecuada para la rehidratación de productos deshidratados de frambuesa.

# **BIBLIOGRAFÍA**

Aguado Alonso J, Calles Martin JA, Cañizares P, López Perez B, Santos López A, Serrano Granados DP. 2002. Operaciones de conservación de alimentos. Ingeniería de la Industria Alimentaria, 3. Editorial Síntesis. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed.; Association of Official Analytical Chemists, Inc.; Virginia.

Bremman JG, Butters JR, Cowell ND, Lilly AEV. 1990. Dehydration in food engineering operations, 3rd Ed; Elsevier Applied Science, 311–415.

Falade KO, Abbo ES. 2007. Air-drying and rehydration characteristics of date palm (Phoenix dactylifera L.) fruits. Journal of Food Engineering, 79: 724–730.

García-Pascual P, Sanjuán N, Melis R, Mulet A. 2006. Morchella esculenta (morel) rehydration process modelling. Journal of Food Engineering, 72:346–353.

Goula AM, Adamopoulos KG. 2009. Modeling the rehydration process of dried tomato. Drying Technology, 27(10): 1078–1088.

Gowen AA, Abu-Ghannam N, Frias J, Oliveira J. 2008. Modeling dehydration and rehydration of cooked soybeans subjected to combined microwave–hot-air drying. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9: 129–137.

Lazárides HN, Fito P, Chiralt A, Gekas V, Lenart A. 1999. Advances in osmotic dehydration. En: Minimal Processing of Food and Process Optimization. Singh, R.P. y Oliveira, F.A.R. (Eds.), CRC Press, Boca-Ratón, 175-200.

Levi G, Karel M. 1995. Volumetric shrinkage (collapse) in freeze-dried carbohydrates above their glass transition temperature. Food Research International, 28: 145-151.

Lewicki PP. 1998. Effect of pre-drying treatment, drying and rehydration on plant tissue properties: a review. International Journal of Food Properties, 1: 1-22.

Marabi A, Livings S, Jacobson M, Saguy IS. 2003. Normalized Weibull distribution for modeling rehydration of food particulates. European Food Research and Technology, 217: 311–318.

Marín EB, Lemus RM, Flores VM, Vega AG. 2006.La rehidratación de alimentos deshidratados.Revista Chilena de Nutrición, 33: 3.

Vega-Gálvez A, Notte-Cuello E, Lemus-Mondaca R, Zura L, Miranda M. 2009. Mathematical modelling of mass transfer during rehydration process of Aloe vera (Aloe barbadensis Miller). Food and bioproducts processing, 87:254–260.

Witrowa-Rajchert D, Lewicki PP. 2006. Rehydration properties of dried plant tissues. International Journal of Food Science and Technology, 41: 1040–1046.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen el aporte financiero de la Universidad Nacional del Comahue, de la Universidad de Buenos Aires, del CONICET y del ANPCyT de Argentina.

