Ministerio de CIENCIA Y TECNOLOGÍA

ENTRE TODOS | GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA | VAMOS MÁS ALTO

VI Congreso Internacional CIENCIA Y TECNOLOGÍA de los ALIMENTOS 2016

CÓRDOBA - ARGENTINA

— Año Internacional de las Legumbres —

INGENIERÍA

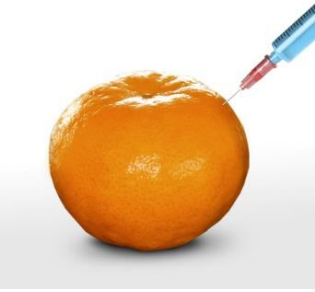
Ingeniería de los alimentos : trabajos completos / María Cecilia Penci ... [et al.]
; compilado por Alberto Edel León ; editado por Alberto Edel León ;
Victoria Rosati ; Carlos Walter Robledo. - 1a ed compendiada. - Córdoba :
Ministerio de Ciencia y Tecnología de la provincia de Córdoba, 2017.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-45380-7-9

1. Ingeniería Alimentaria. I. Penci, María Cecilia II. León, Alberto Edel , comp. III. León, Alberto Edel , ed. IV. Rosati, Victoria , ed. V. Robledo, Carlos Walter, ed.
CDD 664

ISBN 978-987-45380-7-9
9 789874 538079

EDITORES
María Cecilia Penci
Alejandro Lespinard
Alfonsina Andreatta
Marcelo Rosmini
Pablo Ribotta



Obtención de emulgeles a partir de aceite de chía y maíz

Acosta M.V. [1,2], Iturriaga L.B. [1,2]

[1] Centro de Investigación y Transferencia de Santiago del Estero (CITSE) – CONICET-UNSE – RN 9 Km 1125 – Villa El Zanjón, Santiago del Estero, Argentina.
[2] Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICyTA) – Facultad de Agronomía y Agroindustria – UNSE – Santiago del Estero, Argentina.
mvir_acosta90@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue obtener matrices grasas estructuradas como alternativa mimética de grasas saturadas pero con un perfil lipídico saludable. Se prepararon emulgeles con dos tipos de aceites vegetales (chía y maíz) a diferentes concentraciones de polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) y contenidos de agua. El aceite de chía se destaca por su alto contenido de omega 3 (67,8%). El PGPR es un agente tensioactivo ampliamente utilizado en emulsiones W/O. Los emulgeles se comportaron como fluidos no newtonianos. Se observó que el aumento en la concentración de tensioactivo produjo una disminución de la viscosidad. En todos los casos, el módulo elástico (G´) fue mayor que el módulo viscoso (G´´) en el rango de frecuencia ensayado. El punto de fusión de estas formulaciones fue de 51°C aproximadamente. No se observaron diferencias significativas para los distintos tipos de aceites ensayados en lo que respecta a estas variables. Los estudios microscópicos de los emulgeles mostraron la presencia de gotitas esféricas. Las formulaciones con mayor concentración de PGPR presentaron gotitas de menor tamaño.

Palabras claves: Emulgeles, aceite de chía, PGPR.

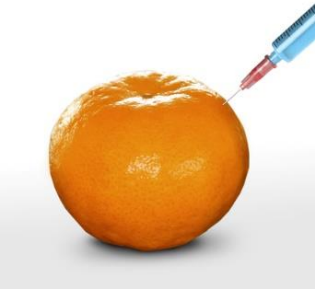
ABSTRACT

The objective of this work was to obtain fat structured matrix as saturated fat mimetic alternative but with a healthier lipid profile. Emulgels were prepared with two types of vegetable oils (chia and corn), at different concentrations of polyglycerol polyricinoleate (PGPR) and water contents. Chia oil is known for its high content of omega-3 (67.8%). The PGPR is a surfactant widely used in W/O emulsions. The emulgels behaved as non-newtonian fluids. It was observed that the increase in surfactant concentration resulted in a decrease in viscosity. In all cases, the elastic modulus (G ') was greater than the viscous modulus (G") in the range of frequency tested. The melting point of these formulations was 51° C. No significant differences for different types of oils tested in regard to these variables were observed. Microscopic studies of emulgels showed the presence of spherical droplets. The formulations with 5% of PGPR presented an average size lower than the rest of the samples.

Keywords: Emulgels, chia oil, PGPR.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, aumentó el interés por la reducción del contenido de grasas saturadas en los alimentos. La presencia de niveles significativamente altos de grasas trans o ácidos grasos saturados en los productos alimenticios, está asociado a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (Patel et al. 2014). En junio de



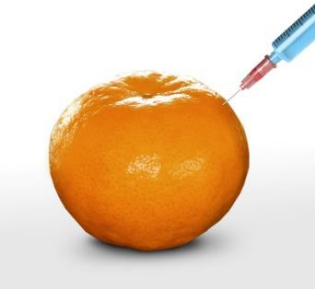
2015, la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (FDA) anunció su decisión de eliminar de la lista GRAS (generalmente reconocido como seguro) a los aceites parcialmente hidrogenados de los alimentos procesados. Esta decisión fue tomada en un intento de eliminar las grasas trans producidas industrialmente a partir de la oferta de alimentos, debido a que actualmente representan la fuente más importante de estos ácidos grasos. Como consecuencia de esta decisión, las empresas se enfrentan ahora con el reto de encontrar un reemplazo viable de estas grasas, minimizando a su vez el impacto en las propiedades organolépticas de los alimentos y la aceptación del consumidor. Esto será particularmente difícil en ciertos sistemas que dependen de las propiedades funcionales de tales grasas. (Wang et al. 2016). Las grasas saturadas, en los productos de panadería actúan como agentes de retención de las burbujas de aire de leudado y de flavours, como lubricantes mejorando la maquinabilidad de las masas ya que evitan el desarrollo excesivo del gluten durante el amasado y el producto horneado presenta mejor sensación en boca y aporta a la saciedad (Rogers et al. 2014, Sagiri et al. 2015). En consecuencia, no pueden ser directamente sustituidas con aceites líquidos sin impactar negativamente en las propiedades organolépticas del producto final (Wang et al. 2016). En general, hay dos tipos de estrategias de estructuración para obtener "aceites semisólidos" una manera es agregando agentes estructurantes liposolubles (organogeles) al aceite y otra es formando una matriz tridimensional tipo hidrogel sobre un aceite emulsionado (emulgel). Estos sistemas han sido desarrollados para propósitos no alimentarios como por ejemplo el desarrollo de lubricantes, en la industria cosmética y farmacéutica. Su aplicación en alimentos es muy reciente y hay muy pocos avances al respecto (Rogers et al. 2014, Sagiri et al. 2015).

La estructuración de aceites vegetales para formar emulgeles se presenta como una alternativa promisoria para su aplicación en alimentos debido a que podrían mantener la funcionalidad de las grasas saturadas presentando a la vez perfiles lipídicos más saludables. Los emulgeles son formulaciones bifásicas, semisólidas y termodinámicamente más estables en comparación con las emulsiones. Se prepararon emulgeles con dos tipos de aceites vegetales (chía y maíz), a diferentes concentraciones de polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) y contenidos de agua.

La semilla de chía representa la fuente vegetal con la mayor concentración conocida de ácidos grasos omega 3 (ω-3) ácidos grasos poliinsaturados PUFAs (Ayerza et al. 1996). Su aceite contiene ácido α- linolénico (ALA) en concentraciones de hasta el 67,8%, superando al aceite de linaza, de canola y soja (Gundstone y Padley 1997). El consumo humano de ω-3 PUFAs ofrece múltiples beneficios para la salud, incluyendo la prevención de enfermedades cardiovasculares e inflamatorias, asma, trastornos del estado de ánimo y enfermedades de la retina. Por lo tanto, su incorporación en la dieta es esencial (O'Dwyer et al. 2013). Además, el aceite de chía es fuente de antioxidantes naturales tales como tocoferoles, fitosteroles, carotenoides (Álvarez-Chávez et al. 2008, Ixtaina et al. 2011) y compuestos fenólicos, incluido el ácido clorogénico, ácido cafeico, miricetina, quercetina y kaempferol (Reyes-Caudillo et al. 2008, Capitani et al. 2012) que protege a los consumidores contra muchas enfermedades y también promueve efectos beneficiosos sobre la salud humana (Nijveldt et al. 2001).

PGPR pertenece a una clase de agente tensioactivo sintético no iónico. El valor HLB de PGPR es de 1.5 ± 0.5, por lo que es compatible con la formación de emulsiones W/O (Killian et al. 2012). El PGPR ha sido estudiado debido a su propiedad de modificar la viscosidad. Según FDA, el límite de la ingesta diaria aceptable de este tensioactivo es ≤4 g / kg de peso corporal (Hattrem et al. 2014). La digestibilidad de PGPR es 98% y no interfiere con el metabolismo normal de los lípidos (Howes et al. 1998). Los estudios realizados en ratas no evidencian efectos adversos sobre el crecimiento y la reproducción ni peligro cancerígeno. Se ha demostrado que el PGPR es tolerado por los seres humanos a dosis altas y en ausencia de síntomas clínicos (Wilson et al. 1998). El PGPR es considerado GRAS por la FDA (FDA 2006).

El objetivo de este trabajo fue obtener matrices grasas estructuradas como alternativa mimética de grasas saturadas pero con un perfil lipídico saludable, estudiar las propiedades reológicas de los sistemas formulados y la microestructura de los mismos.



MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se empleó aceite comercial de chía y aceite puro de maíz (Lágrimas del Sol®) los cuales se adquirieron en el mercado local. Se usó Span 40 el cual fue adquirido de Sigma Aldrich, PGPR 90 (Grindsted-Danisco, otorgado por CALSA; Lanús, Argentina) como agentes tensioactivos.

Preparación de emulgeles

Los emulgeles se prepararon variando las concentraciones de PGPR (5%, 1%, 0,5%) y contenidos de agua (45%, 49%, 49,5%). Se disolvió Span 40 y PGPR en aceite de chía o de maíz para formar una mezcla isotrópica clara. A la mezcla anterior termostatizada a 50°C, se añadió agua gota a gota con homogeneización continua a 3000 rpm para formar una emulsión de color blanco lechoso. Las emulsiones se enfriaron a temperatura ambiente (25°C) para formar los emulgeles. La formación de los mismos se confirmó mediante el método de tubo invertido (**Figura 1**). Todas las muestras fueron preparadas por duplicado y se almacenaron a temperatura ambiente durante 24 horas para su posterior análisis. Los emulgeles preparados se muestran codificados en la **Tabla 1**.

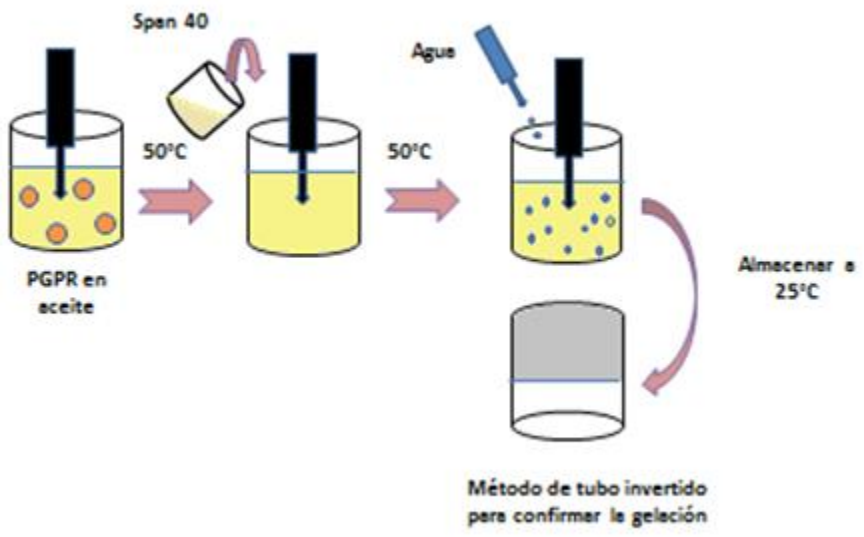
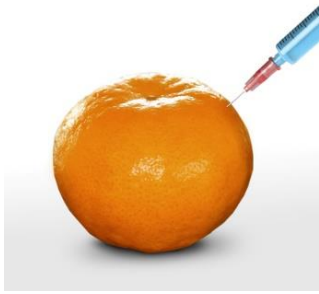


Figura 1. Preparación de emulgeles

Tabla 1. Composición de los emulgeles (40g)

Muestra	PGPR (%)	PGPR (g)	Span 40 (g)	Aceite de maíz (g)	Aceite de chía (g)	Agua (g)
PGM1	0,5%	0,2	3,6	16,4	-	19,8
PGCH1	0,5%	0,2	3,6	-	16,4	19,8
PGM2	1%	0,4	3,6	16,4	-	19,6
PGCH2	1%	0,4	3,6	-	16,4	19,6



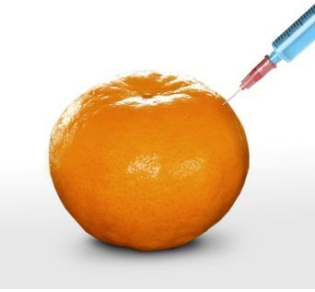
PGM3	5%	2	3,6	16,4	-	18
PGCH3	5%	2	3,6	-	16,4	18

Caracterización reológica

Las mediciones reológicas de flujo y oscilatorias fueron llevadas a cabo en un reómetro de esfuerzo controlado (TA Instrument, AR 1000, New Castle) con una geometría de cono-plato de acero inoxidable de 40mm de diámetro y a una temperatura de 25°C.

Propiedades de flujo

Una de las propiedades empíricas más importantes para lograr un sistema mimético es la de obtener una matriz "untable" tal como la de las grasas saturadas. Por ello la determinación de las propiedades de flujo cobran relevancia. Se realizaron ensayos de flujo en tres etapas; una primera etapa ascendente, incrementando la velocidad de cizalla desde 0 y hasta 100 s^{-1} en 3 min seguida de una etapa de velocidad de cizalla constante a 100 s^{-1} durante 1 min y una tercera etapa descendente desde 100 s^{-1} a 0 s^{-1} en 3 min. Los resultados se muestran representando el esfuerzo de cizalla (σ) (en pascales, Pa) vs la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$) (unidad, s^{-1}).



Propiedades viscoelásticas

Se realizaron barridos de frecuencia de 0,01 a 10 Hz a 25°C. La región viscoelástica lineal (RVL) se determinó previamente realizando barridos de deformación a una frecuencia de 1 Hz. Se obtuvieron los dos componentes del módulo complejo (G*), el módulo elástico (G') y el módulo viscoso (G'') y valores de tan δ. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

Efecto de la temperatura

Mediante barridos de temperatura de 25°C a 70°C a 5°C/min, se estudió la estabilidad térmica de los emulgeles analizando los cambios en los módulos elástico (G') y viscoso (G") como también la temperatura a la cual la tan δ = 1 la que fue considerada como la pérdida total de la estructura del sistema y denominada T_R.

Análisis microscópico

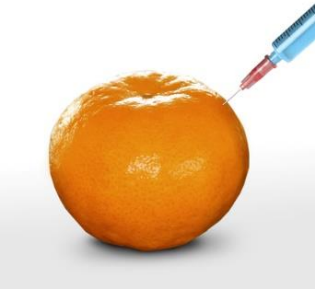
Se observó la microestructura de los emulgeles a través de un microscopio óptico de luz polarizada LEICA CME. Las muestras fueron observadas con una ampliación de 40X y 100X en óptica polarizada y fotografiadas con una cámara digital SONY DSC-W200. Se determinó la distribución de tamaños de partícula y el tamaño medio, midiendo los diámetros de 200 partículas. Se empleó software Image J.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se presenta como la media ± desviación estándar de los resultados obtenidos después de realizar los experimentos por duplicado. Se utilizó ANOVA para determinar el valor de "p". Los resultados fueron estadísticamente diferentes cuando 'p' ≤ 0,05. Se usó el test de comparación múltiple de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Figura 2** se muestran las curvas de flujo correspondientes a los sistemas formulados con aceite de maíz y en la **Figura 3** los correspondientes a aceite de chía. En todos los casos se observan perfiles característicos de sistemas estructurados con propiedades viscoelásticas. Los mismos presentan un valor máximo de esfuerzo de cizalla (viscosidad aparente máxima) en los inicios de la curva ascendente y una caída gradual con el incremento de la velocidad de cizalla. La etapa 2 mostró una caída del esfuerzo de cizalla, característico de la pérdida adicional de estructura. La curva descendente mostró valores de σ más bajos que los correspondientes a la curva ascendente. A los efectos de realizar comparaciones entre los sistemas estudiados, se tomaron valores medios de viscosidad aparente tomados a una velocidad de cizalla de 50 s^{-1} y que se muestran en la **Tabla 2**. En la misma se observa que una vez que la estructura se rompió, todos los sistemas presentaron el mismo valor de viscosidad. Sin embargo, si se consideran los valores de viscosidad máxima, las cuales también se muestran en la **Tabla 2**, se puede observar que la misma fue dependiente del contenido de PGPR. Los sistemas formulados con 5% de PGPR, mostraron los valores más bajos tanto para PGM3 como para PGCH3 los cuales además, presentaron una menor caída del esfuerzo con el incremento de la velocidad de cizalla.



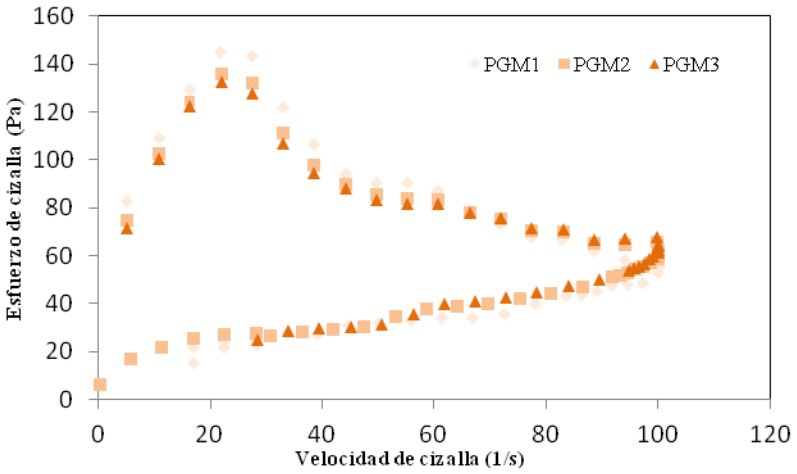


Figura 2. Curvas de flujo de emulgeles formulados con aceite de maíz a diferentes concentraciones de PGPR.

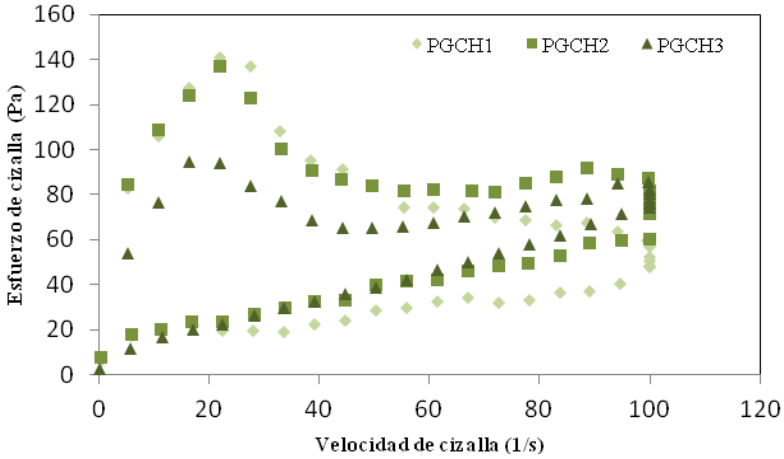
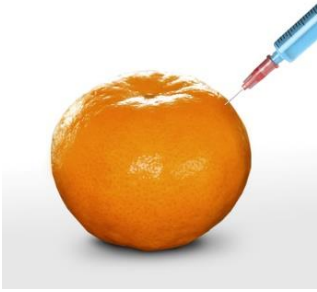


Figura 3. Curvas de flujo de emulgeles formulados con aceite de chía a diferentes concentraciones de PGPR.

Comportamiento viscoelástico

En las **Figuras 4** y **5** se muestran los reogramas dinámicos correspondienes a emulgeles formulados con aceite de maíz y de chía respectivamente. En los mismos se observa que G' fue mas alto que G" en todo el rango de frecuencia estudiado, es decir, que el comportamiento de todos los sistemas es viscoelástico elástico. La deriva hacia arriba en el módulo de almacenamiento G' y los valores de tan $\delta > 0{,}2$ indican que los sistemas presentan propiedades viscosas y pueden ser clasificados como "pastas" (Tsai et al. 1997).

Los valores medios de G', G" y tan δ tomados a una frecuencia de 1 Hz se muestran en la **Tabla 2**. En la misma se observa que, en concordancia con lo encontrado en el valor máximo de esfuerzo, el valor de G' fue dependiente de la concentración de PGPR. Para ambas muestras de aceite, los sistemas preparados con 5% de PGPR, fueron los que presentaron los valores mas bajos de G' y G". Dado que no hubo diferencias significativas en los valores de tan δ, se desprende que estos sistemas fueron los que presentaron consistencia mas baja.



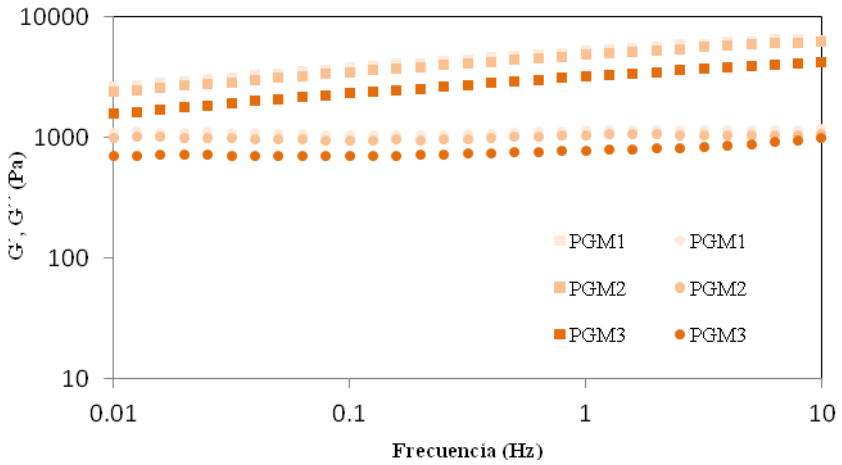


Figura 4. Reogramas dinámicos correspondientes a emulgeles formulados con aceite de maíz. Los símbolos cuadrados corresponden al módulo elástico, G´, y los símbolos redondos corresponde al módulo viscoso, G”.

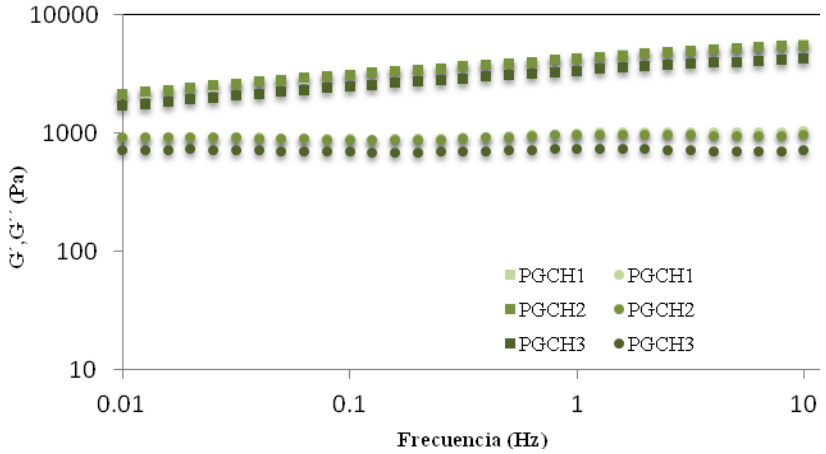
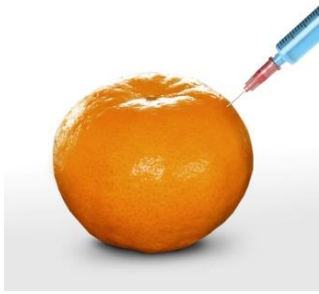


Figura 5. Reogramas dinámicos correspondientes a emulgeles formulados con aceite de chía. Los símbolos cuadrados corresponden al módulo elástico, G´, y los símbolos redondos corresponden al módulo viscoso, G”.

Tabla 2. Propiedades reológicas dinámicas tomadas a una frecuencia de 1 Hz y temperatura de pérdida de estructura (T_R).*

Muestra	Tan δ	G´(Pa)	G" (Pa)	Tf (°C)	η (Pa.s)**	η (Pa.s)***
PGM1	0,22 ± 0,01a	5170 ± 874 b	1145 ± 136c	50,05 ± 0,21a	0,61 ± 0,08 a	18,86 ± 0,5 b
PGCH1	0,23 ± 0,02a	4265 ± 309 ab	989 ± 10 bc	51,60 ± 0,85a	0,66 ± 0,16 a	16,59 ± 1,4 b
PGM2	0,22 ± 0,01a	4831 ± 395 b	1056 ± 55 c	50,70 ± 0,14a	0,83 ± 0,27 a	18,24 ± 0,5 b
PGCH2	0,22 ± 0,01a	4260 ± 35 ab	964 ± 57 bc	50,85 ± 0,21a	0,69 ± 0,16 a	15,9 ± 0,6 ab
PGM3	0,24 ± 0,01a	3202 ± 21 a	786 ± 13 ab	51,35 ± 0,55a	0,90 ± 0,10 a	16,76 ± 1,1 b
PGCH3	0,22 ± 0,01a	3357 ± 45 a	734 ± 8 a	50,42 ± 0,95a	0,77 ± 0,12 a	13,47 ± 1,3 a



***Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)**

****Valores medios tomados a una velocidad de 50 s-1**

*****Valores medios de viscosidad aparente máxima.**

Estabilidad térmica

Estos ensayos se llevaron a cabo registrando los módulos G' y G" en funcion de la temperatura con el objetivo de evaluar los cambios en la estructura de los emulgeles y su tolerancia al calentamiento y se muestran en la Figura 6. Se consideró como pérdida total de estructura, a la temperatura en la que G'=G" (tan δ = 1).

Las figuras muestran que en todos los casos hay una disminución del módulo elástico con el incremento de la temperatura la cual es más pronunciada a temperaturas mayores a 43°C. Sin embargo, esta carasterística tambien es propia de las grasas comestibles. En la **Tabla 2** se observa que las T_R no mostraron diferencias significativas, lo cual seria un indicador de los sistemas no presentaron diferencias estructurales significativas.

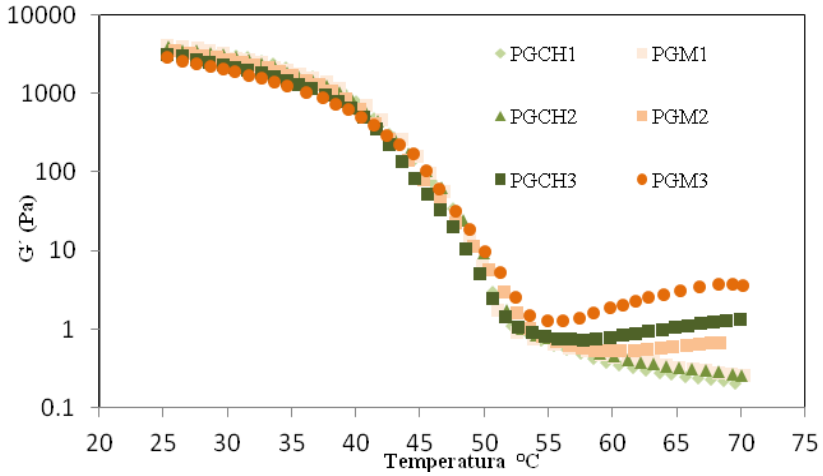
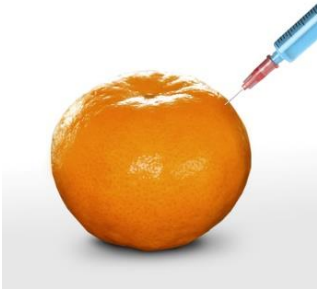


Figura 6. Barrido de temperatura de emulgeles formulados con aceite de maíz y aceite de chía.

Análisis microscópico

La **Figura 7** muestra los valores del módulo elástico G´ en función de los valores medios del tamaño de gota de los emulgeles, obtenidos a través del software Image J. En la misma se puede observar que las formulaciones con mayor concentración de PGPR presentaron el valor medio de gota más bajo. En la figura se muestra una relación directa entre el tamaño medio de partícula y el valor del módulo elástico G'.



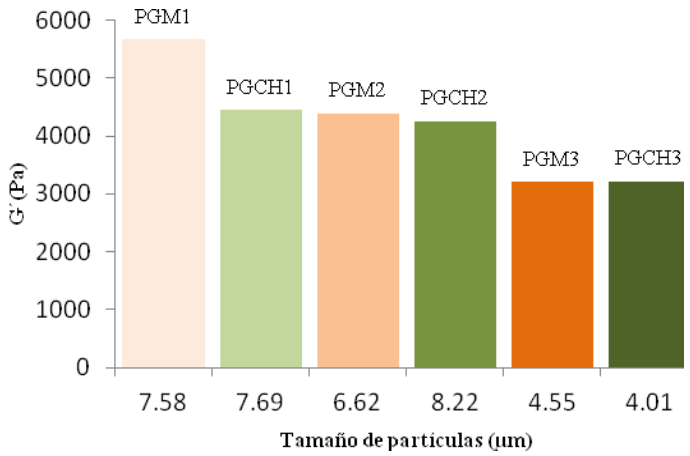
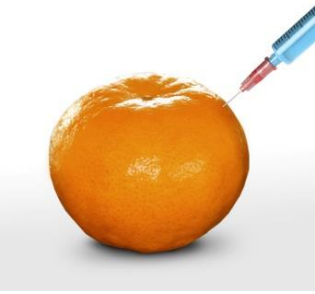


Figura 7. Variación del módulo elástico, G´, en función del tamaño medio de las gotitas de los emulgeles.

CONCLUSIONES

Estos estudios revelaron que la concentración de PGPR afectó las propiedades reológicas de los emulgeles ya que los sistemas formulados al 5% de PGPR, mostraron la viscosidad aparente máxima y los módulos elásticos y viscosos más bajos respecto de los sistemas formulados con 0,5 y 1% de PGPR. El análisis por microscopia y el tamaño medio de partícula indicaron que a mayor concentración de PGPR fue menor el tamaño medio de las gotas. En consecuencia, estos sistemas presentaron una menor consistencia respecto de las formulaciones con 0,5 y 1% de PGPR. No obstante, los sistemas no presentaron diferencias estructurales significativas.



BIBLIOGRAFÍA

Álvarez-Chávez, LM, Valdivia-López, MA, Alberto-Juárez, ML, Tecante, A. 2008. Chemical characterization of the lipid fraction of mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). International Journal of Food Properties, 11: 687-697.

Ayerza, R. 1995. Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.), from five northeastern locations in northwestern Argentina. Journal of the American Oil Chemists' Society, 72:1079-1081.

Behera B, Biswala D, Uvanesha K, Srivastavab AK, Bhattacharyac MK, Paramanika K, Pala K. 2015. Modulating the properties of sunflower oil based novel emulgels using castor oil fatty acid ester: Prospects for topical antimicrobialdrug delivery. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 128: 155-164.

Capitani MI, Spotorno V, Nolasco SM, Tomás MC. 2012. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. LWT - Food Science and Technology, 45: 94-102.

Coates, W, Ayerza, R. 1996. Production potencial of chia in northwestern Argentina. Industrial Crops and Products, 5: 229-233.

Food and Drug Administration (FDA). 2006. GRAS Notice No. GRN 000179. CFSAN/Office of Food Additive Safety January 20, 2006.

Gundstone FD, Padley FB. 1997. Lipid technologies and applications. CRC Press, USA, New York (Marcel Dekker Inc).

Hattrem MN, Dille MJ, Seternes T, Draget KI. 2014. Macro- vs. micromolecular stabilisation of W/O/W-emulsions, Food Hydrocoll. 37:77–85.

Howes D, Wilson R, James CT. 1998. Food Chem. Toxicol, 36: 719.

Ixtaina, VY, Martínez, ML, Spotorno, V, Mateo, CM, Maestri, DM, Diehl, B. 2011. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. Journal of Food Composition and Analysis, 24: 166-174.

Killian L, Coupland J. 2012. Manufacture and application of water-in-oil emulsions to induce the aggregation of sucrose crystals in oil: a model for melt-resistant chocolate. Food Biophys, 7: 124–131.

Nijveldt, R J, Van Nood, E, Van Hoorn, EC, Boelens, PG, Van Norren, K, Van Leeuwen, PA. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. The American Journal of Clinical Nutrition, 74:418-425.

O' Dwyer, SP, O' Beirne, D, Eidhin, DN, O' Kennedy, BT. 2013. Effects of sodium caseinate concentration and storage conditions on the oxidative stability of oil in-water emulsions. Food Chem, 138 (2–3), 1145–1152.

Patel AR, Cludts N, Bin Sintang MD, Lewille B, Lesaffer A, Dewettinck K. 2014. Polysaccharide-based oleogels prepared with an emulsion-templated approach. Chem Phys Chem, 15:3435-3439.

Reyes-Caudillo, R, Tecante, A, Valdivia-López, MA. 2008. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. Food Chemistry, 107: 656-663.

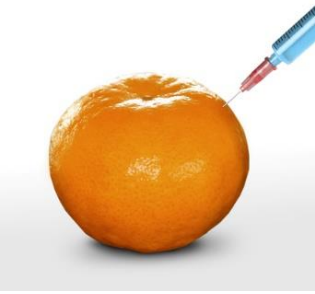
Rogers M, Strober , Bot A, Toro-Vazquez J, Storta T, Marangoni A. 2014. Edible oleogels in molecular gastronomy. International Journal of Gastronomy and Food Science, 2: 22-31.

Sagiri S, Singh V, Pal K, Banerjee I, Basak P. 2015. Stearic acid based oleogels: A study on the molecular, thermal and mechanical properties. Materials Science and Engineering C, 48: 688-699.

Tsai, ML, Li, CF, Lii, CY. 1997. Effects of granular structures on the pasting behaviours of starches. Cereal Chem, 74: 750–757.

Wang FC, Gravelle AJ, Blake AI, Marangoni AG. 2016. Novel trans fat replacement strategies. Food Science, 7:27–34.

Wilson R, Smith M. 1998. Food Chem. Toxicol, 36:739.



Propiedad emulsificante de complejos proteína láctea-pectina de subproductos de la industria del tomate

Alancay M. M.[1], Lobo M. O.[2]y Iturriaga L. I.[1]

1- Centro Investigación y Transferencia de Santiago del Estero (CITSE-CONICET)-Universidad Nacional de Santiago del Estero, Villa El Zanjón-Santiago del Estero, Argentina.
2- Centro Investigación y Transferencia de Jujuy (CITJujuy- CONICET)- Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina.
matiasalancay@yahoo.com

RESUMEN

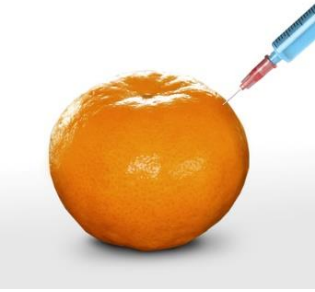
La proteína de suero concentrado (PSC) fue mezclada con pectinas: extraídas del subproducto del tomate por hidrólisis ácida (PSH), comercial de alto metoxilo (PSC-PAM), comercial pectinas de bajo metoxilo amidada (PSC-PBMA) para obtener las mezclas y complejos proteína-pectina en las proporciones 2:1, 1:1 y 1:2 (m:m) mediante tiempos de tratamientos (60°C y 75% humedad relativa) de 3, 6 y 12 días y comparadas entre sí, sus mezclas y la PSC. Los mezclas y complejos PSC-pectina fueron analizados mediante el cambio colorimétrico (ΔE), índice de estabilidad emulsificante (IEE), tamaño de gotas de aceite (d_{43}) e imágenes por microscopía. Los valores de ΔE de los complejos, en general, incrementaron hasta tiempo de tratamiento de 6 días, en donde el complejo PSC-PSH presentó valores más bajo respecto a las demás. El IEE de los complejos PSC-PSH y PSC-PAM elaborados hasta con 6 días y el complejo PSC-PBMA hasta 3 días de tratamiento fueron significativamente superiores a sus mezclas y la PSC ($p<0,05$). Los valores de d_{43} y las imágenes obtenidas por microscopia óptica de emulsiones estabilizadas por complejos y mezclas mostraron correspondencia con los valores de IEE obtenidos con complejos de hasta por 6 días de tratamiento para la PSC-PSH y PSC-PAM, mientras que para la PSC-PBMA fue hasta por 12 días.

Palabras clave: Maillard, complejo proteína-pectina, estabilidad, emulsión.

ABSTRACT

The whey protein concentrate (PSC) was mixed with pectin: extracted by product tomato by acid hydrolysis (PSH), high methoxyl commercial (HM), low methoxyl amidated commercial (LMA), PSC-PSH, PSCHM y PSC-LMA, respectively. To obtain complex protein-pectin, the mixtures in the proportions 2: 1, 1: 1 and 1: 2 (m: m) were subjected to time of treatment (60 °C and 75% relative humidity) of 3, 6 and 12 days and were compared to each other, their mixtures and the PSC. The mixtures and PSC-pectin complex were analysed by the chromatist analysis (ΔE), emulsifying stability index (ESI), oil droplet size (d_{43}) and images by microscopy. The WPC-PSH complex were compared against complexes of high methoxyl commercial pectin (WPC-HM), low methoxyl amidated pectin (WPC-LMA) and WPC. The ΔE values of the WPC-TPA, WPC-HM and WPC-LMA complex increased with the treatment time up to 6 days, where the PSC-TPA complex showed lower values respect to the rest. The ESI of the PSC-HM and PSC-TPA complexes with treatments up to 6 days and the WPC-LMA complexes up to 3 treatment days were significantly higher than the mixtures and the PSC ($p<0.05$). The values of d_{43} and the images obtained by light microscopy of emulsions with PSC-pectin complex and mixtures showed correspondence with the ESI values obtained with complexes obtained up to 6 days of the WPC-TPA and WPC-HM, while for the WPC-LMA was up to 12 days.

Keywords: Maillard, protein-pectin complex, stability, emulsion.



INTRODUCCIÓN

La presencia de proteínas y polisacáridos juegan un rol clave en la formación y estabilización estructural de los sistemas alimentarios. Donde, las pectinas son empleadas principalmente como agentes emulsificantes, mientas los polisacáridos como agentes estabilizantes (Neirynck et al., 2007). Las mezclas de ambos polímeros pueden encontrarse en los ingredientes de un amplio rango de alimentos con características coloidales desde mayonesa hasta helados.

La capacidad estabilizante de los polisacáridos se manifiesta mediante el incremento de la viscosidad de la fase continua o agentes con capacidad de retener agua, mientras que la proteína presente en emulsiones se caracterizan por ser agente formador y estabilizante (Neirynck et al., 2004).

Ambos polímeros pueden contribuir a las características estructurales y texturales en las formulaciones alimentarias no solo depende las propiedades funcionales de los ingredientes individuales así como de la naturaleza y fuerza de interacción proteína-polisacáridos. La pectina es un polímero de unidades de ácido galacturónico parcialmente esterificados con grupos metoxilos. La industria alimentaria ha empleado a la pectina como estabilizante, espesante, emulsionante y agente gelificante. Sin embargo, la mayoría de los polisacáridos son agentes emulsificante pobres.

Por su parte, las proteínas poseen excelentes propiedades emulsificantes. Sin embargo, las proteínas lácteas exhiben una menor estabilidad frente al calor y al calor de desnaturalización en la cual dichas condiciones llevan a la agregación y desnaturalización parcial de la proteína afectando de esta manera su propiedad emulsificante (Setiowati, Vermeir, Martins, De Meulenaer, & Van der Meeren, 2016). El proceso de calentamiento es generalmente empleado en la industria láctea para mejorar el cuidado y la vida útil de alimentos.

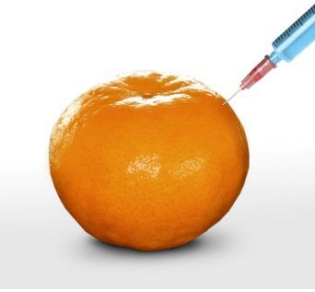
La conjugación de proteína con biopolímeros por calentamiento, a diferencia de métodos químicos, por modificación enzimática e interacción electroestática, es un método prometedor el cual no involucra el empleo de agentes químicos (Setiowati et al., 2016), mientras que el método de interacción electroestática posee un rango estrecho de interacción y una sensibilidad a la presencia de sales.

La obtención de conjugados inducidos por calentamiento de proteína (lácteas) y polisacáridos, estudiadas en casos recientes, se caracterizan en la obtención de moléculas híbridas las que se encuentran unidas por enlaces covalentes. La formación de los conjugados puede realizarse en estados húmedos así como seco (Garcia-Amezquita et al., 2014; Setiowati et al., 2016). Esta última es preferentemente empleada ya que más fácil de manejar y además ser menos susceptible a una contaminación microbiana.

Actualmente, existe un interés considerable en la identificación de otros complejos de polisacárido-proteína utilizando pectina a partir de fuentes convencionales (cítricos, manzanas y remolacha azucarera). Algunos investigadores han encontrado que el uso de un complejo proteina-polisacárido puede mejorar marcadamente la estabilización de una emulsión, respecto a la proteína sola, entre ellos podemos citar aquellos formados entre proteína y dextrano (Akhtar & Dickinson, 2007), galactomanano (Kato, 1996), pectina citrica de bajo metoxilo (Setiowati et al., 2016), carboximetilcelulosa (Neirynck et al., 2004), entre otros.

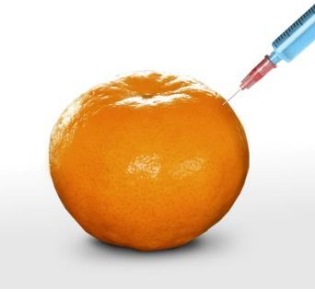
Sin embargo, a partir de fuentes no convencionales, como aquellas provenientes de SIT no han sido estudiadas aún (Funami et al., 2007; Xu, Wang, Jiang, Yuan, & Gao, 2012). El complejo de la proteína-polisacárido se obtiene de la reacción de Maillard o pardeamiento no-enzimático. Esta es una reacción común en alimentos calentados, asado, al horno y fritas con las proteínas y polisacáridos. En la primera etapa de esta reacción, el grupo carbonilo de los carbohidratos reaccionan con un grupo amino de aminoácidos como lisina. La segunda etapa es la obtención de productos de Amadori. En condiciones controladas, es posible evitar la formación de melanoidinas que son responsables del color marrón (Wang, 2011).

La industrialización del tomate (IT) una de las principales actividades en la industria alimentaria argentina en la elaboración de productos o derivados de hortalizas, alcanza una producción anual de 400.000 toneladas (WPTC, 2011). Esta actividad genera un subproducto (SIT) que constituye el 4% de la materia prima y cuyo único fin es



su empleo como alimento para animales de granja o desechos. El tomate es conocido por su capacidad de retención de líquido así como por su contenido de fibra dietaria soluble, por el cual, el SIT es considerada una fuente potencial de pectina (Grassino et al., 2016).

El objetivo es la obtención de moléculas conjugadas proteína-polisacárido, de la pectina y proteína lácteas a través de la Reacción de Maillard, con mejores propiedades emulsificantes respecto a las muestras sin acomplejar.



MATERIALES Y MÉTODOS

Las pectinas fueron pectinas comerciales de alto metoxilo (PAM) y bajo metoxilo amidada (PBMA) se obtuvieron de Gelfix (Buenos Aires, Argentina) y pectina extraídas de subproductos del tomate industrializado soluble en medio ácido (PSH). Las pectinas lácteas fueron: proteína de suero lácteo concentrado (PSC) provistas por Arla Foods (Buenos Aires, Argentina).

Obtención de conjugados proteína-pectina

Los conjugados se obtuvieron por el método de Mu et al. (2006). Las soluciones acuosas de pectina (3%) y proteínas (10%) a pH 7,0 se mezclaron en proporciones de proteína: pectina 2:1, 1:1, 1:2 (w:w). Las mezclas fueron congeladas, liofilizadas y trituradas hasta alcanzar la presentación en polvos. Estos últimos se incubaron en un desecador que contenían una solución saturada de NaCl a 60°C y 75% de humedad relativa durante 3, 6 y 12 días.

Análisis de cambio colorimétrico

A partir de un colorímetro Minolta Spectrophotometer CM-2500d con una fuente iluminante D65 con el objeto de determinar los parámetros L, a* y b* de mezcla proteína pectina sometidas a tratamiento. Los cambios colorimétricos (ΔE) de las mezclas fueron determinados empleando la ecuación 1:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_c^*)^2 + (a^2 - a_c^2)^2 + (b^* - b_c^*)^2} \quad (1)$$

Preparación de emulsiones

Los sistemas de emulsiones elegidos en este estudio fueron aceite/agua en una proporción 20/80 (masa/masa), donde la fase acuosa fue una solución mezcla y complejo proteína-pectina así como soluciones individuales al 1% (masa/masa). Las emulsiones fueron preparadas empleando un equipo Ultra-Turrax basic-T25 (IKA Instruments, Alemania) por tiempos de 1 minutos a 11000rpm.

Índice de Estabilidad Emulsificante (IEE)

La IEE fue determinado según el metodo de Pearce y Kinsella (1978) en emulsiones recién preparadas. El método consiste en determinación de la absorción a 500 nm de emulsiones recién elaboradas y diluidas en un factor de 100 con una solución buffer de fosfato a pH 7.0. El índice de estabilidad fue determinado mediante la siguiente ecuación 2:

$$IEE = \frac{A_0}{(A_0 - A_t)} x\, t \quad (2)$$

donde A_o y A_t son las absorbancia de las emulsiones al tiempo cero y tiempos (t) de 10 minutos.

Análisis de tamaño de gota de aceite en emulsiones aceite/ agua

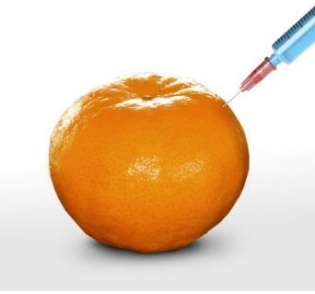
El tamaño de partícula de cada emulsión fue determinada empleando un Mastersizer S long beach (Malvern Ltd., Reino Unido) según el método propuesto por Neirynck et al. (2004) y caracterizadas mediante el parámetro tamaño de gota (d_{43}) el cual es el parámetro más sensible en el monitoreo del tipo de desestabilización de las emulsiones tales como: floculación y coalescencia. El índice de refracción del aceite fue de 1.51.

Observación microscópica

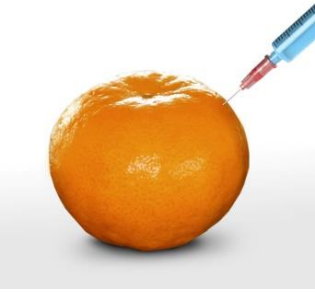
Una gota de cada emulsión fue tomada y observada inmediatamente mediante un microscopio Leica DM 2500 (Leica Microsystems, Versión 4.3.0, Switzerland).

Análisis estadístico

El número de repeticiones de cada medición se indica en los gráficos y tablas. Los datos se analizaron mediante análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) usando un programa de software estadístico Infostat (versión 2015, Universidad de Córdoba, Argentina). Se utilizó la prueba de Tukey para comparar los valores medios



cuando se descubrió que la varianza fue significativa. Los valores fueron considerados significativos para un valor de $p<0,05$.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cambios colorimétricos

El ΔE, es un parámetro empleado como indicador en el grado de avance de la reacción de Maillard para las mezclas proteína-pectina sometidas al tratamiento térmico, mostraron incrementos con el tiempo (**Figura 1**). Sin embargo, los valores alcanzados por las mezclas PSC-PAM y PSC-PBMA presentaron valores superiores a la manifestada por las mezclas PSC-PSH: 37,2, 31,3 y 20,8, respectivamente. Los complejos PSC-PSH presentaron incrementos de los valores de ΔE con el tiempo de tratamiento para todas las proporciones PSC:PSH, excepto para aquella proporción 1:2 almacenada por 12 días. Los complejos PSC-PSH 1:1 y 2:1 presentaron valores significativamente superiores a los demás complejos, 20,4 y 20,8, respectivamente (p>0,05).

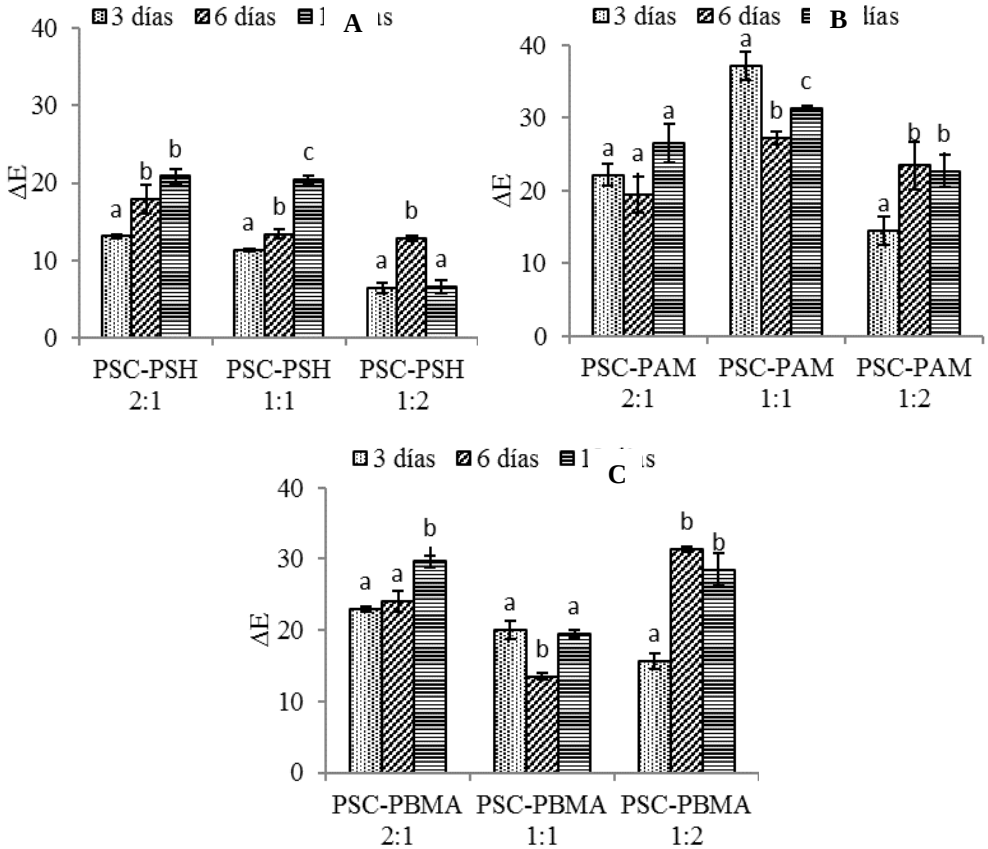
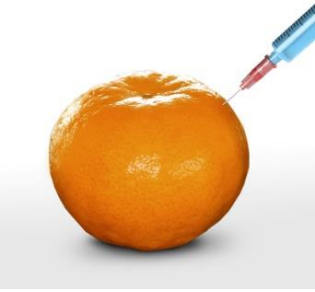


Figura 1. Cambio colorimétricos de las diferentes mezclas PSC-pectina sometidas a tres tiempos de tratamiento diferentes: A) PSC-PSH B) PSC-PMA C) PSC-PBMA. Las diferentes letras muestran las diferencias significativas entre los complejos PSC-pectina con una misma proporción y tratadas térmicamente (p>0,05).

Al igual que los complejos PSC-PSH, los complejos PSC-PAM y PSC-PBMA 1:2 mostraron un descenso de los valores de ΔE para un tiempo de tratamiento de 12 días. A diferencia de los complejos PSC-PSH 1:1 y 2:1 los complejos PSC-PAM y PSC-PBMA en la mayoría de las proporciones presentaron en general un descenso del ΔE para tiempo de 6 días aunque incrementaron para tiempos de almacenamiento de 12 días. El incremento de los valores de ΔE, como parámetro de avance de la reacción de Maillard, podrían hacer referencia a la

promoción de la formación del complejo proteína-pectina (complejos de Amadori). Sin embargo, la reacción de Maillard se caracteriza por una serie de etapas que concluyen con la formación de melanoidinas y productos finales de la glucación las que caracterizan el pardeamiento en la reacción (Evans et al., 2013).



Índice de Estabilidad de Emulsificante (IEE)

El IEE de la muestras estudiadas han presentado el siguiente orden creciente: $IEE_{complejos}>EE_{PSC}>IEE_{mezcla\ PSC\text{-}pectina}$ como se muestra en la figuras 1. Los IEE de los diferentes complejos PSC-pectina no superan el valor de 45 minutos (como máximo valor).

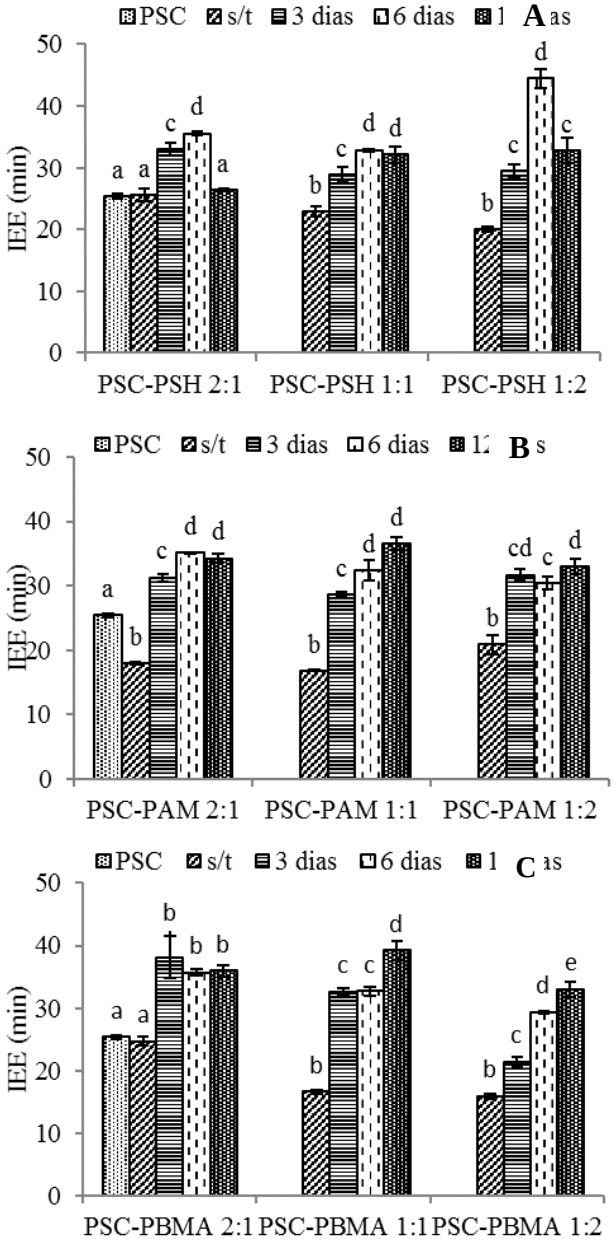
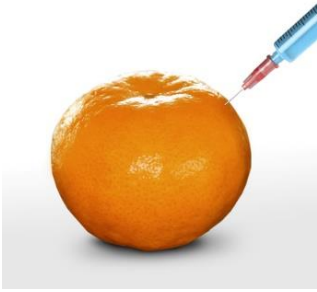


Figura 2. Índice de estabilidad emulsificante (IEE) de las diferentes mezclas PSC-pectina sometidas a tres tiempos de tratamiento diferentes: A) PSC-PSH B) PSC-PMA C) PSC-PBMA. Las distintas letras muestran las diferencias significativas entre los complejos PSC-pectina con una misma proporción y tratadas térmicamente ($p>0,05$).



Los complejos PSC-PSH mostraron valores de IEE significativamente superiores ($p>0,05$) para las proporciones 2:1 con un tratamiento de 3 y 6 días, proporciones 1:1 con un tratamiento de 6 días y para proporciones 1:2 (proteína:pectina) con un tratamiento de 3,6 y12 días, respecto a la emulsiones estabilizadas con PSC y sus respectivas mezclas PSC-PSH. Sólo los complejos PSC:PSH 2:1 con tratamientos de 12 días presentaron IEE similares a la PSC y la mezcla PSC-PSH 2:1.

A diferencia de los complejos PSC-PSH y PSC-PBMA, los complejos PSC-PAM presentaron un incremento en los IEE en función del tiempo de tratamiento a la cual fueron sometidos.

El IEE de las emulsiones estabilizadas por los complejos PSC-PBMA sólo presentaron un incremento gradual y significativo, para una proporción 1:2 (proteína-pectina), con el tiempo del tratamiento. Los IEE más altos fueron para aquéllos complejos PSC-PBMA conforme al incremento en la proporción de PSC y el tiempo de tratamiento.

Los IEE mostró una correlación con el ΔE de los complejos, sin embargo cada uno de los valores de IEE sugiere un tiempo límite de tratamiento para la cual su respectivos valores de IEE ya no muestran incremento significativo. Para los complejos PSC-PSH, PSC-PAM y PSC-PBMA los tiempos de tratamiento en donde los IEE, en general, alcanzaron sus máximos valores fueron: 6, 6 y entre 3, respectivamente.

Los trabajos realizados por Einhorn-Stoll et al. (2005); Tamnak et al. (2016) y Wang & Qvist, (2000) mostraron una mejor estabilidad de emulsiones aceite/agua estabilizadas con los complejos proteína de suero, β-lactoglobulina y aislado proteico de arvejas con pectinas de cítricos de alto metoxilo respecto a sus mezclas proteína-pectina y proteínas solas, respectivamente.

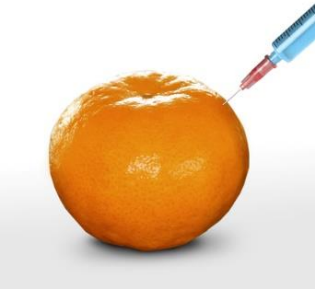
Tamaño de gota promedio (d_{43}) en emulsiones aceite/ agua estabilizadas por complejos proteína-pectina

El parámetro d_{43} de las gotas de aceite de aquellas emulsiones estabilizadas con los complejos se muestran en la **Figura 5**. Los complejos PSC-PSH con tratamientos hasta de 3 días mostraron valores de d_{43} menores o similares a los manifestados por emulsiones estabilizadas con PSC, mezclas PSH-PSH y los complejos PSH-PAM y PSH-PBMA para cualquiera de sus proporciones y tiempos de tratamientos. Los valores de d_{43} de gotas de aceite fueron significativamente menores a los de PSC solo para complejos PSC-PSH 2:1 con tratamientos de 3 días ($p>0,05$).

Mientras tanto, los complejos PSC-PAM en cualquiera de sus proporciones mostraron parámetros d_{43} significativamente menores a la PSC para tiempos de tratamiento de 3 días respectivamente ($p>0,05$).

En las emulsiones estabilizadas con complejos PSC-PBMA, en sus diferentes proporciones y tiempos de tratamiento, el d_{43} no presentaron diferencias significativas respecto a los valores de PSC ($p>0,05$). Los complejos de PSC-PBMA conservarían las características de las emulsiones estabilizadas con PSC.

La conjugación de proteína-pectina ha permitido mejorar la propiedad emulsificante de ambos polímeros. Dicha características se debe a la inducción de gotas más pequeñas gracias a la estructura anfifílica del complejos lo que permite una absorción más rápida del complejo en la interface aceite/agua y por lo tanto la agregación y coalescencia de las gotas puede ser retardada (Amid & Mirhosseini, 2012; Dickinson, 2003; Tamnak et al., 2016).



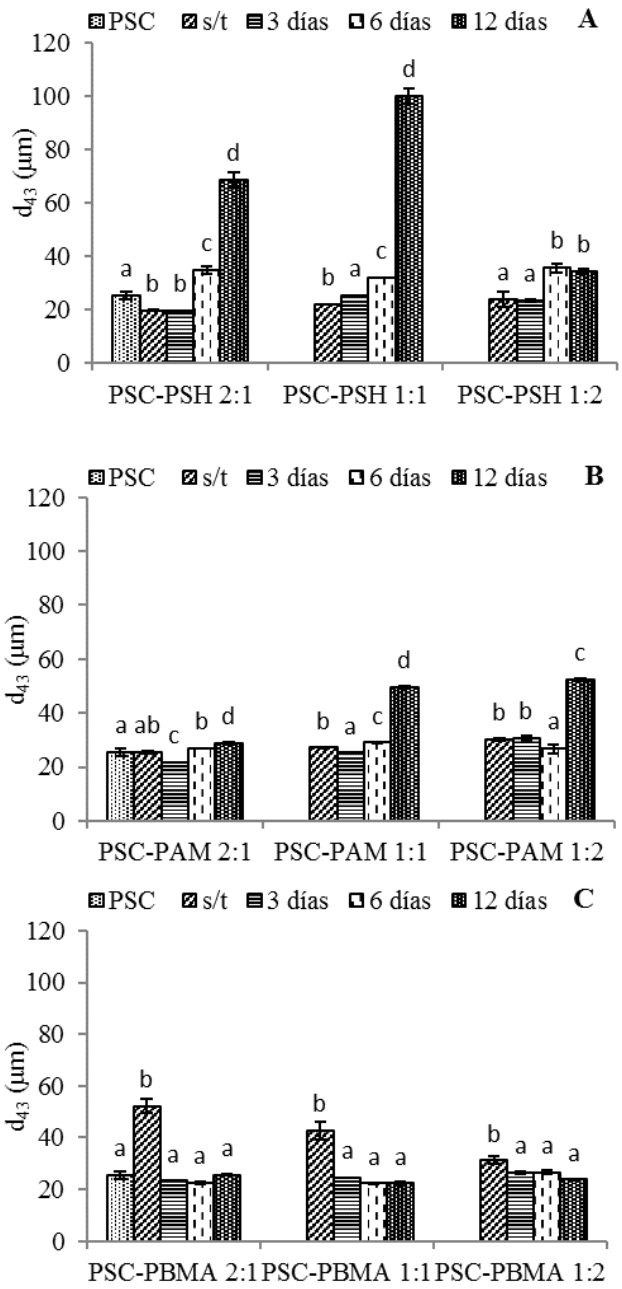
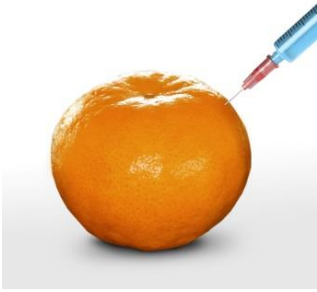


Figura 3: Tamaño de gota promedio (d_{43}) de las diferentes mezclas PSC-pectina sometidas a tres tiempos de tratamiento diferentes: A) PSC-PSH B) PSC-PMA C) PSC-PBMA. Las distintas letras muestran las diferencias significativas entre los complejos PSC-pectina con una misma proporción y tratadas térmicamente ($p>0,05$).

Observación microscópica

La emulsión preparada con conjugados PSC-PSH con 3 días de tratamiento mostró una mayor cantidad de pequeñas gotitas respecto a emulsiones estabilizadas con mezclas PSC-TP y PSC. Respecto a aquellas



emulsiones estabilizadas con complejos sometidos a tratamientos de 6 y 12 días, los complejos con proporciones 1:1 se observa que mantuvieron características similares a las mencionadas anteriormente. Las emulsiones elaboradas con PSC-PSH 2:1 y 1:2, tratadas térmicamente durante 12 días, aún presentaron una cantidad significativa pequeñas gotas de aceite (**Figura 4**).

Las emulsiones preparadas con conjugados de PSC-HM presentaron gotas de aceite menor aglomeradas que las manifestadas por la PSC. Las emulsiones hechas conjugados PSC-PAM mostraron una constancia en cuanto al tamaño de las gotas hasta tiempo de tratamientos de 6 días para luego manifestarse gotas de gran tamaño para cualquier proporción proteína-pectina (**Figura 5**).

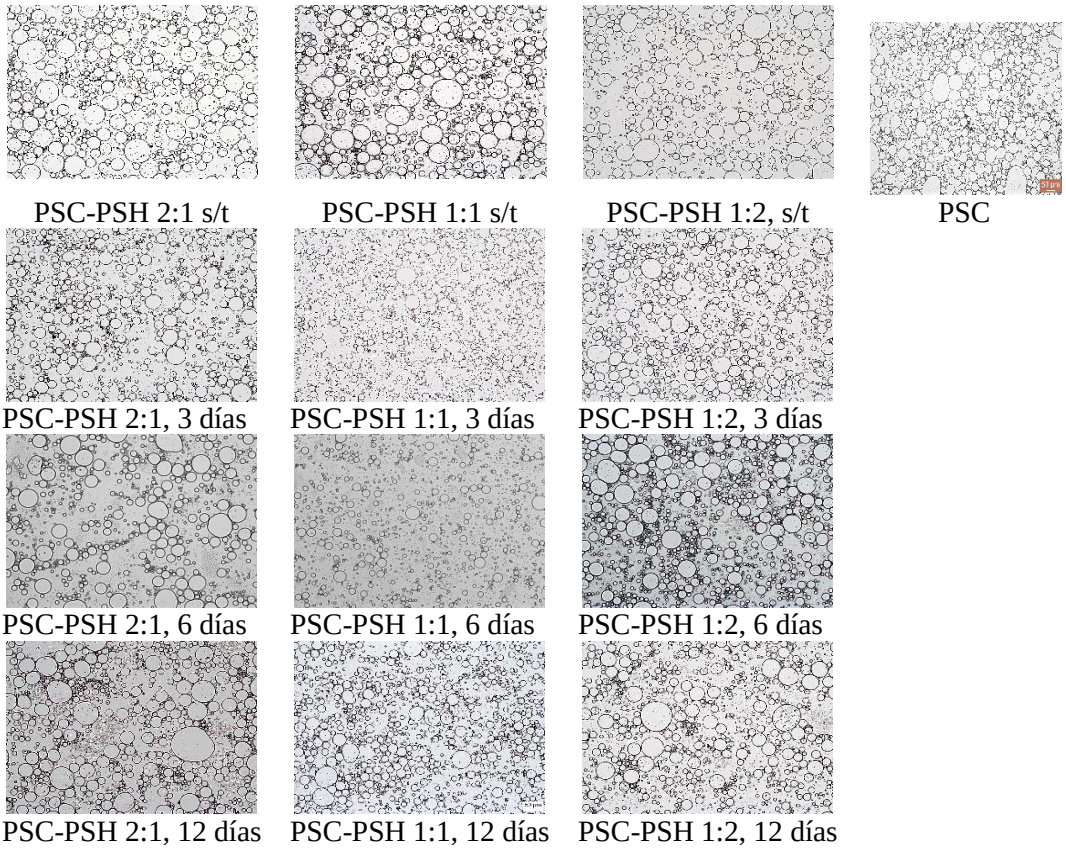


Figura 4. Micrografías ópticas de emulsiones (10x) estabilizadas con PSC, mezclas y conjugados PSC-PSH con tiempos de incubación: 3, 6 y 12 días.

La emulsión con mezclas y conjugados PSC-LMA muestran algunas zonas de aglomeración de gotas de aceite respecto a las emulsiones con PSC. Los tamaños de gotas de las emulsiones mostraron correspondencia con la mayoría de valores de d_{43} que fueron analizados en la sección 3.3 (**Figura 6**).

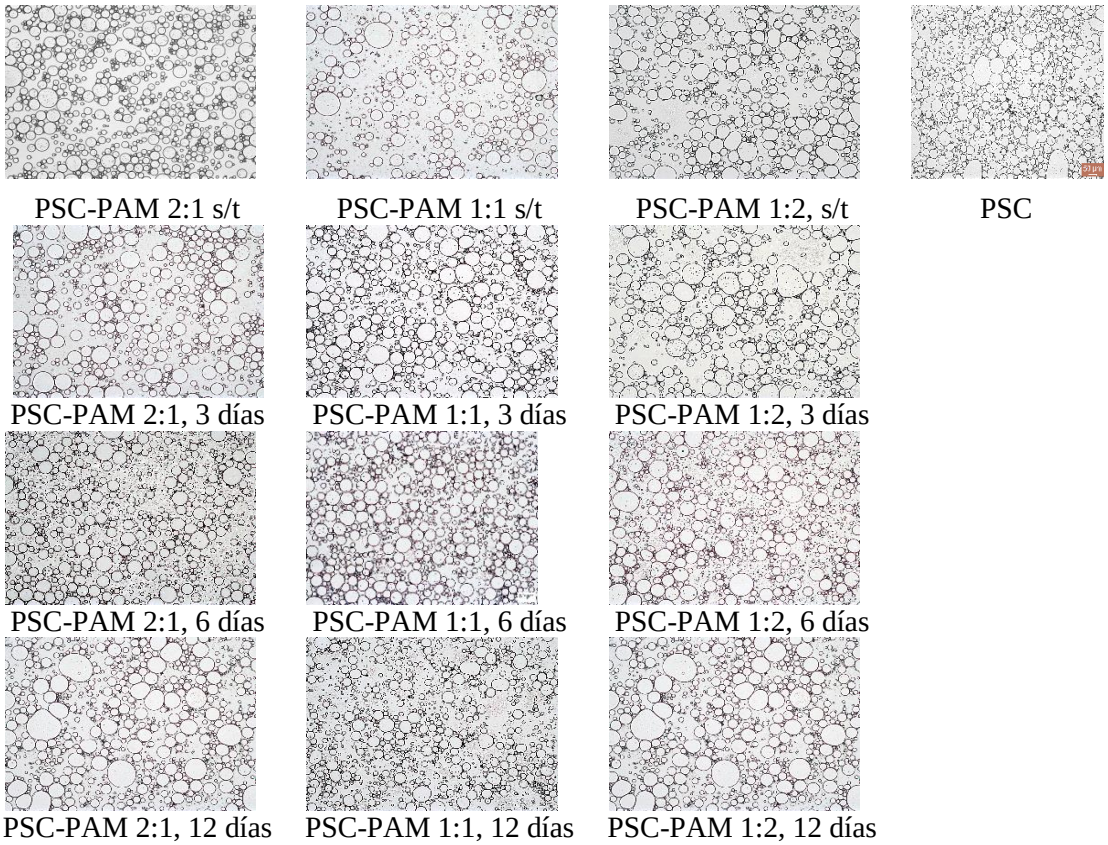


Figura 5. Micrografías ópticas de emulsión (10x) estabilizadas con PSC, mezclas y conjugados PSC-PAM con tiempos de incubación: 3, 6 y 12 días.

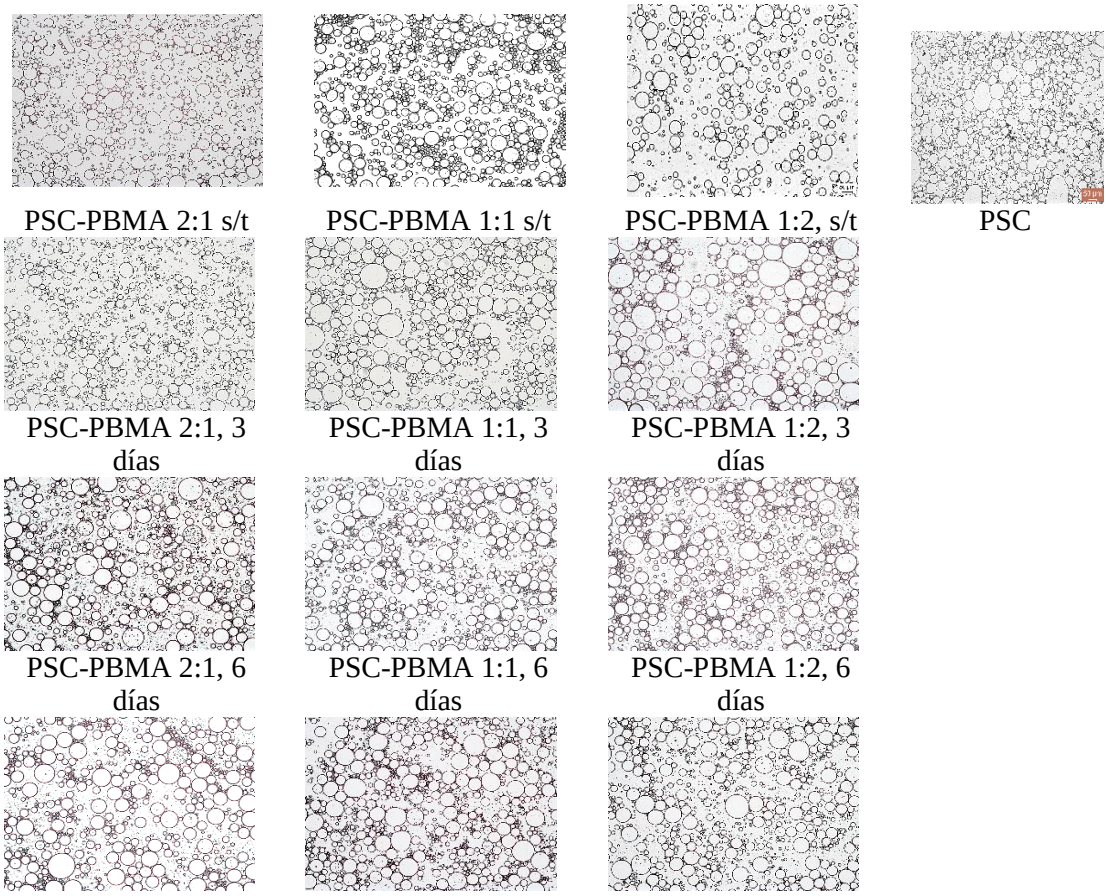


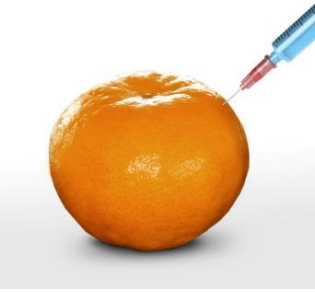
Figura 5. Micrografías ópticas de emulsión (10x) estabilizadas con PSC, mezclas y conjugados PSC-PBMA con tiempos de incubación: 3, 6 y 12 días.

CONCLUSIONES

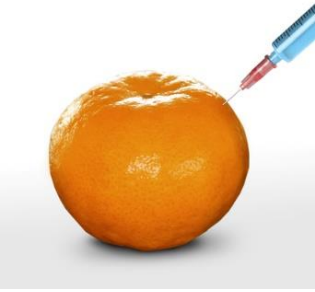
Los conjugados elaborados a partir de mezclas PSC-PSH, PMA y PBMA en sus diferentes proporciones de proteína-pectina, muestran una mejor propiedad emulsificante respecto a la emulsión elaboradas con PSC y las mezclas PSC-pectina. En la mayoría de los casos, la mejor propiedad emulsificante se obtuvieron a partir de mezclas PSC-pectina tratadas térmicamente por un período máximo de 6 días.

El empleo de estos agentes estabilizantes de emulsiones promueven al estudio de nuevo agentes emulsificantes partir de complejos PSC-pectina así como el incremento al valor agregado del proceso de industrialización del tomate mediante su evaluación como una nueva fuente alternativa de pectina.

BIBLIOGRAFÍA



Akhtar, M., & Dickinson, E. 2007. Whey protein-maltodextrin conjugates as emulsifying agents: An alternative to gum arabic. Food Hydrocolloids, 21(4), 607–616.
Amid, B. T., & Mirhosseini, H. 2012. Emulsifying Activity, Particle Uniformity and Rheological Properties of a Natural Polysaccharide-Protein Biopolymer from Durian Seed. Food Biophysics, 7(4), 317–328.
Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. Food Hydrocolloids, 17(1), 25–39.
Einhorn-Stoll, U., Ulbrich, M., Sever, S., & Kunzek, H. 2005. Formation of milk protein-pectin conjugates with improved emulsifying properties by controlled dry heating. Food Hydrocolloids, 19(2), 329–340.
Evans, M., Ratcliffe, I., & Williams, P. A. 2013. Emulsion stabilisation using polysaccharide-protein complexes. Current Opinion in Colloid and Interface Science, 18(4), 272–282.
Funami, T., Zhang, G., Hiroe, M., Noda, S., Nakauma, M., Asai, I., Phillips, G. O. 2007. Effects of the proteinaceous moiety on the emulsifying properties of sugar beet pectin. Food Hydrocolloids, 21(8), 1319–1329.
Garcia-Amezquita, L. E., Martinez-Alvarenga, M. S., Olivas, G. I., Zamudio-Flores, P. B., Acosta-Muñiz, C. H., & Sepulveda, D. R. 2014. Effect of Maillard reaction conditions on the degree of glycation and functional properties of whey protein isolate - Maltodextrin conjugates. Food Hydrocolloids, 38, 110–118.
Grassino, A. N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M., & Brnčić, S. R. 2016. Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. Food Chemistry, 198, 93–100.
Kato, A. 1996. Preparation and functional properties of protein-polysaccharide conjugates. En: Shlomo Magdassi, editor. Surface Activity of Proteins: Chemical and Physicochemical Modifications. 1ª ed. Israel: Jerusalem. pag 115–129.
Mu, M., Pan, X., Yao, P., & Jiang, M. 2006. Acidic solution properties of ??-casein-graft-dextran copolymer prepared through Maillard reaction. Journal of Colloid and Interface Science, 301(1), 98–106.
Neirynck, N., Van Der Meeren, P., Bayarri Gorbe, S., Dierckx, S., & Dewettinck, K. 2004. Improved emulsion stabilizing properties of whey protein isolate by conjugation with pectins. Food Hydrocolloids, 18(6), 949–957.
Neirynck, N., Van der Meeren, P., Lukaszewicz-Lausecker, M., Cocquyt, J., Verbeken, D., & Dewettinck, K. 2007. Influence of pH and biopolymer ratio on whey protein-pectin interactions in aqueous solutions and in O/W emulsions. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 298(1-2), 99–107.
Pearce, K. N., & Kinsella, J. E. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 26(3), 716–723.
Setiowati, A. D., Vermeir, L., Martins, J., De Meulenaer, B., & Van der Meeren, P. 2016. Improved heat stability of protein solutions and O/W emulsions upon dry heat treatment of whey protein isolate in the presence of low-methoxyl pectin. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.
Tamnak, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P., Ghazali, H. M., & Muhammad, K. 2016. Physicochemical properties, rheological behavior and morphology of pectin-pea protein isolate mixtures and conjugates in aqueous system and oil in water emulsion. Food Hydrocolloids, 56, 405–416.
Wang, Q., & Qvist, K. B. 2000. Investigation of the composite system of beta-lactoglobulin and pectin in aqueous solutions. Food Research International, 33(8), 683–690.
WPTC. (2011). World production estimate of tomatoes for processing (in 1000 metric tonnes). http://www.wptc.to/presentation-wptc.php.
Xu, D., Wang, X., Jiang, J., Yuan, F., & Gao, Y. 2012. Impact of whey protein - Beet pectin conjugation on the physicochemical stability of carotene emulsions. Food Hydrocolloids, 28(2), 258–266.



Efecto del método de extracción en las propiedades fisicoquímicas de pectinas de origen no-convencional

Alancay M. M.[1], Lobo M. O.[2], Iturriaga L. I.[1]

[1]Centro Investigación y Transferencia de Santiago del Estero (CITSE-CONICET)-Universidad Nacional de [2]Santiago del Estero, Villa El Zanjón-Santiago del Estero, Argentina.
Centro Investigación y Transferencia de Jujuy (CITJujuy- CONICET)- Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina.
matiasalancay@yahoo.com

RESUMEN

Las pectinas extraídas del subproducto de la industrialización del tomate (SIT) empleando un medio ácido (P_{MA}) y en medio sin acidificar (P_{MSA}) se analizaron por su composición química, ácido galacturónico (AGal) contenido, el grado de metilación (DM), la solubilidad (%S), la viscosidad intrínseca ([η]), Peso molecular viscosimétrico promedio (PM_V) y las propiedades de flujo fueron comparada frente a una pectinas de alto metoxilo comercial de cítricos (PAM). Las condiciones para el rendimiento máximo de la P_{MA} (280 g kg^{-1} SIT) fueron 85°C, 60 min y pH 2,0; mientras que para la P_{MSA} fue a 95°C y 180 min (87 g kg^{-1} SIT). El contenido de AGal y DM de P_{MA} y P_{MSA} fueron mayores que al presente en la PAM. El [η] y PM_v de P_{MA} presentaron el mismo orden que la de PAM y mayor que la de P_{MSA}. Todas las soluciones de pectina presentan un comportamiento de flujo del tipo pseudoplástico. El coeficiente de consistencia (K) de la P_{MA} fue significativamente mayor ($p<0,05$) respecto a las muestras estudiadas.

Palabras clave: Tomate, pectina, rendimiento de extracción, caracterización, propiedad de flujo.

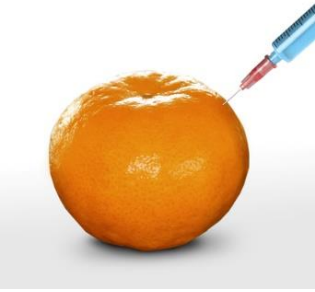
ABSTRACT

The pectin extracted from tomato processing waste (TW) by the acid method (ATP) and by water (WTP) were analyzed for their chemical composition, galacturonic acid (GalA) content, the degree of methylation (DM) solubility (%S), the intrinsic viscosity ([η]), molecular weight- viscosity average (Mw_v) and flow properties were compared against commercial high-methoxylated pectin from citrus (HMC). The conditions for maximum yield to HMC (280 g kg^{-1} TW) were 85°C, 60 minutes and pH 2.0; while for WTP it was at 95°C and 180 minutes (87 g kg^{-1} TW). The GalA content and DM of ATP and WTP were higher than HMC. The [η] and Mw_v of ATP showed the same order as that of HMC and higher than that of WTP. All pectin solutions presented a pseudoplastic flow behavior type. The consistency coefficient (K) of ATP was significantly higher ($p <0.05$) for the samples studied.

Keywords: tomato, pectin, extraction yield, characterization, flow behavior.

INTRODUCCIÓN

Las pectinas se encuentran en plantas superiores, participando en las características texturales del mismo así como de sus frutos. Por su composición química, la pectina es un polímero lineal de unidades de ácido galacturónico, unidos por enlaces α-D-(1,4), y parcialmente esterificada con grupos metoxilos. La estructura de la cadena del polímero se encuentra integrada por una zona homogalacturónica compuesta por unidades ácido galacturónico. Una segunda zona estructural denominada heterogalacturónica se compone por unidades de ácido galacturónico interrumpidas por unidades de ramnosa que provocan un plegamiento en la cadena lineal. Dichas



unidades de ramnosa puede contener cadenas laterales de azúcares neutros tales como arabinosa y galactosa, entre otros. En función al grado esterificación de metoxilo (DM), el polisacárido es clasificado como pectina de alto (DM≥50%) y bajo metoxilo (DM≤50%) abreviadas por sus siglas PAM y PBM, respectivamente. Las características anteriormente descriptas son dependiente de las características fisiológicas de la fuente, del método de extracción y sus respectivas condiciones de extracción. Entre los métodos de extracción de pectina la extracción en medio acido es actualmente empleado por la industria, mientras que un medio sin acidificar (acuoso) posee características amigable al medio ambiente. Las fuentes convencionales de pectinas son el albedo de cáscaras de naranjas, orujo de manzana y pulpa de remolacha, entre las conocidas. Las pectinas extraídas de las fuentes mencionadas anteriormente poseen diferencias en el peso molecular, DM, el contenido de ácido galacturónico (AGal), entre las más importantes, de esta manera le imparte propiedad funcionales diferentes a cada una de ellas. La industria alimentaria emplea la pectina como agente espesante, gelificante y estabilizante en la formulación de alimentos, mientras que algunos beneficios en la salud pueden citarse aquellas como: efecto antidiarreico y regulador de la absorción de azúcar, mejora la respuesta insulínica y reducción en la absorción de lípidos. El cuidado del medio ambiente ha puesto en conciencia el aprovechamiento de subproductos del procesamiento de frutas y verduras como potenciales fuentes de pectinas. La República Argentina, la producción de tomate se encuentra alrededor de las 535.000 toneladas anuales y destina entre 30-40% de la producción para su industrialización generando un subproducto. El subproducto de la industrialización del tomate (SIT) se encuentra integrado por piel, semilla y fibra de tomate que constituye entre un 4-13% del fruto entero. El contenido de fibra dietaria en el subproducto representa un 59,0 %, en el cual el contenido de pectina integra a la fracción de polisacáridos que conforman la fibra dietaria soluble. Debido al nivel de SIT generado y la posibilidad de empleado como una fuente alternativa de pectina, el objetivo del trabajo fue extraer y caracterizar la pectina soluble en medio ácida (P_{MA}) y sin acidificar (P_{MSA}) y compararlas frente a una PAM comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

El SIT fue provisto por la empresa OTITO s.a.i.c radicada en la ciudad de San Pedro de Jujuy, provincia de Jujuy-Argentina. La materia prima fue almacenada a -18°C en bolsas de polietileno de alta densidad al vacío, hasta el inicio de los análisis correspondientes. La empresa procesa tomate (*Lycopersicon esculentum*), variedad perita. La pectina comercial empleada fue de alto metoxilo: PAM105 RS (PAM) provista por la empresa CP KELCO y comercializada por la firma GELFIX Argentina S.A.

Ajuste de los parámetros de extracción de pectina de tomate

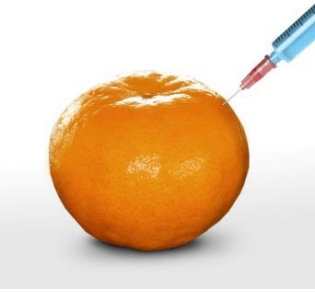
Extracción de P_{AM}

La extracción de pectina soluble en medio ácido estuvo basado al método propuesto por Kulkarni & Vijayanand (2010). El SIT fue disperso en agua destilada a una relación 1:100 (m:m, sólido:agua destilada) en un recipiente de acero inoxidable equipado con un agitador de varilla. Una cantidad suficiente de HCl 6M fue agregado en el recipiente hasta alcanzar un valor de pH 2. La mezcla fue calentada bajo una agitación por 1 hora a diferentes temperaturas (65, 75 y 85°C), luego fue filtrada y enfriada a 25°C. El filtrado que contiene la pectina solubilizada fue precipitada usando 1.5 volúmenes de etanol (96°). La pectina precipitada se filtró y se lavó tres veces con etanol 50:50 (v/v; etanol: agua). Después de eso, la muestra se secó a 45 ±1°C y suelo una vez seco.

Por último, se realizó una etapa de purificación. La pectina extraída se volvió a suspender en agua destilada para obtener una concentración del 1% y sometida a un calentamiento a 60°C durante 1 hora bajo agitación suave. Una vez enfriada a 25°C, la solución se centrifugó a 2700 g durante 10 minutos. La fracción soluble se precipitó de nuevo con etanol bajo la misma relación anteriormente empleada, se filtró, secó y finalmente molió como fue descripto anteriormente.

Extracción de P_{MSA}

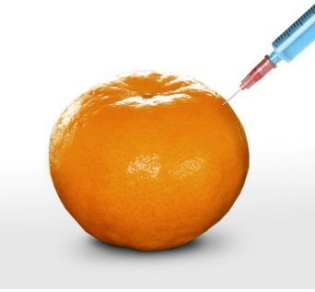
En el método de extracción de la P_{MSA}, el SIT fue mezclado con agua destilada en una proporción de 1: 100



(w/w, sólido: agua) en un recipiente de acero inoxidable, se calentó con agitación suave a diferentes temperaturas: 75, 85 y 95°C, y tiempos: 30, 60 y 180 minutos. Las suspensiones obtenidas siguieron los mismos procesos de precipitación y purificación como se ha descrito en el método anterior y se muestra en la **Figura 1**.
El rendimiento de ambos métodos se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento} = m_1 / m_2 \; x \; 100 \quad (1)$$

Donde m_1 (g) and m_2 (g) son la masa de pectina y SIT seco, respectivamente.



Composición química

La composición química de la pectina se determinó midiendo el contenido de humedad, cenizas, proteínas y lípidos de acuerdo con AOAC (1995). El contenido de nitrógeno fue multiplicado por 6,25 para obtener la proteína de las muestras.

Contenido de AGal

El contenido de ácido galacturónico (GalA) se determinó utilizando el método espectrofotométrico propuesto por Ibarz *et al*. (2006). Las muestras se hidrolizaron en una solución de 12,5 M tetraborato de sodio en ácido sulfúrico concentrado, se calentó a 80 ° C durante 6 min y después se enfrió a temperatura ambiente. Finalmente, se añadió 20 µl m-hidroxidifenil 0,15% ($m/m_{solución}$) para formar el complejo coloreado.

$$\text{AGal} = \frac{\text{C x V x d}}{\text{1000 x m}} \text{ x } 100 \qquad (2)$$

donde C (mg / ml), V (ml), D y m (g) son la concentración de AGal, el volumen de dilución, factor de dilución y el peso de la pectina (humedad libre y ceniza), respectivamente.

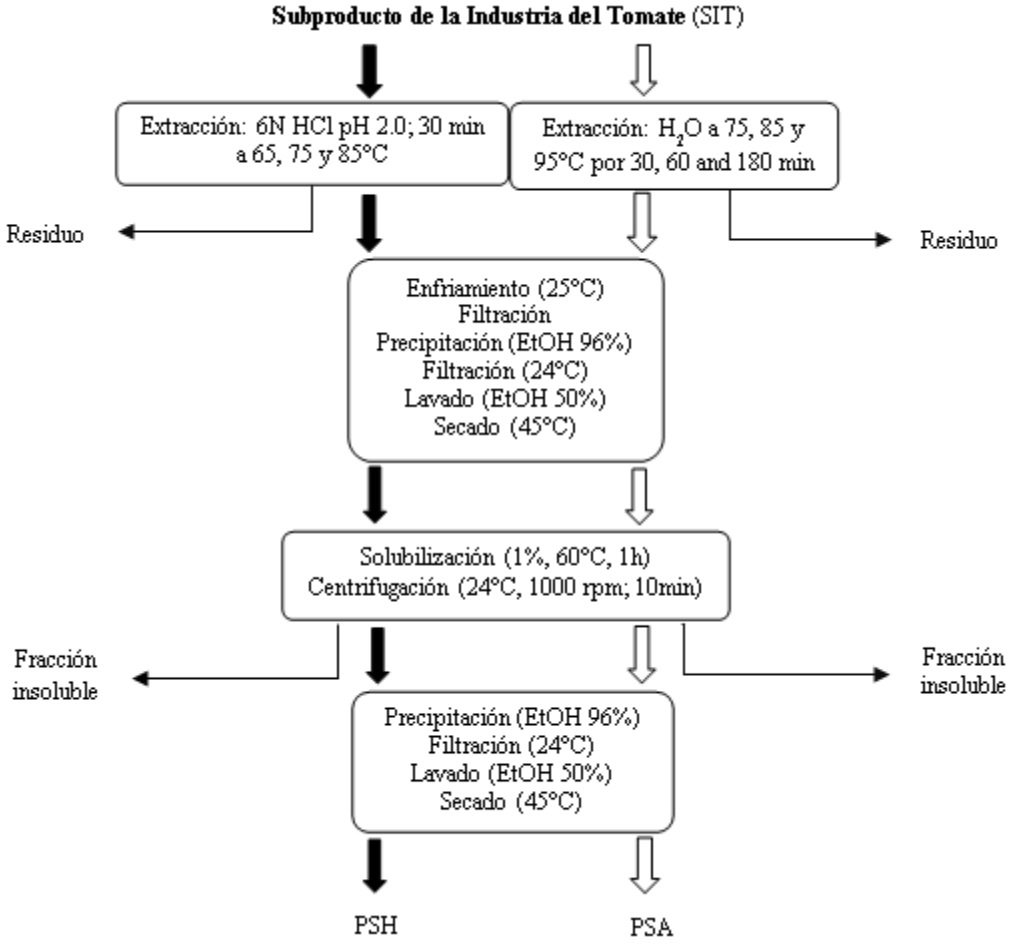
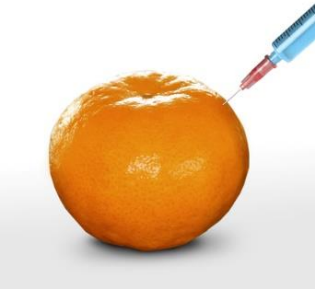


Figura 1. Proceso de extracción de ATP y PSA del SIT empleando ácido y agua como agentes de extracción,



respectivamente.

Determinación del GM

El GM se determinó espectrofotométricamente a 412 nm mediante el método sugerido por Klavons y Bennett (1986). Una solución madre de pectina se preparó a una concentración de 1 (g/100ml solución). Se diluyó con 0,5 M NaOH para lograr una solución de pectina 600 mg/ml, y se hidroliza durante 30 min a temperatura ambiente. Por último, la solución se neutralizó a pH 7,5 con 1M HCl, y se diluyó buffer fosfato 0,25 M, pH 7,5 hasta una concentración final de 300 mg/ml de pectina. El contenido de metanol en las muestras se determinó de la siguiente manera: primero, 1 ml de la solución final a 300 g/ml se mezcló con 1 ml de alcohol oxidasa (1U/ml) en tubos de hemólisis que se incubaron durante 15 min a 25°C. Luego, 2 ml de 2,4-pentanodiona 0,02 M se disolvió en acetato de amonio 2 M y ácido acético 0,05M fue agregado a los tubos y mezclados en un vortex. Los tubos fueron tapados y colocados en un baño de agua caliente a una temperatura entre 58-60°C por un periodo de 15 minutos y enfriado a temperatura. El GM de la pectina se determinó como la relación entre la cantidad molar de grupos metilo (metanol) y la cantidad molar de la AGal por gramo de muestra, y expresada en porcentaje.

Determinación de la viscosidad intrínseca ([η]) y peso molecular-viscosimetrico promedio (PM_v)

La [η] de las muestras se determinó por viscosimetría capilar usando un viscosímetro Ubbelohde Micro-DIN 55 350 (capilar n°: MI; diámetro interior: 0,40 mm) a 25 ± 0,1 °C utilizando soluciones de pectina a 0,2, 0,4, 0.6, 0.8 y 1.0 g L^{-1} que contiene 0,1 M de NaCl a pH 7,0 y se preparó por agitación durante 12 horas. La [η] se calculó mediante la extrapolación de las curvas de Huggins y Kraemer a concentración cero [ecuación 3]. El PM_v se calculó utilizando la ecuación de Mark-Houwink (ecuación 4), donde k y α son constantes, $9.55x10^{-5}$ g L^{-1} y 0,73, respectivamente (Anger & Berth, 1986a).

$$[\eta] = K\,[M_v]^{\alpha} \qquad (3)$$

Solubilidad

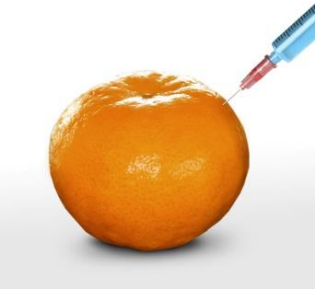
La solubilidad (% S) de la pectina en agua se determinó a pH 4,5 y 6,5 con 0,1 M de tampón de fosfato, siguiendo el método gravimétrico propuesto por Li *et al.*, (2013). Soluciones en 5 g de pectina kg^{-1} solución se prepararon por agitación en una cantidad apropiada de pectina en tampones durante 12 h a temperatura ambiente y se filtró al vacío utilizando papel de filtro (Whatman 93) previamente secado a 100°C durante 1 h. Posteriormente, el papel de filtro con sólidos insolubles se secó en las mismas condiciones. La solubilidad se determinó mediante la ecuación 4.

$$\%\,S = 100x\left(1 - \frac{(m_3 - m_1)}{m_2}\right) \qquad (4)$$

donde m_1, m_2, m_3 son el peso del papel de filtro se seca, el peso de la pectina y el peso del papel de filtro con la fracción insoluble, respectivamente.

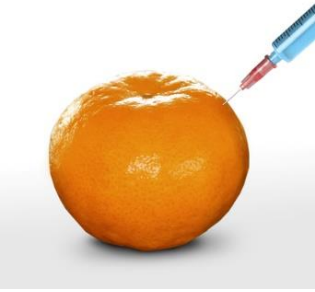
Propiedad espesante

Las propiedades espesantes se estudiaron mediante la preparación de sistemas de alta concentración de pectina en 3,0% (m/m) y el análisis de los efectos del pH sobre la viscosidad. Para estudiar el efecto del pH, las soluciones se prepararon por agitación pectina en tampón de fosfato de 0,1M, para obtener pH 4,5 y 6,5, durante 12 horas a 25°C. Las mediciones se realizaron utilizando un reómetro AR 1000 (TA instruments Ltd, New Castle, UK) acoplado con una geometría cono-placa de acero inoxidable, 40 mm de diámetro, 53 micras de truncamiento y 2° de ángulo de cono, a 25°C. Las muestras se sometieron al siguiente programa de cizallamiento: (a) aumento de la velocidad de cizallamiento de 0 a 500 s^{-1} en 2 minutos (hasta curva), (b) peak hold a 500 s^{-1} durante 2 minutos, y (c) disminución de la velocidad de cizallamiento de 500 a 0 s^{-1} en 2 minutos.



Análisis estadístico

El número de repeticiones de cada medición se indican en los gráficos y tablas. Los datos se analizaron mediante análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) usando un programa de software estadístico Infostat (versión 2015, Universidad de Córdoba, Argentina). Se utilizó la prueba de Tukey para comparar los valores medios cuando se descubrió que la varianza fue significativa. Los valores fueron considerados signifcativos para un valor de $p<0,05$.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción de pectina de P_{MA}

El rendimiento obtenido por el método del ácido aumentó con la temperatura, como se muestra en la Tabla 1. Sin embargo, la prueba de Tukey indicó que sólo el rendimiento a 85°C fue el más alto y presentó diferencias significativas respecto a los obtenidos a temperaturas más bajas. Un menor rendimiento de pectina fue encontrado partir de pulpa de manzana (150-200 g de pectina kg^{-1} de materia seca) y superior a partir de cáscaras de los cítricos (300-350 g de pectina kg^{-1} de materia seca) en condiciones ácidas fueron informados por Rao y Lopes da Silva (2006). Grassino *et al.* (2016) informó de un rendimiento de extracción de pectina de 160-190g kg^{-1} de residuo de tomate seco con oxalato ácido/amonio oxálico.

Extracción de P_{MSA}

El rendimiento de la extracción de SIT se muestra en la **Tabla 1**. Los rendimientos fueron de alta cuando tanto el tiempo y la temperatura aumentó. De hecho, el rendimiento más alto correspondió al proceso llevado a cabo a 95°C y 3 horas. La temperatura en los experimentos llevados a cabo durante 0,5 horas no tuvo ningún efecto sobre el rendimiento y dio el rendimiento más bajo. Chou y Kokini (1987) informó de rendimientos de 29 y 70 g de pectina kg^{-1} de material seco a 65°C y 104°C, respectivamente, para la pectina extraída de las pastas de tomate y el uso de agua como agente de extracción. Utilizando el mismo método, los rendimientos de extracción del mango y de la cáscara seca de lima eran 46 a 76 y 67 g de material seco kg^{-1}, respectivamente (Koubala *et al.* (2008).

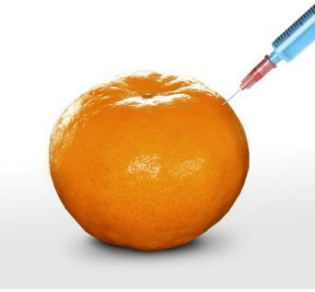
Entonces, las condiciones de extracción fueron optimizadas a pH 2, 1 hora y a 85°C para la obtención de la P_{MA}, mientras que para la P_{MSA} fueron a 95°C y 3 horas para el método acuoso. A pesar de que no se añadió ácido en la extracción en un medio sin acidificar (método acuoso), podría ser considerado como un método de extracción en un medio acidificado ya que el pH resultante fue de 4,5, aunque menos severa que en la extracción en un medio acidificado.

Mediante el análisis de estos resultados, es evidente que el aumento de la temperatura incrementó el rendimiento en ambos métodos de extracción, y fue superior utilizando ácido como agente de extracción. La diferencia entre el rendimiento de la pectina en medio acidificado y sin acidificar fue informado anteriormente. Debido a que la P_{MSA} es el biopolímero débilmente unido o presenta enlaces de hidrógeno a la pared celular, se han encontrado rendimientos más bajos. Por otra parte, la pectina extraída en condiciones de ácidas es un polímero fuertemente unido a la pared celular a través de enlaces covalentes, que por lo que aumenta el rendimiento (Basanta *et al.*, 2012; Chang *et al*., 1993; Fry, 1986).

Tabla 1. Efecto de la temperatura (°C) y el tiempo (minutos) sobre el rendimiento de extracción[a] (gr pectina kg^{-1}) de la P_{MA} y P_{MSA}.

	tiempo			
	P_{MA}	P_{MSA}		
Temperatura	60	30	60	180
65	$241.9^{b}\pm5.5$	-	-	-
75	$250.4^{b}\pm11.9$	$31.0^{d}\pm12.2$	$41.0^{cd}\pm3.4$	$48.0^{cd}\pm3.2$
85	$280.9^{a}\pm12.8$	$36.0^{d}\pm1.3$	$32.0^{d}\pm9.3$	$73.0^{ab}\pm8.5$
95	-	$32.0^{d}\pm15.4$	$56.0^{bc}\pm4.5$	$87.0^{a}\pm2.6$

Promedio ± desviación de estándar (n=3). El valor del rendimiento de extracción con diferentes letras indica diferencias significativas ($p<0,05$) entre las condiciones de extracción de los mismos método de extracción. [a] Rendimiento de extracción (gr pectina Kg^{-1} de SIT).



Composición química

La composición química de las muestras de P_{MA}, la P_{MSA} y PAM aparece en la **Tabla 2**. El contenido de humedad de P_{MA} y P_{MSA} fue mayor que el resto de las muestras, P_{MSA} siendo la muestra con el valor más alto. El contenido de proteína se redujo en el siguiente orden: P_{MA}> P_{MSA}> PAM. Teniendo en cuenta el contenido de cenizas, P_{MSA} fue la muestra con el mayor valor, la PAM fue la más baja, mientras que la P_{MSA} mostró un valor intermedio. El contenido de proteína en P_{MA} y P_{MSA} fue mayor que en PAM. Los altos contenidos de proteína y cenizas en la P_{MA} y P_{MSA} están de acuerdo con los valores reportados por Guil-Guerrero y Rebolloso-Fuentes (2009) para la pectina de las diferentes variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum*), es decir, entre 131-262 y 187.5- 195g kg^{-1} de materia seca, de proteína y ceniza respectivamente.

El contenido de lípidos mostró diferencias entre las muestras y fue baja ya que se espera para las verduras; Sin embargo, la P_{MSA} presenta el valor más alto. Guil-Guerrero y Rebolloso-Fuentes (2009) atribuyó el contenido de lípidos a la presencia de licopeno.

Se observaron las principales diferencias en la composición química en la pureza de estas muestras, que se muestra en la **Tabla 2**. La PAM presentó una pureza superior a la P_{MA} y la P_{MSA}. La pectina se extraída usando agua, P_{MSA}, fue la muestra con la más baja pureza. El método del ácido permite obtener una pectina con buena pureza.

Tabla 2. Composición química (g kg^{-1} pectina), DM (%) y AGal (g kg^{-1}) of P_{MA}, P_{MSA} y PAM.

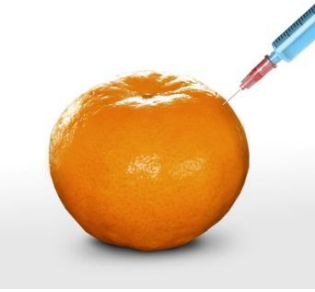
	P_{AM}	P_{MSA}	PAM
Humedad	129.5^{a}±3.5	143.0^{d} ±0.7	72.5^{b}±1.7
Proteina*	$81,1^{d}$±0.5	42.7^{c}±0.5	31.5^{b}±0.0
Ceniza	65.4^{a}±1.7	100.4^{c}±1.6	16.6^{b}±0.2
Lipido	16.0^{a}±2.3	130.8^{c}±4.4	18.6^{ab}±0.4
Pureza****	70.9	57.5	86.1
DM***	76.3^{c}±1,8	87.8^{d}±1.9	60.2^{b}±4.2
AGal**	800.5^{b}±27.3	813.0^{b}±26.5	762.8^{b}±21.7

Promedio ± desviación estándar (n=3). Las diferentes letras en la misma fila indican diferencia significativa ($p<0.05$).* El contenido proteico fue calculado empleando el factor 6,25. **Contenido de AGal libre de ceniza y humedad. *** Relación de la cantidad molar de grupos metilos para la cantidad molar de AGal por gramo de la muestra y expresado en porcentaje. **** La pureza fue calculado de la siguiente manera: [100 – (%Humedad + %Proteína + %Ceniza +%Lípido)].

El contenido de AGal y GM

La **Tabla 2** muestra que el contenido de gala del P_{MA} y P_{MSA} están cerca uno del otro y con valores estadísticos similares (p <0,05). Estos resultados de contenido AGal estaban en el mismo orden que la de la PAM. Por lo tanto, el polisacárido obtenido a partir del SIT se puede considerar como la pectina ya que estos valores son mucho mayores que aproximadamente 650 g AGal kg^{-1} de pectina (libre de cenizas y materia seca), fijado para la pectina por la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) de las Naciones Unidas (FAO, 2009; Paulionis *et al.*, 2015).

El GM de P_{MA} y P_{MSA} fueron superiores a 50%, significativamente diferente y ambos correspondieron a la pectina de alto metoxilo. Estos resultados fueron aún más alta que la PAM. La diferencia en la GM entre P_{MA} y P_{MSA} podría ser debido a la fuerza y altas temperaturas de ácido, que refuercen la desmetoxilación y promover la hidrólisis, respectivamente (Van Buggenhout *et al*., 2009; Zhang *et al.*, 2011).



Viscosidad intrínseca, peso molecular viscosimétrico y solubilidad

La viscosidad intrínseca es un parámetro que refleja el volumen hidrodinámico ocupado por el polímero y depende del peso molecular y la conformación del polímero y del disolvente. La **Tabla 3** muestra la viscosidad intrínseca de pectina en 0,1 M de NaCl y el peso molecular viscosimétrico promedio que se calculó con la ecuación de Mark-Houwink utilizando los parámetros sugeridos por Anger y Berth (1986). La [η] informada es el valor medio de los obtenidos a través de las ecuaciones Huggins y Kraemer.

La muestra ATP presenta una viscosidad intrínseca similar a los valores reportados por Chou & Kokini (1987) para la pectinas soluble en agua extraídas a partir de pasta de tomate (3,4 dL g-1). Sin embargo, la pectina no convencional extraída por el HCl a pH 1,5, tales como las pectinas de ambarella y lima, mostraron valores inferiores de 1,8 y 3,4 L g-1, respectivamente (Koubala *et al.*, 2008). La pectina que se extraen a partir de fuentes convencionales, tales como la manzana y cítricos presentaron valores de [η] ligeramente más alto que el de P_{MA}, 4,5 y 3,8 L g-1, respectivamente (Panchev *et al.*, 2010). Sin embargo, la viscosidad intrínseca de la pectina de cáscaras *akebia trifoliata* var. *Australis* cáscara extraído por HCl fue mayor que el extraído por el ácido cítrico.

El PMv promedio estuvo entre 93.000-96.000Da y 30.000Da sobre una base libre de cenizas, para la P_{MA} y P_{MSA}, respectivamente. Además, el PMv de P_{MA} estuvo cerca de la correspondiente a la PAM. Estos resultados muestran que el proceso de extracción afectó el tamaño de la molécula de pectina de tomate obtenido, ya que el [η] y el PMv de la P_{MA} extraído en condiciones de pH más severo fueron más altos que los correspondientes a P_{MSA}.

La **Tabla 3** muestra la solubilidad en agua de las muestras, lleva a cabo a pH 4,5 ($S_{pH\ 4,5}$) y ($S_{pH6,5}$) y a temperatura ambiente. Todas las muestras presentaron una alta solubilidad, aunque los valores fueron mayores a pH 4,5 respecto a su evaluación a pH 6,5. Por otro lado, la solubilidad de las muestras de P_{MA} y P_{MSA} fue similar a la de PAM.

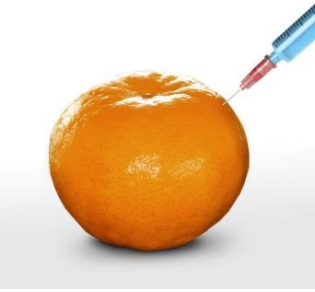
Tabla 3. Viscosidad intrínseca (dL g^{-1}), peso molecular viscosimétrico promedio (kDa) y solubilidad (%) de pectinas a diferentes valores de pH (libre de cenizas y humedad) determinado por la ecuación de Huggins y Kraemer.

	P_{MA}	P_{MSA}	PAM
[η]	$4.2^{b}\pm0.2$	$1.8^{a}\pm0.0$	$3.9^{b}\pm0.1$
PM_v	$94.6^{c}\pm1.8$	$30.5^{a}\pm0.1$	$86.7^{b}\pm0.4$
$S_{pH\ 6.5}$	$74.1^{abA}\pm3.0$	$83.3^{deA}\pm0.4$	$78.2^{bcA}\pm1.5$
$S_{pH\ 4.5}$	$89.7^{fB}\pm0.5$	$85.8^{defB}\pm0.2$	$86.5^{efB}\pm3.3$

Promedio ± desviación estándar (n=3). Valores con diferentes letras minúsculas muestra diferencias significativas entre las muestras (p<0,05). Los valores de solubilidad con diferentes letras mayúsculas en cada columna son diferentes significativas (p<0,05).

Propiedades de flujo

Las curvas de flujo (no mostrados), obtenidos a partir de ensayos de cizallamiento estacionario en soluciones de pectina 30g kg^{-1} de solución y pH 4,5, 6,5 y a pH natural, indicaron que todas las muestras presentaron un comportamiento del tipo pseudoplástico independiente del tiempo, puesto que la viscosidad disminuyó con la velocidad de cizallamiento y no se detectó algún área tixotrópica. Resultados similares para las pectinas de alto metoxilo extraídas a partir de citrus, cáscaras de cacao y pulpa de manzana (Sousa *et al.*, 2015; Vriesmann y Petkowicz, 2013).



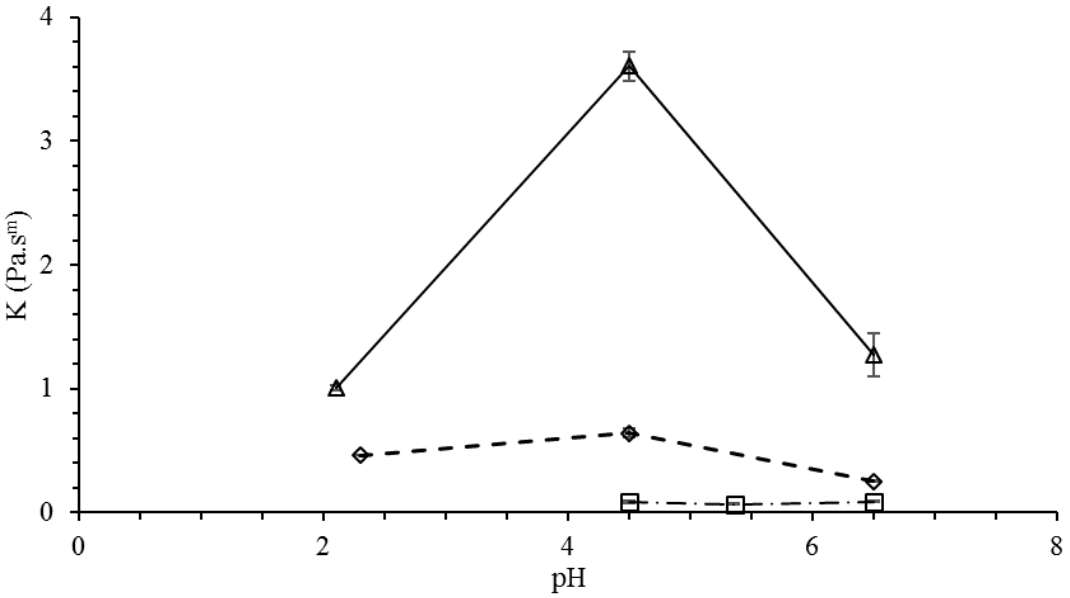


Figura 2. Coeficiente de consistencia (K) de soluciones de PMA (Δ), PMSA (□) y PAM (◊) a una concentración de 30 g kg^{-1} a diferentes pH fue obtenido del modelo Ostwald-de Waelle.

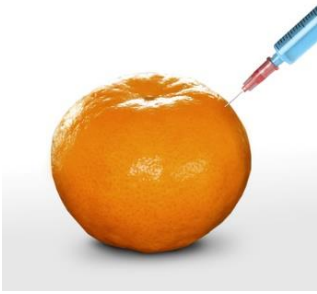
El modelo de ley de potencia se aplica a la curva hacia abajo, y el coeficiente de consistencia (K) fue representado en contra de pH (**Figura 2**). Los valores de K de las muestras fueron afectados por el pH y fueron mayores a pH 4,5 para el P_{MA} y PAM. La P_{MSA} no presentó sensibilidad al cambio de pH, probablemente debido a la alto DM de esta muestra. Por otra parte, el coeficiente de consistencia mostró una relación directa con el PMv de pectina. Este resultado indicó que la viscosidad de estas muestras depende de la tamaño de la molécula, el pH y la solubilidad (la solubilidad fue mayor a pH 4,5). Es evidente que el proceso de extracción afectó a las propiedades de la pectina ya que el valor K de P_{MA} fue mayor que la de P_{MSA} en todos los valores de pH estudiados, pero en particular a un pH de 4,5.

El índice de comportamiento de flujo "n" dado por el modelo de ley de potencia estuvo, para todas las muestras, en el rango de 0,7-0,85 (datos no mostrados) que correspondían a un pseudoplástico o el comportamiento de shear-thinning.

CONCLUSIONES

En este estudio la extracción de pectina a partir de los residuos del subproducto de la industrialización del tomate. Dos métodos de extracción fueron empleados. Uno de ellos, el método de extracción empleando un medio acidificado, se optimizó mediante extracción con una solución de ácido clorhídrico a pH 2, 85°C, y 60 min. El otro, extracción en medio sin acidificar, que se utiliza agua destilada fue a emplear una temperatura de 95°C durante 180 minutos. El rendimiento y la pureza del extracto obtenido por el método del ácido fueron significativamente mayores que la de la muestra obtenida por la acuosa. La pectina obtenida por el anterior, es decir, P_{MA}, y el obtenido por la extracción con agua, P_{MSA}, se clasificaron como pectina alto metoxilo debido a su grado de metoxilación y su contenido de ácido galacturónico.

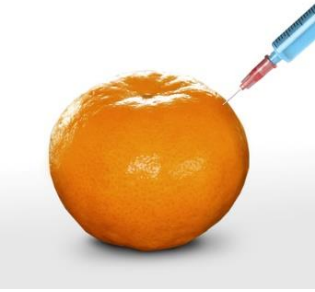
Estos resultados muestran que el proceso extracción afectó a las propiedades de la pectina obtenidas. La P_{MA}



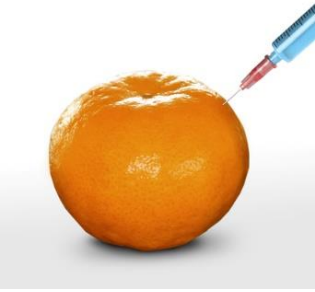
presentó una [η], PM_V y coeficiente de consistencia mayor a la P_{MSA}, inclusive a la PAM.
Los resultados sugieren que el método de extracción empleando un medio acidificado (con HCl), P_{MA}, con propiedades similares a la PAM usada como control y mejores propiedades a las manifestadas por la P_{MSA}. Las características de la PMA, permiten la futura evaluación para el uso en formulaciones alimentarias e incrementan el valor agregado de la industrialización del tomate.

BIBLIOGRAFÍA

Anger, H., & Berth, G. 1986a. Gel permeation chromatography and the Mark-Houwink relation for pectins with different degrees of esterification. Carbohydrate Polymers, 6(3), 193–202.
AOAC. (1995). Official methods of analysis of AOAC International. (Association of Analytical Communities, Ed.) (16th ed.). Arlington.
Basanta, M. F., Ponce, N. M. A., Rojas, A. M., & Stortz, C. A. 2012. Effect of extraction time and temperature on the characteristics of loosely bound pectins from Japanese plum. Carbohydrate Polymers, 89(1), 230–235.
Chang, C. Y., Tsai, Y. R., & Chang, W. H. (1993). Models for the interactions between pectin molecules and other cell-wall constituents in vegetable tissues. Food Chemistry, 48(2), 145–157.
Chou, T. D., & Kokini, J. L. (1987). Rheological Properties and Conformation of Tomato Paste Pectins, Citrus and Apple Pectins. Journal of Food Science, 52(6), 1658–1664.
FAO. (2009). Pectins (superseding specifications prepared at the 68th JECFA (2007) and pub- lished in FAO JECFA Monographs 4 (2007). A group ADI "not specified" was established for pectins and amidated pectins, singly or in combination at the 25th JECFA in 1981). Retrieved from http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/monograph7/additive-306-m7.pdf
Fry, S. C. 1986. Cross-Linking of Matrix Polymers in the Growing Cell Walls of Angiosperms. Annual Review of Plant Physiology, 37(1), 165–186.
Grassino, A. N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M., & Brnčić, S. R. 2016. Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. Food Chemistry, 198, 93–100.
Guil-Guerrero, J. L., & Rebolloso-Fuentes, M. M. 2009. Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (Lycopersicon esculentum) varieties. Journal of Food Composition and Analysis, 22(2),
Ibarz, A., Pagán, A., Tribaldo, F., & Pagán, J. 2006. Improvement in the measurement of spectrophotometric data in the m-hydroxydiphenyl pectin determination methods. Food Control, 17(11), 890–893.
Klavons, J., & Bennett, R. (1986). Determination of methanol using alcohol oxidase and its application to methyl ester content of pectins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 34(4), 597–599.
Koubala, B. B., Kansci, G., Mbome, L. I., Crépeau, M. J., Thibault, J. F., & Ralet, M. C. 2008. Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from "Améliorée" and "Mango" mango peels. Food Hydrocolloids, 22(7), 1345–1351.
Koubala, B. B., Mbome, L. I., Kansci, G., Tchouanguep Mbiapo, F., Crepeau, M. J., Thibault, J. F., & Ralet, M. C. (2008). Physicochemical properties of pectins from ambarella peels (Spondias cytherea) obtained using different extraction conditions. Food Chemistry, 106(3), 1202–1207.
Kulkarni, S. G., & Vijayanand, P. 2010. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (Passiflora edulis f. flavicarpa L.). LWT - Food Science and Technology, 43(7), 1026–1031.
Li, X., Al-Assaf, S., Fang, Y., & Phillips, G. O. 2013. Characterisation of commercial LM-pectin in aqueous solution. Carbohydrate Polymers, 92(2), 1133–1142.
Panchev, I. N., Slavov, A., Nikolova, K., & Kovacheva, D. 2010. On the water-sorption properties of pectin. Food Hydrocolloids, 24(8), 763–769.
Paulionis, L., Walters, B., & Li, K. 2015. Authorised EU health claims on pectins. En: M. J. Sadler, Editor. Foods, Nutrients and Food Ingredients with Authorised EU Health Claims: Volume 2. 2ª ed. Cambridge, UK;



Waltham, USA; Kidkington, UK: ELSERVIER. pag 153–174.
Rao, M. A., & Lopes da Silva, J. A. Pectins: Strucuture, Functionality and Uses. En: P. A. Williams, A. M. Stephen, & Gl. O. Phillips, editores. 2006. Food Polysaccharides and Their Applications. 2ª Ed. Boca Rato, Florida, USA: CRC Taylor & Francis Group. pag 353–412.
Sousa, A. G., Nielsen, H. L., Armagan, I., Larsen, J., & Sørensen, S. O. 2015. The impact of rhamnogalacturonan-I side chain monosaccharides on the rheological properties of citrus pectin. Food Hydrocolloids, 47, 130–139.
Van Buggenhout, S., Sila, D. N., Duvetter, T., Van Loey, a., & Hendrickx, M. 2009. Pectins in Processed Fruits and Vegetables: Part III-Texture Engineering. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 8(2), 105–117.
Vriesmann, L. C., & Petkowicz, C. L. O. 2013. Highly acetylated pectin from cacao pod husks (Theobroma cacao L.) forms gel. Food Hydrocolloids, 33(1), 58–65.
Zhang, J., Wang, Z. W., Yu, W. J., & Wu, J. H. 2011. Pectins from Canna edulis Ker residue and their physicochemical characterization. Carbohydrate Polymers, 83(1), 210–216.



Comparación de métodos para la obtención de almidón de sorgo mediante el uso de sulfito y/o proteasas

Albarracín M., Drago S. R.

Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA), CONICET, Facultad de Ingeniería Química (UNL), Santa Fe, Argentina
malbarracin@fiq.unl.edu.ar

RESUMEN

El almidón constituye más del 70% del grano de sorgo. Se utiliza como materia prima o aditivo alimentario, o en aplicaciones no alimentarias. El objetivo de este trabajo fue comparar métodos de extracción de almidón basados en maceración con sulfito y/o hidrólisis enzimática. Los métodos fueron: i) maceración con sulfito (24 h); ii) hidrólisis con proteasas (4 h); iii) maceración con sulfito 12 h + hidrólisis con proteasas (3 h); iv) maceración con sulfito 24 h + hidrólisis con proteasas (3 h). Se evaluaron recuperación y rendimiento de cada proceso, contenido de proteínas por Kjeldhal, almidón total por polarimetría, almidón dañado y color de los almidones. Los resultados de recuperación de almidón variaron de 44-76%, y el máximo correspondió a la extracción con maceración (24 h) + hidrólisis (3 h), con un rendimiento del 58%. El contenido de proteínas de los almidones varió de 0,6-2,8%, siendo menor en el almidón extraído por maceración (12 h) + hidrólisis (3 h). Teniendo en cuenta la recuperación y el contenido residual de proteínas, una maceración con sulfito durante 12 h + hidrólisis con proteasas durante 3 h es suficiente para lograr buena recuperación y pureza del almidón de sorgo rojo descascarado.

Palabras clave: Sorgo, descascarado, almidón, maceración con sulfito, hidrólisis, proteasas.

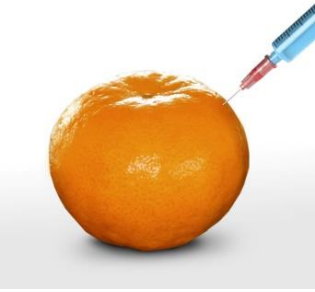
ABSTRACT

Starch constitutes more than 70% of sorghum grain. It is used as food raw material or additive, and also in non-food applications. The aim of this study was to compare starch isolation methods based on sulfite maceration and/or enzymatic hydrolysis. The methods were: i) sulfite-maceration (24 h); ii) protease hydrolysis (4 h); iii) sulfite-maceration (12 h) + protease hydrolysis (3h); iv) sulfite-maceration (24 h) + protease hydrolysis (3h). Recovery and yield of each method, protein content by Kjeldahl, total starch by polarimetry, damage starch, and starch color were evaluated. The results showed starch recoveries between 44-76%, the highest corresponding to maceration (24 h) + hydrolysis (3 h), with a yield of 58%. Protein content was 0.6 to 2.8%. The lowest protein content was reach in starch isolated by maceration (12 h) + hydrolysis (3 h). Taking into account recovery and residual protein content in the extracted starch, the maceration (12 h) combined with hydrolysis (3 h) is enough to achieve a good recovery and purity of the starch from dehulled red sorghum.

Keywords: sorghum, dehulling, starch, SO_2, hydrolysis, protease.

INTRODUCCIÓN

El sorgo (*Sorghum bicolor (L.) Moench*), miembro de la familia de las gramíneas, ocupa el quinto lugar a nivel mundial en importancia entre los cereales (Rooney et al. 2005). Se ha demostrado, que su cultivo es económicamente rentable, basado en su bajo costo de producción, resistencia a la sequía y altas temperaturas dada sus características de rusticidad (Rodriguez et al. 2015). Además, algunas variedades son ricas en polifenoles, compuestos naturalmente antioxidantes (Dykes y Rooney 2006).



Si bien a nivel nacional el destino ha sido principalmente la alimentación animal, en el mundo alrededor del 40% de la producción del sorgo granífero es destinado a la alimentación humana, como ingrediente para la formulación de alimentos y bebidas (Carrasco et al. 2011). Además, el grano de sorgo posee la ventaja de carecer de las prolaminas responsables de la enfermedad celíaca, que sí están presentes en otros cereales como trigo, avena, cebada y centeno, haciéndolo apto para el consumo por parte de personas celíacas (Taylor et al. 2006).

El grano de sorgo posee como principal constituyente al almidón, el cual representa más del 70% del peso del grano seco y es una de las principales fuentes de energía de bajo costo en la dieta del ser humano. Se utiliza ampliamente en la industria alimentaria, ya sea como materia prima o como aditivo (espesante, estabilizante, modificador de la textura, etc.); así como también en otras aplicaciones no alimentarias (Singh et al. 2010). Al igual que en el caso del maíz, la extracción del almidón a nivel industrial se basa en la molienda húmeda, que permite su obtención, separando el germen y la fibra. Este proceso puede realizarse utilizando soluciones de álcalis (Beta et al. 2000), de SO_2 (Buffo et al. 1997) y/o utilizando enzimas (Wang et al. 2000). Luego, el almidón es lavado y recuperado del lodo, eliminando las proteínas. Por último, se procede al secado. Sin embargo, la recuperación y purificación de almidón de sorgo es más difícil que a partir del maíz, debido a que el grano de sorgo contiene una gran proporción de endospermo córneo y una capa de células densas ricas en proteínas en la periferia del endospermo, justo dentro de la capa de aleurona (Watson et al. 1955). En los últimos años, se evaluaron diferentes métodos de aislamiento del almidón con el fin de optimizar su producción, de los cuales la mayoría utiliza el grano intacto, sin descascarado previo. El objetivo de este trabajo fue comparar diferentes métodos de extracción de almidón, a partir de sorgo rojo descascarado, basados en la maceración con sulfito y/o la hidrólisis con enzimas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se utilizó el cultivar Sorgo Rojo Pan 8816. Los granos fueron previamente limpiados, separándose las partículas extrañas. Posteriormente fueron pulidos para eliminar el salvado y el germen, utilizando un descascarador de arroz Galicet (San Salvador, Entre Ríos).

Se empleó una proteasa cuya actividad enzimática fue 1600 AZO/g, provista por la empresa Nutring (Buenos Aires, Argentina).

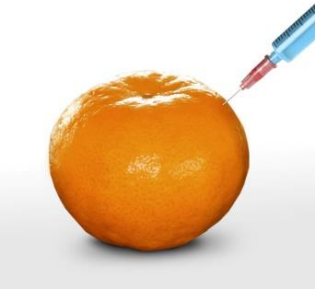
Métodos de extracción de almidón

Método 1. Maceración 24 horas

La obtención del almidón por maceración se basó en el método descripto por Bandeira da Cruz et al. (2015), con modificaciones. Se maceraron 100 g de sorgo descascarado en una solución de sulfito de sodio (0,3%) y ácido láctico (0,4%) en relación 1:2 (p/v) durante 24 h a 50ºC. Luego, los granos se molieron con 200 mL de agua destilada utilizando un mixer durante 2 min. La suspensión se tamizó con tamiz de 80 mesh y el filtrado se centrifugó durante 20 min a 3969 g (20ºC). Se descartó el sobrenadante, se lavó el almidón con agua destilada y se centrifugó nuevamente para purificarlo. Se realizaron 3 (tres) lavados con el fin de eliminar las impurezas del almidón. Finalmente el almidón obtenido se secó en estufa de vacío a 40ºC - 1 bar durante 48 h.

Método 2. Proteasa 3 horas

Este método involucra una hidrólisis con proteasa y está basado en la técnica de Mezo-Villanueva y Serna-Saldivar (2004) y Pérez-Carrillo y Serna-Saldívar (2006), con modificaciones. Los granos de sorgo rojo descascarado fueron molidos hasta obtener grits (1,19-0,25 mm). Luego, se suspendieron 100 g de grits en 200 mL de agua destilada, en condiciones controladas de temperatura (50ºC) y pH (7), se agregaron aproximadamente 1000 AZO de enzima y la hidrólisis se realizó durante 3 h. Luego se prosiguió con el lavado



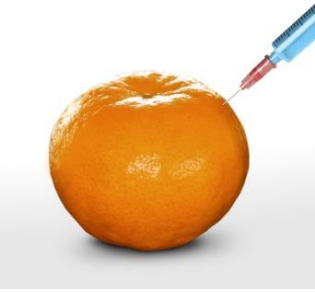
de la misma manera que en el método 1 descripto anteriormente.

Método 3. Maceración 12 horas + proteasa 3 horas

Este método combina la maceración durante 12 h descripta en el punto 1 con la hidrólisis con proteasa durante 3 horas descripta en el punto 2. La purificación del almidón se realizó mediante sucesivos lavados y centrifugación, descriptos en el método 1.

Método 4. Maceración 24 horas + proteasa 3 horas

Este método combina la maceración durante 24 h descripta en el punto 1 con una hidrólisis con proteasa durante 3 h descripta en el punto 2. La purificación del almidón se realizó según lo descripto en el método 1.



Recuperación (%) y rendimiento (%)
Se determinaron la recuperación (RECUP%) y el rendimiento (REND%) del almidón obtenidos con los métodos descriptos anteriormente, según las ecuaciones (1) y (2):

$$\text{RECUP (\%)} = (\text{g almidón extraídos/ g almidón sorgo}) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{REND (\%)} = (\text{g almidón extraídos/ g sorgo}) \times 100 \quad (2)$$

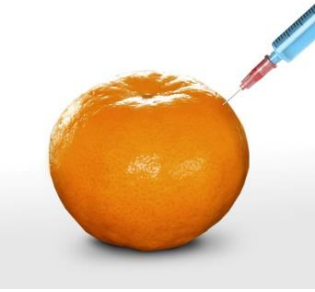
Humedad
Para la determinación de humedad de las muestras se utilizó una balanza de Infrarrojo Radwag, PMC 50 (Polonia, UE) a 120ºC durante 5 minutos.
Contenido de proteínas (g/100g)
El contenido de proteínas fue determinado mediante la medición de nitrógeno por el método de Kjeldahl (AACC 46-13, 2000). Posteriormente se calculó el porcentaje de proteínas mediante el factor 6.25 de conversión de nitrógeno a proteína de sorgo.
Contenido de Almidón (g/100g)
El contenido de almidón fue determinado por el método polarimétrico de Ewers modificado (IRAM 1980).
Almidón Dañado (%)
El porcentaje de almidón dañado fue determinado de acuerdo al método 76-30 de la AACC (2000).
Color
Se determinó el color de los almidones mediante el uso de un colorímetro MINOLTA CM-508d (Minolta Co., LTD, Japón) con ángulo de observador: 10º; iluminante: D65 y SCE (Componente especular excluido). Evaluando los parámetros del sistema CIE: L* (luminosidad), a* (valores positivos = rojo; valores negativos = verde) y b* (valores positivos =amarillos; valores negativos = azul). Se realizaron tres mediciones por muestra.
A partir de los valores de *a** y *b** se calculó el índice de blancura (**IB**) o "whiteness index" (WI) (ecuación 3) según Hirschler (2012) y el ángulo ***h*** (tono del color) (ecuación 4) de cada almidón obtenido.

$$\text{IB o WI} = 100 - [(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{0,5} \quad (3)$$

$$h = \arctan (b^* / a^*) \quad (4)$$

Análisis estadísticos
Los resultados de las determinaciones fueron expresados en base seca (BS) del producto procesado. Las determinaciones se realizaron por triplicado. El ANOVA fue realizado mediante el programa STATGRAPHICS plus 5.0. El nivel de significación adoptado fue $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN
La **Figura 1** muestra los resultados de recuperación y rendimiento obtenidos al ensayar los diferentes métodos de extracción de almidón.



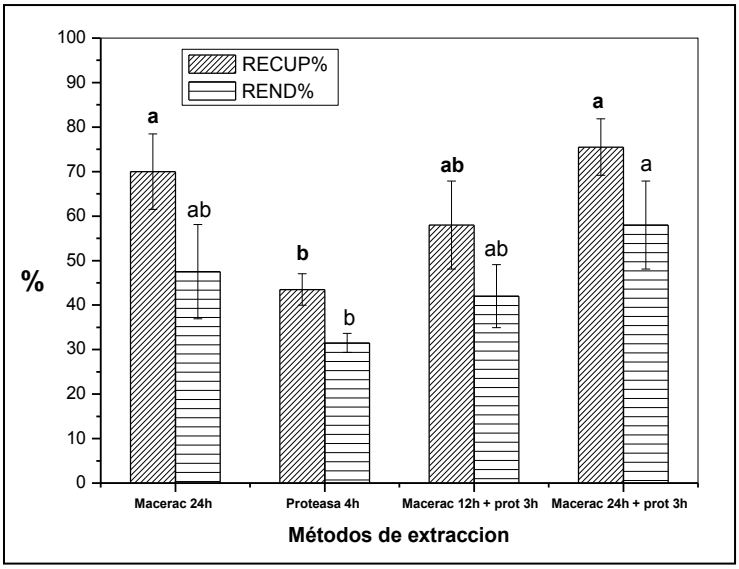


Figura 1. Recuperación (RECUP%) y Rendimiento (REND%) de almidón obtenido por los diferentes métodos de extracción a partir de sorgo rojo descascarado.

Los resultados indicaron un rango de **recuperación** de almidón desde 43,5 a 75,5%, correspondiendo el máximo a la extracción con el método de maceración 24h + proteasa 3h. Por otra parte, el método de proteasa 4 h presentó la menor recuperación de almidón (43,5%).

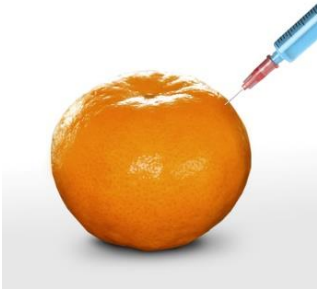
En relación al **rendimiento,** los valores oscilaron entre 31,5 y 58%, cuyo máximo, al igual que en los valores obtenidos de recuperación, correspondieron al método de maceración 24h + proteasa 3h.

Chew-Guevara et al. (2016) compararon la extracción de almidón de sorgo rojo descascarado utilizando métodos de extracción sin y con el agregado de proteasas. Los resultados que obtuvieron mostraron un rendimiento y recuperación de 49,12 ± 1,05 y 73,36 ± 0,66% para el método sin el agregado de proteasas; y de 61,47 ± 1,16 y 91,80 ± 0,43%, respectivamente para aquel donde agregaron proteasas. Estos resultados son similares a los obtenidos en nuestro trabajo. La combinación de la maceración, con sulfito y láctico, con la hidrólisis utilizando proteasas favorece la liberación de los gránulos de almidón de la matriz proteica que los contiene, mejorando el rendimiento y la recuperación del almidón (Yang y Seib 1995; Mezo-Villanueva y Serna-Saldívar 2004; y Pérez-Carrillo y Serna-Saldívar 2006).

El sorgo presenta características de estructura y composición que dificultan la extracción del almidón, tales como la presencia de endospermo corneo en la periferia que actúa como barrera contra la penetración de la solución de SO_2, además de una matriz de proteínas más compacta y reticulada, que recubre los gránulos de almidón, disminuyendo así los rendimientos de obtención de almidón y su calidad (Mezo-Villanueva y Serna-Saldívar 2004).

El contenido de **proteínas** residual en los almidones extraídos se muestra en la **Tabla 1**. El rango fue de 0,6-2,8%. El menor contenido residual corresponde al almidón proveniente de la extracción por maceración 12h + proteasa 3h. El ANOVA indicó que existen diferencias significativas (*p 0,0010*) en el contenido de proteínas del almidón obtenido por maceración 24h en comparación con los almidones obtenidos por los otros métodos.

Las proteínas más abundantes del sorgo son las prolaminas, llamadas kafirinas, que están localizadas en los cuerpos proteicos del endospermo. En el grano de sorgo descascarado representan más del 80% del total de las proteínas (Espinosa-Ramírez y Serna-Saldívar 2016). La mayor parte de estas proteínas están en forma entrecruzada en el grano de sorgo, lo que indica que la adición de agentes reductores, como en este caso del SO_2,



reduce los puentes di-sulfuro impidiendo la formación de estructuras secundarias e incrementando significativamente la digestibilidad de proteínas (Hamaker et al., 1987).

La **Tabla 1** además muestra el **contenido de almidón** del almidón obtenido usando los diferentes métodos de extracción. Estos datos confirman que el valor máximo de almidón (99,5%) se obtuvo con maceración 12h + proteasa 3h, lo cual coincide con el menor contenido proteico residual mencionado anteriormente. El menor contenido de proteínas residual y el mayor contenido de almidón indicarían una mayor pureza del almidón obtenida por este método.

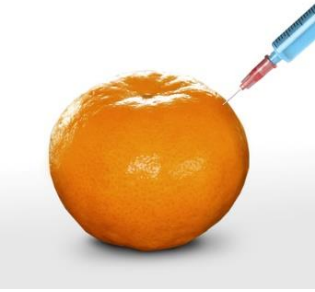
Tabla 1. Contenido de proteínas y almidón en almidones obtenidos a partir de sorgo rojo descascarado por distintos métodos*

Métodos	**Proteínas (g/100g)**	**Almidón (g/100g)**
Maceración 24h	2,30±0,14[a]	87,25±1,64[c]
Proteasa 4 h	0,86±0,17[b]	95,00±0,73[b]
Maceración 12h + proteasa 3h	0,58±0,12[c]	99,55±0,90[a]
Maceración 24h + proteasa 3h	0,93±0,15[b]	94,97±1,92[b]
P	***0,0010***	***<0,0001***

Media ± DE. Medias con letras diferentes dentro de la misma columna indica diferencias significativas entre las muestras (p <0,05). *BS

En la **Figura 2** se observan los resultados de porcentaje de **almidón dañado** determinados a los almidones extraídos con los diferentes métodos. El ANOVA muestra que hubo diferencias significativas, siendo mayor el porcentaje de almidón dañado del almidón obtenido con proteasa 4h. Cabe destacar que este almidón se obtuvo a partir de grits de sorgo rojo descascarado, por lo que la molienda previa del grano tiene un impacto en el daño que se produce al almidón.

El proceso de descascarado mecánico que gradualmente erosiona las capas externas del sorgo influye negativamente en las características del almidón obtenido, debido al cizallamiento y calor producidos por el pulido, lo que se traduce en un daño del almidón (Buitimea-Cantúa et al., 2013). Esto justificaría la similitud entre los porcentajes de almidón dañado de los almidones obtenidos con los métodos de maceración y proteasa, y la diferencia con el método que emplea sólo proteasa el cual implica molienda previa de los granos.



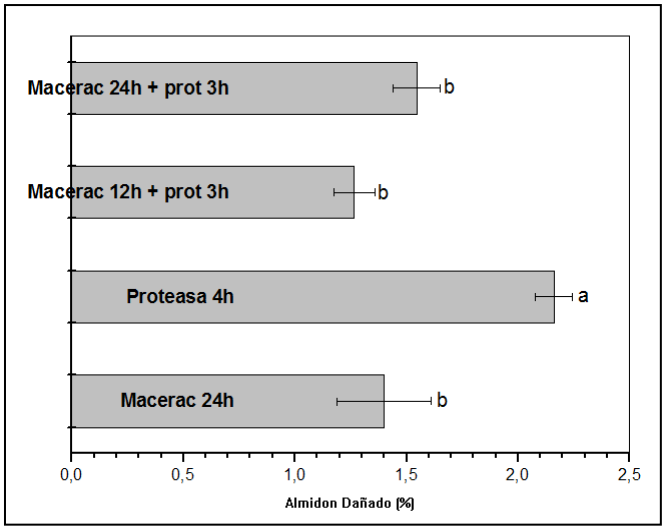


Figura 2. Almidón dañado (%) de los almidones obtenidos por los diferentes métodos (*p 0,0093*).

El **color** de almidón es una característica de calidad muy importante para la elección del método de extracción, donde el principal objetivo es obtener un almidón blanco puro.

La **Tabla 2** muestra los parámetros de *L**, *a** y *b** medidos. Los almidones obtenidos por maceración 12h + proteasa 3h y maceración 24h + proteasa 3h fueron los que mostraron mayor valor de *L**, esto indica que los mismos están dentro de los valores deseables de luminosidad (mayores a 90) para los almidones (Wang et al. 2000). A su vez, teniendo en cuenta los menores valores de a* y b, junto con el mayor valor de L*, el almidón obtenido por maceración 12h + proteasa 3h posee el mayor grado de pureza según los valores de los parámetros de color evaluados.

Chew-Guevara et al. (2016) demostraron un efecto significativo del descascarado en la obtención del almidón de sorgo, debido a que este proceso aumentó los valores de L* en los almidones de sorgo que obtuvieron.

El **IB** (**Tabla 2**) indica cuán cerca está la muestra del blanco ideal (IB =100). Se puede observar que existen diferencias significativas entre los valores obtenidos (89,12 - 90,65) siendo mayor el IB para los almidones de los métodos de maceración 12h + proteasa 3h y maceración 24h + proteasa 3h.

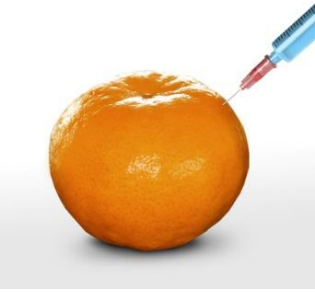
En relación al ángulo ***h*** (tono del color**)**, se conoce que un valor de 90º representa un tono amarillo, mientras que menores valores tienden a tonos más naranjas e incluso rojos. Los resultados de los almidones obtenidos se encuentran entre 71,45 y 81,64 indicando esto que los mismos tienen una tendencia al color amarillo,

Tabla 2. Valores de L*, a* y b; Índice de blancura (IB) y h (tono del color).

Métodos	L*	a*	b*	IB	h
Maceración 24h	89,10±1,09^{b}	0,68±0,02^{b}	3,29±0,28^{a}	89,55±0,07^{b}	77,52±0,38^{b}
Proteasa 4 h	89,87±0,54^{b}	0,33±0,03^{a}	2,32±0,14^{b}	89,12±0,04^{b}	81,64±0,42^{a}
Maceración 12h + prot 3h	90,87±0,25^{a}	0,68±0,06^{b}	2,20±0,24^{b}	90,31±0,11^{a}	73,22±0,39^{c}
Maceración 24h + prot 3h	91,02±0,30^{a}	0,78±0,02^{a}	2,26±0,07^{b}	90,65±0,50^{a}	71,45±0,68^{d}
p	***0,0036***	***<0,0001***	***<0,0001***	***0,0122***	***0,0001***

Media ± DE.

Medias con letras diferentes dentro de la misma columna indica diferencias significativas entre las muestras (p <0,05).



CONCLUSIONES

Los diferentes métodos de extracción de almidón produjeron almidones con diferente pureza y composición, lo cual probablemente conlleve a diferentes propiedades fisicoquímicas y aplicaciones de los mismos.

Teniendo en cuenta la recuperación y el contenido residual de proteínas de los almidones obtenidos a través de los diferentes procesos como indicadores de una mejor extracción, el método de maceración con sulfito durante 12 h + hidrólisis con proteasas durante 3 h permitió lograr una buena recuperación y pureza del almidón proveniente de sorgo rojo descascarado. Esto también fue indicado a través de los parámetros de color y el índice de blancura calculados.

Estos resultados podrían utilizarse para obtener almidones a escala piloto y posteriormente transferir el proceso de extracción de almidones a la industria con el fin de que se produzcan almidones de sorgo en la Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

American Association of Cereal Chemistry: Approved Methods of the AACC, 10th ed. St. Paul, MN, 2000.

Bandeira Da Cruz D, Schellin Vieira da Silva W, Petrarca dos Santos I, Zavareze ER, Cardoso Elias M. 2015. Structural and technological characteristics of starch isolated from sorghum as a function of drying temperature and storage time. Carbohydrate Polymers 133, 46-51.

Beta T, Corke H, Rooney LW, Taylor JRN. 2000. Starch properties as affected by sorghum grain chemistry. J Sci Food Agric 81, 245–51.

Buffo RA, Weller CL, Parkhurst AM. Optimization of sulfur dioxide and lactic acid steeping concentrations for wet-milling of grain sorghum.

Buitimea-Cantúa NE, Torres-Chávez PI, Ledesma-Osuna AI, Ramírez-Wong B, Robles-Sanchez RM, Serna-Saldivar SO. 2013. Effect of defatting and decortication on distribution of fatty acids, phenolic and antioxidant compounds in sorghum (Sorghum bicolor) bran fractions. Int. J. Food Sci. Tech. 48, 2166–2175.

Carrasco N, Zamora M, Melin A. 2011. Manual de sorgo. 1ª ed. Chacra Experimental Integrada Barrow: ediciones INTA 2011; pag. 7. ISBN: 978-987-679-071-0.

Chew-Guevara AA, Pérez-Carrillo E, Serna-Saldívar SRO, de la Rosa-Millan J. 2016. Effect of decortication and protease treatment on physicochemical and functional characteristics of red sorghum (Sorghum bicolor) and yellow maize (Zea maiz) starches. Starch/Stärke 68, 1–8.

Dykes L, Rooney LW. 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants. J Cereal Sci 44, 236–51.

Espinosa-Ramírez J, Serna-Saldívar SO. 2016. Functionality and characterization of kafirin-rich protein extracts from different whole and decorticated sorghum genotypes. Journal of Cereal Science 70, 57-65.

Hamaker BR, Kirleis AW, Butler LG, Axtell JD and Mertz ET. 1987. Improving the in vitro protein digestibility of sorghum with reducing agents. USA. Proc. Nat. Acad. Sci. 84, 626-628.

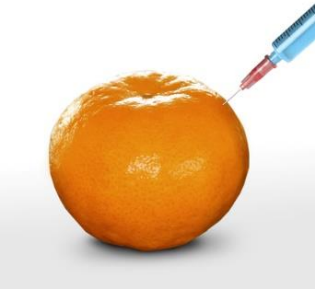
Hirschler R. 2012. Whiteness, Yellowness, and Browning in Food Colorimetry: A Critical Review. En: Color in Food. Technological and Psychophysical Aspects. Ed. José Luis Caivano and María del Pilar Buera. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL: 2012. Chapter 10. pp. 94.

IRAM 15859. 1980. Cereales. Método de determinación del almidón por la técnica polarimétrica de Ewers modificada.

Mezo-Villanueva M, Serna-Saldivar SO. 2004. Effect of protease addition on starch recovery from steeped sorghum and maize. Starch/Stärke 56, 371–378.

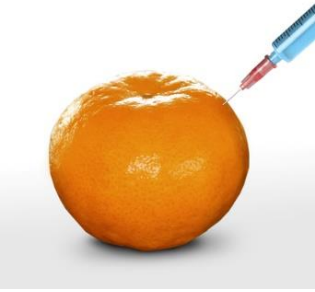
Pérez-Carrillo E, Serna-Saldívar SO. 2006. Cell Wall Degrading Enzymes and Proteases Improve Starch Yields of Sorghum and Maize. Starch/Stärke 58, 338–344.

Rodríguez Rodríguez L, Gallardo Aguilar I, Morfa CN, Ortiz Fernández W. 2015. Evaluación de dos variedades



de sorgo para la obtención de almidón. Centro Azúcar 42, 1, 88-95.
Rooney LW, Awika JM. 2005. Specialty sorghum for healthful food and feed. In Specialty Grain for Food and Feed; Abdel- Aal, E., Wood, P., Eds.; AACC, Inc.: St. Paul, MN; pp 283-312.
Singh H, Singh Sodhi N, Singh N. 2010. Characterization of starches separated from sorghum cultivars grown in India. Food Chemistry 119, 95–100.
Taylor JRN, Schober TJ, Bean SR. 2006. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. J Cereal Sci 44, 252–71.
Wang F C, Chung D S, Seib P A, Kim Y S. 2000. Optimum steeping process for wet milling of sorghum. Cereal Chem. 77, 478-483.
Watson SA, Sanders EH, Wakely RD, Williams CB. 1955. Peripheral cells of the endosperms of grain sorghum and corn and their influence on starch purification. Cereal Chemistry 32, 165-82.
Yang P, Seib PA. 1995. Low-input wet-milling of grain sorghum for readily accessible starch and animal feed. Cereal Chem 72, 498–503.

AGRADECIMIENTOS
Financiado por el Proyecto PICT 1282 de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYPT).



Estudio del perfil térmico del agua caliente durante el consumo del mate

Alegre A.C.[(1)], Lovera N.N.[(1,2)], Capellari S.N.[(1)], Hedmann J.C.[(1)], Schmalko M.E.[(1,2)]

(1) Universidad Nacional de Misiones, F. de Azara 1552, Posadas, Argentina.
(2) IMAM (CONICET) – UNaM, F. de Azara 1552, Posadas, Argentina.
alegrecarolinaa@gmail.com

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue medir la temperatura con la que el agua llega a la boca bajo diferentes condiciones de consumo del mate caliente. El trabajo consistió en medir la temperatura del agua del extracto durante la "mateada" de consumidores habituales y durante la "simulación de la mateada". Las variables y niveles considerados para los ensayos con los sensores fueron la temperatura del agua (°C) (70, 80, 90), cantidad de yerba (g) (30, 40, 50), frecuencia de cebada (min) (0,5, 1, 2) y material del mate (calabaza, madera, metal, porcelana, vidrio).

Se encontró que los parámetros cantidad de yerba, temperatura del agua y frecuencia de cebada influyen significativamente sobre la temperatura alcanzada por el pico de la bombilla. No se encontró diferencia significativa entre la media de la temperatura máxima alcanzada en el pico de la bombilla para los diferentes materiales de mate. En todos los casos estudiados, la temperatura máxima alcanzada en el pico de la bombilla no superó los 60°C (variando entre 42°C y 60°C); mientras que la temperatura media varió entre 55°C y 37°C.

Palabras Clave: Mate caliente, perfil térmico, temperatura del agua.

ABSTRACT

The objective of the work was to measure the temperature at which water reaches the mouth under different conditions of consumption of hot mate. The work consisted of measuring the water temperature of the extract during the "mateada" of ordinary consumers and during the "mateada simulated". The variables and levels considered for testing the sensors were water temperature (°C) (70, 80, 90), amount of yerba (g) (30, 40, 50), frequency of pouring the water (min) (0, 5, 1, 2) and material of the mate (gourd, wood, metal, porcelain, glass).

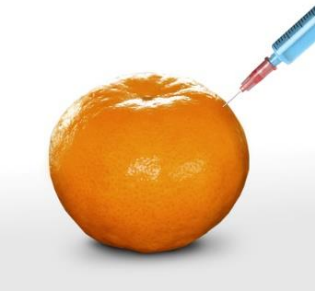
It was found that the parameters amount of yerba, water temperature and frequency of pouring the water significantly influence the temperature reached by the peak of the bulb. No significant difference was found between the mean of the highest temperature reached at the peak of the bulb for the different materials of mate. In all the cases studied, the highest temperature reached at the peak of the bulb did not exceed 60°C (varying between 42°C and 60°C); while the average temperature varied between 55°C and 37°C.

Keywords: Hot Mate, thermal profile, water temperature.

INTRODUCCIÓN

La yerba mate (Ilex paraguariensis Saint Hilaire) es una planta de la región central del MERCOSUR (Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay). De sus hojas y ramas se elabora una bebida muy consumida en esa región, el mate. En Argentina, Paraguay, Uruguay y la región sur del Brasil, el consumo anual por habitante es de 6-8 kg de yerba mate. Las formas tradicionales de consumo son el mate caliente, el mate frío o tereré y en saquitos. De estas tres formas de consumo el mate caliente es el que tiene el consumo más frecuente.

El consumo de alimentos y bebidas calientes siempre tuvo cuestionamientos por parte de la IARC (Agencia



Internacional para la Investigación del Cáncer) debido a que se consideran potencialmente riesgosas para el desarrollo de cáncer, principalmente de esófago.

Entre las bebidas calientes estuvieron cuestionados el café, el té y el mate caliente. Las mismas estuvieron clasificadas en el Grupo 2 A de la IARC descriptas como "Probablemente carcinogénicas para los humanos". Para el mate caliente, esta conclusión fue alcanzada en el año 1991.

En el año 2016, se realiza una nueva revisión sobre el consumo de café y mate caliente (Monograph 116 de la IARC). En la misma, luego de una revisión de los artículos publicados existentes, se llega a la conclusión de que estas bebidas pueden ser potencialmente cancerígenas si son consumidas a una temperatura por encima de 65ºC (por ej. el mate muy caliente) fueron clasificadas en el Grupo 2ª "probablemente carcinogénicas a los humanos". Mientras que el mate no muy caliente fue clasificado como "no carcinogénico a los humanos (Grupo 3).

Se realizaron varios estudios sobre la temperatura a las que se consumen el café y el té. Borchgrevink et al., (1999) y Brown y Diller, (2008) llevaron a cabo estudios referentes a las temperaturas de consumo de café y las preferencias de los consumidores y encontraron que los consumidores en general, prefieren las temperaturas relativamente elevadas (62,8 a 68,3ºC). En té Wu et al. (2009), Islami et al.(2008, 2009) señalaron que las temperaturas de consumo fueron superiores 65ºC, clasificándose en tres grupos: warm (< 65ºC), hot (65-69ºC) and very hot (>= 70ºC). En los dos casos (café y té) la bebida se servía en tazas y se medía la temperatura de la infusión en la taza.

La temperatura a la que se calienta el agua para ser utilizada en el mate, varía entre 65 y 95ºC (Pagliosa et al., 2009; Santa Cruz et al.,2009). Pero la forma particular de consumo que tiene el mate caliente, hace que la temperatura a la cual se ingiere esta infusión sea mucho menor. La yerba mate se prepara en recipientes que varían entre 100 y 300 cm^3. En ese recipiente se introduce una cantidad de yerba mate que varía entre 20 y 100 g. El agua caliente es vertida sobre el material sólido, yerba mate, (unos 30 ml) y es succionada con algo similar a una pajita con un filtro en el extremo que se introduce en el material sólido (**Fig.1**) denominada "bombilla". Este procedimiento se repite varias veces hasta completar 1 l de agua aproximadamente (Heck y De Mejía, 2007).

El material sólido se encuentra a temperatura ambiente, entonces se tiene una disminución de la temperatura del agua por el efecto de la mezcla. Al elevarse la temperatura de la mezcla sólido-agua, se tienen pérdidas de calor a través del recipiente. También al succionarse, se tiene una gran pérdida de calor a través de la bombilla, que generalmente es metálica. Esto hace que la temperatura a la que se succiona la infusión, sea mucho menor que la que tenía el agua al verterse sobre el sólido.

La forma habitual de consumo de esta bebida es muy variable, ya que se utilizan recipientes de diferentes materiales (madera, calabaza, cerámica, vidrio y metal), cantidades diferentes de yerba mate (entre 20 y 100 g), diferentes tipos de bombilla (generalmente de metal) y diferentes temperaturas del agua (entre 65 y 95ºC).

Es de esperar que todas estas variables, como también la periodicidad del consumo, influyan en la temperatura en que el agua se introduce a la boca. No se encontraron trabajos publicados en los cuales se mida la temperatura real con la que se introduce la infusión a la boca durante el consumo del mate.

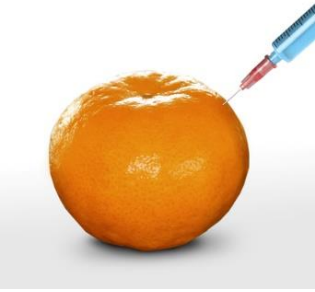
El objetivo de este proyecto fue medir la temperatura con la que llega el agua a la boca bajo diferentes condiciones de consumo, teniendo en cuenta la temperatura a la que se calienta el agua, el material del mate, la cantidad de yerba y frecuencia de cebada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mediciones con sensores de temperatura

-Adquisición de datos

Con la finalidad de medir la temperatura del agua del extracto durante el consumo de mate en consumidores habituales se utilizaron sensores de temperatura y adquisidores de datos. Los sensores fueron instalados en tres



puntos de las bombillas de acero inoxidable, de tal manera de medir la temperatura en la yerba dentro del recipiente (Sensor 1 de la **Fig.1**), la entrada de la bombilla o filtro (Sensor 2) y la salida de la bombilla (Sensor 3). Se utilizaron termómetros digitales con una precisión de +/- 0,5°C y un rango de temperatura de trabajo de -55 a 125°C.

Un programa (software) escrito en lenguaje Java fue desarrollado para la adquisición de datos de temperatura cada 2 segundos. El software contó con una interface amigable en la cual el consumidor puede seleccionar digitalmente su preferencia acerca de la temperatura del extracto. Dos computadoras tipo Tablet de 10'' con sistema operativo Windows 8.1 fueron utilizados.

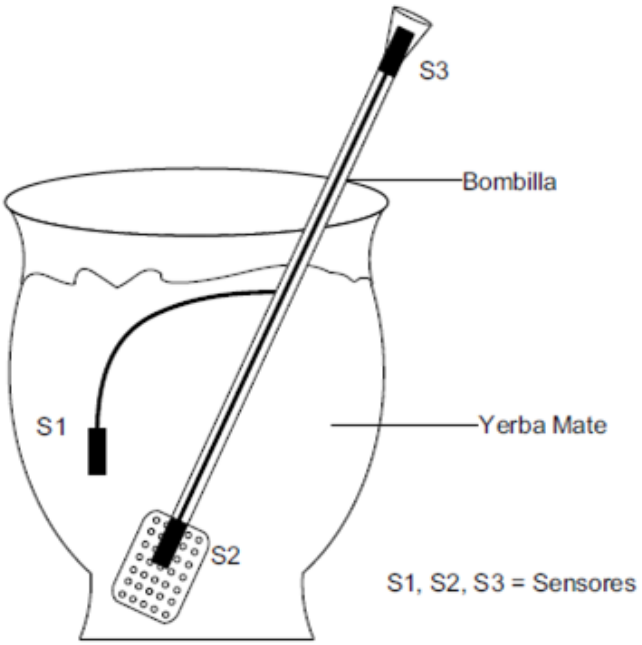


Figura 1. Equipo de medición de la temperatura de consumo del mate.

-Metodología de trabajo

En cada experiencia los evaluadores debieron realizar el siguiente procedimiento:

•Añadir 100 ml de agua.
•Succionar el extracto de forma habitual.
•Esperar un minuto.
•Repetir la operación tres veces.
•Repetir el procedimiento por cada muestra.
•Marcar su percepción respecto a la temperatura del extracto para cada muestra.

-Estudio de la influencia de la cantidad de yerba mate y la temperatura del agua

Para estudiar la influencia de la cantidad de yerba y la temperatura del agua, a cada evaluador se le presentó 3 recipientes de porcelana con diferentes cantidades de yerba mate (30, 40 y 50 g) y agua a una sola temperatura. Se realizaron tres pruebas a temperaturas diferentes: 70, 80 y 90ºC.

-Influencia del material del mate

A cada evaluador se le entregó cinco mates de distintos materiales (porcelana, metal, madera vidrio y calabaza) con 40g de yerba y agua de una temperatura de 80ºC.

-Influencia de la frecuencia de cebada

Los evaluadores fueron provistos de tres mates de porcelana con 40g de yerba, un termo con agua a 80°C. Se utilizaron 3 frecuencias de cebada, con intervalos de 0,5, 1 y 2 min.

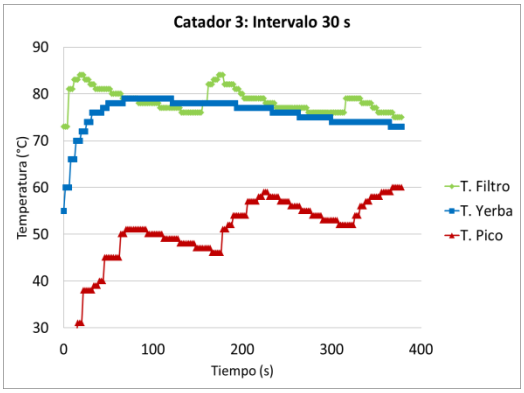
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las mediciones con los sensores se obtuvieron curvas de temperatura en función del tiempo mediante los datos registrados por la bombilla sensor. En cada ensayo se solicitó al evaluador que realizara 3(tres) cebadas con un intervalo de tiempo definido. Con el fin de observar el comportamiento durante la mateada, en la **Figura 2** se presentan alguna de ellas.

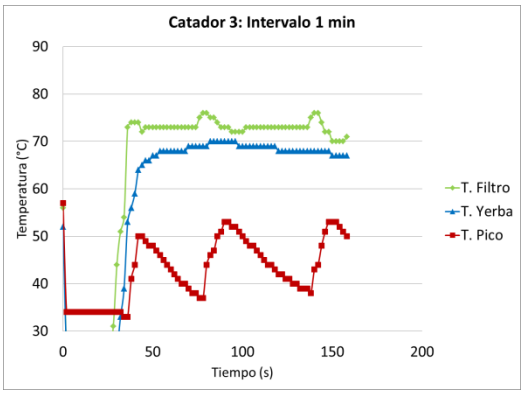
Se puede observar que la temperatura del sensor que se ubica en la yerba mate (curva superior) y la del sensor localizado en el filtro siguen un mismo perfil con valores similares; mientras que la del sensor localizado en el pico tiene un perfil muy diferente y es menor en más de 15°C respecto a las anteriores. Este último perfil de temperatura tiene elevaciones rápidas de temperatura cuando se realiza la succión y luego un lento descenso; repitiéndose en las dos succiones posteriores.

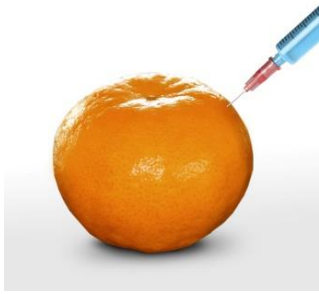
Analizándose los valores de temperatura máxima alcanzada en el sensor del pico en todas las experiencias, se encontró un rango que variaba entre 38°C y 58°C (en ningún caso superó este valor); mientras que la temperatura promedio de todas las experiencias en el sensor del pico durante el consumo variaron entre 37°C y 55°C.

a



b





c

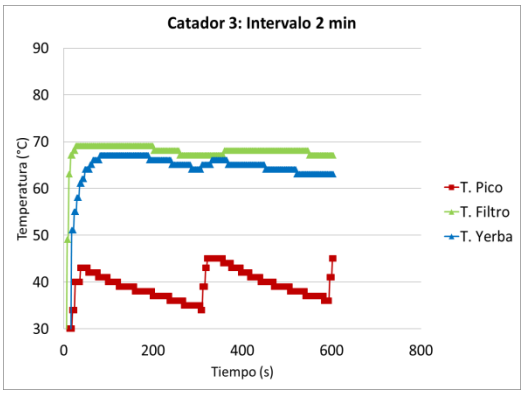


Figura 2. Perfil térmico de los tres sensores (°C), localizados en la yerba mate (a 1 cm de la bombilla), en el filtro y en el pico de la bombilla, para tres intervalos de cebada: a= 0.5 min; b= 1 min y c= 2 min.

-Influencia de la cantidad de yerba

Se realizaron ensayos con 9 catadores con 30, 40 y 50 g de sólido en el recipiente. Se utilizó un mate de porcelana, una temperatura de 80ºC y una frecuencia de cebada de un mate cada 1 min.

En las experiencias realizadas no se encontraron diferencias significativas, para un nivel de confianza del 95,0%, entre las temperaturas máximas en el pico para las tres cantidades de yerba utilizadas. Las temperaturas máximas del pico variaron entre 50 y 56 ºC. Un resultado similar se encontró cuando se comparó la temperatura media del pico durante el proceso de consumo. Las temperaturas medias del pico variaron entre 45 y 50ºC.

-Influencia del material del mate

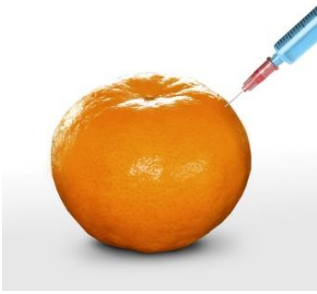
Se realizaron ensayos con 9 catadores, utilizando cinco materiales diferentes (calabaza, madera, metal, porcelana y vidrio) con 50 g de yerba mate, agua a la temperatura de 80ºC y una frecuencia de cebada de un mate cada 1 min. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las temperaturas máximas utilizando diferentes materiales. Las mismas variaron entre 49 y 56ºC. Un resultado similar se encontró cuando se comparó la temperatura media del pico durante el proceso de consumo. Las temperaturas medias del pico variaron entre 45 y 50 ºC.

-Influencia de la temperatura del agua y cantidad de sólido

Se realizaron ensayos con 9 catadores para estudiar en forma conjunta la temperatura del agua (70, 80, y 90ºC) y la cantidad de sólido utilizada (30, 40 y 50 g). Al realizar un análisis de varianza considerando tanto la temperatura máxima alcanzada como la temperatura promedio en el pico se encontró que ambos factores (temperatura del agua y cantidad de sólido) influyeron sobre las mismas ($P<0.05$). En la **Figura 3** se puede observar la influencia de la temperatura del agua tanto sobre la temperatura máxima como la temperatura media. Como era de esperar, la temperatura en el pico aumenta al aumentar la temperatura del agua, pero se encuentra muy poca dispersión entre los catadores para cada nivel de temperatura (menores ± 1ºC tanto para la temperatura máxima como para la temperatura media). Los valores de temperatura media durante el consumo no tuvieron variaciones importantes y fueron similares a los de máxima temperatura (menores ± 1ºC).

La variación de la temperatura de pico en los diferentes niveles de los factores temperatura del agua y cantidad de sólido, variaron entre 48 y 57ºC. Para la temperatura media en el pico durante el consumo, esta variación tuvo un rango de 43 a 50ºC (**Figuras 3** y **4**).

Se determinó mediante un análisis de varianza multifactorial si los factores cantidad de yerba y temperatura del agua tienen un efecto significativo sobre la temperatura máxima alcanzada y la temperatura promedio en el pico



de la bombilla. Se encontró que ambas variables tienen un efecto estadísticamente significativo, sobre la temperatura máxima de la bombilla. Los gráficos de valores medios de las variables temperatura del agua y cantidad de yerba muestran que la mayor diferencia se encuentra para la temperatura de 70°C y los 30 g de yerba.

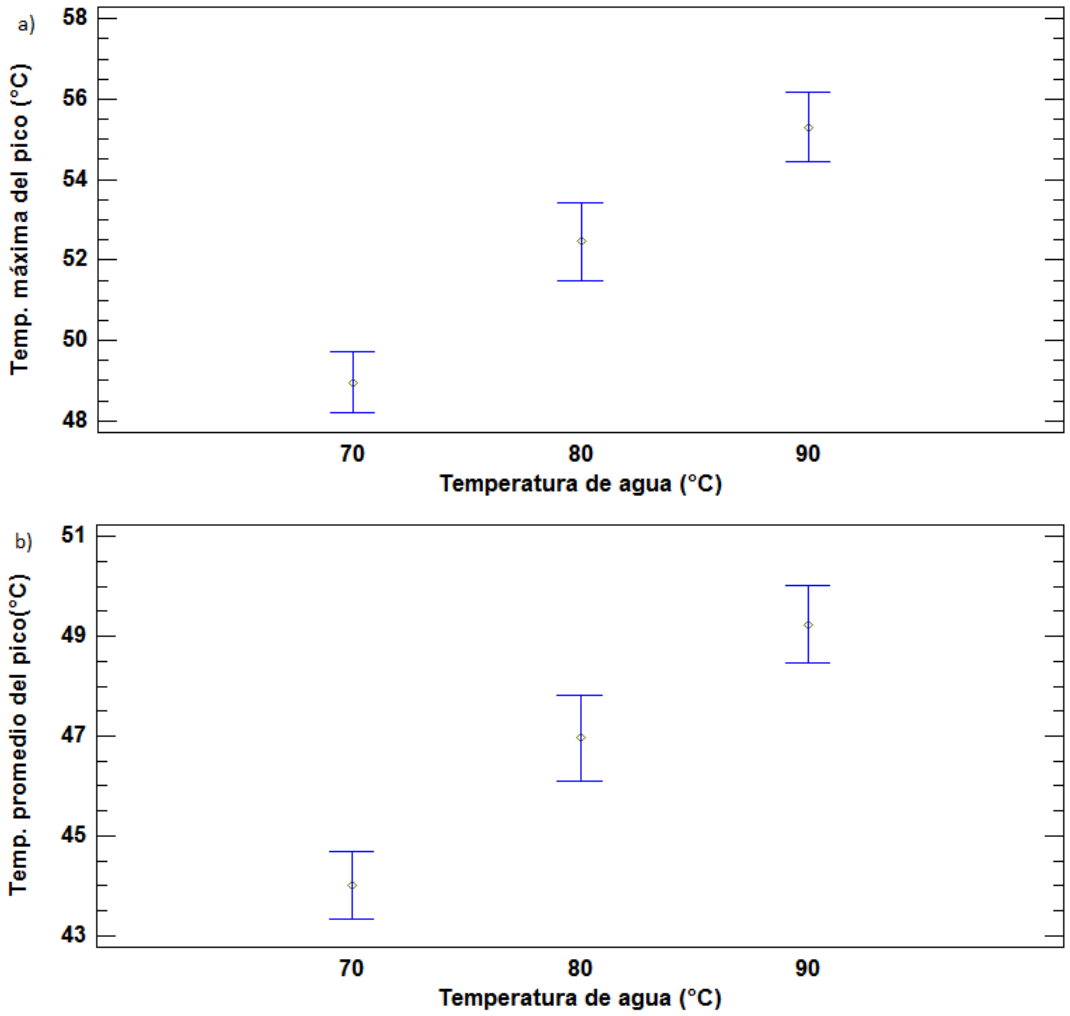
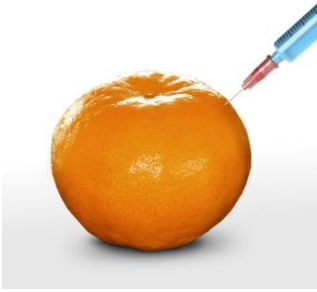


Figura 3. Valores medios y límites de confianza al 95% de la temperatura máxima (a) y la temperatura promedio (b) en el pico de la bombilla utilizando diferentes temperaturas de agua (°C) (Cantidades de yerba mate: 30, 40 y 50 g; mate de porcelana y frecuencia de cebada 1/min).



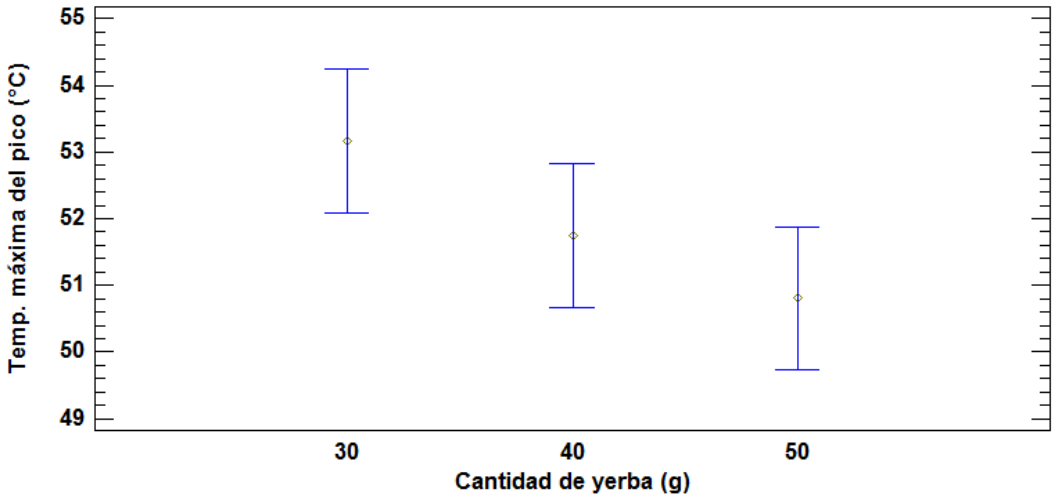
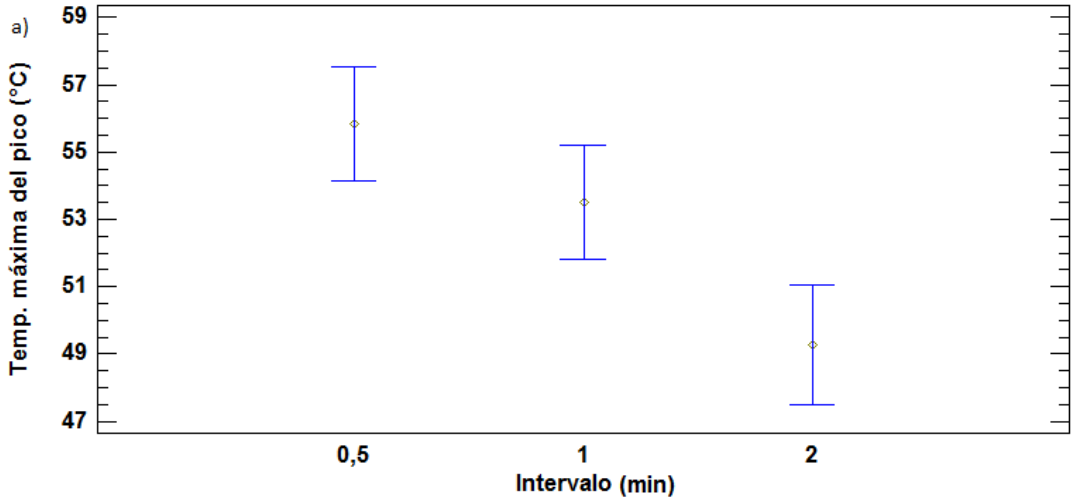
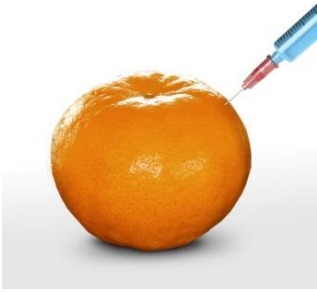


Figura 4. Valores medios y límites de confianza al 95% de la temperatura máxima en el pico de la bombilla utilizando diferentes cantidades de yerba mate (g) (temperatura del agua de 70, 80 y 90°C; mate de porcelana y frecuencia de cebada 1/min)

-Influencia de la frecuencia de cebada

Se realizaron ensayos con 9 catadores con intervalos de vertido de agua de 0,5min, 1 min, y 2 min. Se encontró que la frecuencia de cebada tiene un efecto estadísticamente significativo tanto sobre la temperatura máxima como la temperatura promedio en el pico de la bombilla (**Figura 5**). Como era de esperar, las temperaturas máximas alcanzadas fueron mayores con la mayor frecuencia de cebada (entre 54 y 58ºC); mientras que para el intervalo de 1 min, las temperaturas variaron entre 52 y 56ºC y para el intervalo de 2 min, entre 47 y 51ºC. Las temperaturas medias durante el consumo resultaron similares entre los intervalos de 0,5 min y 1 min (entre 46,5 y 48,5ºC) y fueron superiores al intervalo de 2 min (entre 44 y 46ºC).





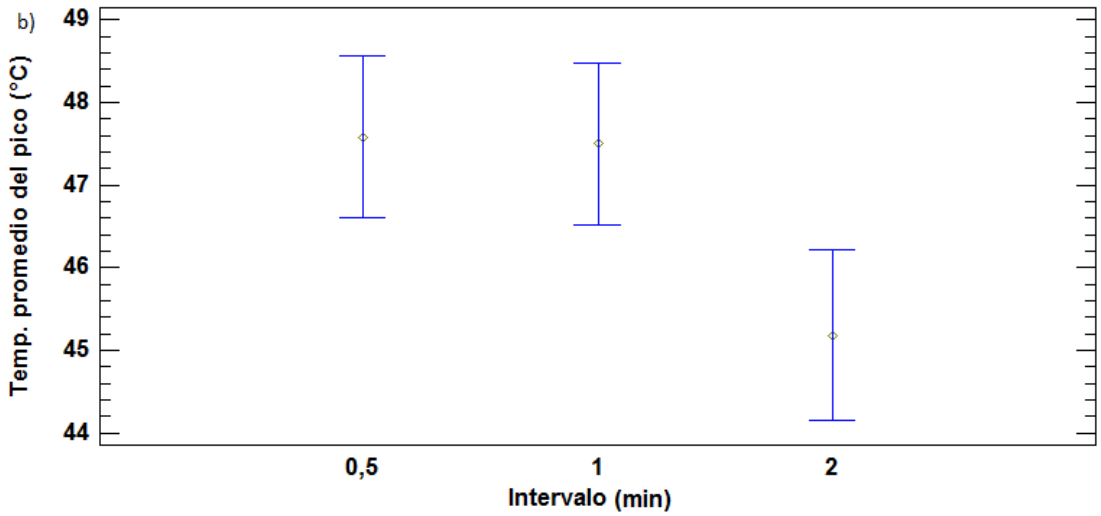


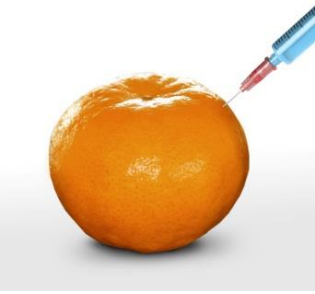
Figura 5. Valores medios y límites de confianza al 95% de la temperatura máxima (a) y la temperatura promedio (b) en el pico de la bombilla utilizando diferentes frecuencias de cebada, min (temperatura del agua: 80°C; cantidad de yerba mate: 40 g y mate de porcelana)

CONCLUSIONES

Al realizar el consumo midiendo la temperatura con tres sensores diferentes localizados en la yerba mate, en el filtro y el pico de la bombilla, se encontró que entre las temperaturas del pico y la yerba, y la del filtro y la yerba las diferencias fueron de alrededor de 10°C; mientras que la diferencia entre el filtro y el pico fue de aproximadamente 20°C.

En todos los casos estudiados, la temperatura máxima alcanzada en el pico de la bombilla no superó los 60°C. Las mismas variaron entre 42°C y 60°C. Las temperaturas medias del agua consumida variaron entre 37°C y 55°C.

Al estudiar la influencia de los diferentes parámetros en la temperatura del pico de la bombilla, se encontró que los parámetros cantidad de yerba, temperatura del agua y frecuencia de cebada influyen significativamente sobre la temperatura alcanzada por el pico de la bombilla, ya sea la máxima o la temperatura promedio de consumo. No se encontraron diferencias significativas entre la media de la temperatura máxima alcanzada en el pico de la bombilla entre un material y otro.



BIBLIOGRAFÍA

Bastos, D. H. M.; Fornari, A. C.; Queiroz, Y. S. y Torres, E. A. F. S. 2006 Bioactive compounds content of Chimarrao infusions related to the moisture of Yerba Mate (Ilex paraguariensis) leaves. Brazilian Archives of Biology and Technology 49, p. 399–404.

Borchgrevink, C.P.; Susskind, A.M.; Tarras, J.M. 1999 Consumers preferred hot beverages temperatures. Food Quality and Preference 10 : 117-121.

Bravo, L.; Goya, L. y Lecumberri, E. 2007 LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (Ilex paraguariensis, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. Food Research International 40, p. 393–405.

Brown, F.; Diller, K.R. 2008 Calculating the optimum temperature for serving hot beverages. Burns 34 648-654.

Calviño, A.M.; Tamasi, O.P.; Ciappini, M.C. 2005 Caffeine Content and Dynamical Bitterness of Yerba Mate Ilex paraguariensis Infusions. Food Sci Tech Int; 11(6):401–407.

Hartwig, V.G.; Schmalko, M.E.; Alzamora, S.M. y Brumovsky, L.A. 2013. Optimization of the extraction of antioxidants and caffeine from maté (Ilex paraguariensis) leaves by response surface methodology. International Journal of Food Studies Vol 2. P.69-80 (ISSN: 2182-1054)

Heck, C.I. and De Mejía, E.G. 2007 Yerba mate tea (Ilex paraguariensis): A comprehensive review on Chemistry Health IMplications, and technological considerations. Journal of Fd Sci 72, Nº 9, R138-151.

Holowaty, S.A.; Trela, V.; Thea, A.E.; Scipioni, G.P.; Schmalko, M.E. Yerba maté (Ilex paraguariensis St. Hil): Chemical and Physical changes under different aging conditions. Journal of Food Process Engineering. Vol 39, 1, Pp. 19-30 (2016).

Islami, F; Pourshams, A.; Dariush Nasrollahzadeh, D.; Kamangar, F.; Fahimi, S.; Shakeri, R.;Abedi-Ardekani, B.; Merat, S.; Vahedi, H.; Shahryar Semnani, S.; Abnet, C.; Brennan, P.; Møller,H.; Farrokh Saidi,F.; Dawsey, S.M. and Malekzadeh, R. 2008 Tea drinking habits and oesophageal cancer in a high risk area in northern Iran: population based case-control study. BMJ | ONLINE FIRST | bmj.com 1-8

Islami, F.; Boffetta, P.; Ren, J.S.; Pedoeim, L.; Khatib, D. and Kamangar, F. 2009 High- temperature beverages and foods and Esophageal cancer risk- A systematic review. Int J Cancer. August 1; 125(3): 491–524. doi:10.1002/ijc.24445

Pagliosa, C.M.; Pereira, S.M.; Vieira, M.A.; Costa, L.A.; Teixeira, E.; Amboni, R.D. de M.C. and Amante, E.R. 2009 Bitterness in Yerba Mate (Ilex paraguariensis) leaves. Journal of Sensory Studies 24 (3) , Pp. 415-426. .

Peralta, J.M.; Schmalko, M.E. 2007 Modeling Heat and Mass Transfer in the Heat Treatment Step of Yerba Maté Processing. Brazilian Journal of Chemical Engineering 24 (1): 73-82.

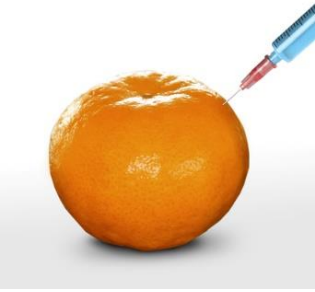
Ramallo, L.A.; Smorczewski, M.; Valdez, E.C.; Paredes A.M. y Schmalko, M.E. 1998 Contenido nutricional del extracto acuoso de la yerba mate en tres formas diferentes de consumo. La Alimentación Latinoamericana 225. Pags 48-52.

Santa Cruz, M.J.; Gartta, L and Hough, G. 2002 Sensory Descriptive Analysis of Yerba Mate (Ilex paraguariensis Saint Hilaire), a South American Beverage. Food Science and Technology International 8 (1) pp. 25-31

Schmalko, M.E.; J. M. Peralta, J.M.; Alzamora, S.M. 2007 Modeling the Drying of a Deep-bed of Ilex paraguariensis in an Industrial Belt Conveyor Dryer. Revista Drying Technology 25, pp. 1967-1975,.

Wu, M.; Liu, M.; Kampman, E.; Zhang, Z.F.; Van't Veer, P.; Wu, D.L., Wang, P.H.; Yang, J.;

Qin, Y.; Mu, L.N.; Kok, F.J. and Zhao, J.K. 2009 Green tea drinking, high tea temperature and esophageal cancer in high- and low-risk areas of Jiangsu Province, China: A population-based case–control study. Int. J. Cancer: 124, 1907–1913



Modelado del calentamiento y pasteurización de productos líquidos en tanques con y sin agitación asistidos por microondas

Arballo J. R. [1,2], Lespinard A. R. [3], Campañone L.A. [1,2], Mascheroni R.H. [1,2]

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), CONICET La Plata - Universidad Nacional de La Plata, 47 y 116, (B1900AJJ), La Plata, Argentina
(2) Departamento Ingeniería Química – Facultad de Ingeniería, UNLP, La Plata, Argentina.
(3) Centro de Investigación y Transferencia Villa María (CIT VM), CONICET Córdoba, Universidad Nacional de Villa María, Av. Arturo Jauretche 1555, (5900), Villa María, Argentina.
lacampa@ing.unlp.edu.ar

RESUMEN

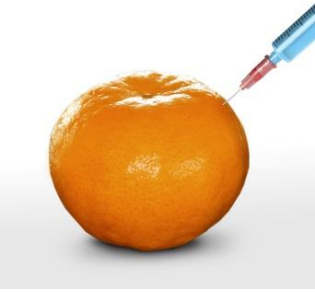
Una de las tecnologías más empleadas para el calentamiento de alimentos es la de microondas. Se aplica a nivel doméstico pero tiene dificultades en diseños industriales, como la no uniformidad en la distribución de las temperaturas. Esto se origina por una distribución no homogénea de los campos electromagnéticos, dependiendo de las propiedades dieléctricas del material y de la geometría del sistema. La pasteurización por calor es uno de los procesos más utilizados para extender el período de aptitud de alimentos y hacerlos más seguros para el consumo. Este proceso asistido por microondas es una alternativa tecnológica que provoca, en estos atributos, un daño menor que los tratamientos térmicos tradicionales, presentando ventajas como reducción de impacto ambiental, ahorro de energía, ahorro de espacio y disminución de los tiempos de proceso. Sin embargo, este tratamiento requiere alcanzar un valor de temperatura mínima en todo el volumen, para asegurar la letalidad de ciertos microorganismos y a su vez, no excederse de un valor máximo para minimizar la pérdida de nutrientes. En base a lo anterior se analizó el calentamiento de un producto líquido dentro de un tanque (reactor) mediante microondas con y sin agitación mecánica. Se desarrolló un modelo matemático del balance microscópico de energía considerando un término fuente para integrar la interacción con la energía de las microondas. La distribución electromagnética se obtuvo de las ecuaciones de Maxwell tanto para el producto como para la cavidad. En el tanque agitado, al balance de energía se acopló el balance microscópico de cantidad de movimiento, para resolver la distribución de velocidades dentro del mismo. Los balances acoplados fueron resueltos empleando el método de elementos finitos con el software COMSOL Multiphysics; obteniendo los perfiles de velocidades, campo eléctrico y temperatura.

Las simulaciones numéricas permitieron analizar el efecto de la agitación en este tipo de sistemas. De esta manera se evaluó el efecto de velocidad de agitación en los perfiles de temperatura desarrollados en la muestra como resultado del calentamiento con microondas. Como conclusión general del estudio realizado, el empleo de agitación resulta de vital importancia para mejorar la uniformidad en los perfiles de temperatura con el propósito de asegurar la inocuidad del producto final.

Palabras Clave: Microondas, Tanque Agitado, Líquidos, Pasteurización, Elementos Finitos.

ABSTRACT

Microwaves technology is one of the most used for food heating. It is household applied, but presents industrial troubles due to the non-uniform temperature distribution. This phenomenon can be attributed to the non-homogeneity in the electromagnetic field distribution, depending on dielectric properties of the material and system geometry. Heat pasteurization is the most used process to extend the shelf life of the foods and to become safe for human consume. The process assisted by microwaves constitutes a technological alternative that



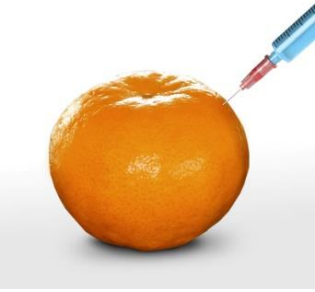
provokes a lower damage compared with traditional thermal treatments showing some advantages: environmental impact decreases, energy and space savings and lower process times. However, this treatment needs to reach a minimum temperature value in the whole volume to secure the deadliness of several microorganisms and not exceed a maximum value to minimize nutrient loss. This work deals with the mathematical analysis of microwaves heating of a liquid food in a stirred and unstirred tank. A mathematical model was developed, microwaves energy was considered as a source in the microscopic heat balance. Maxwell equations were solved to obtain the electromagnetic field distribution. Coupled energy and momentum microscopic balances were solved to know velocity distribution due to the impeller movement in stirred tank. The balances were solved through Finite Elements Method using COMSOL Multiphysics software; obtaining velocity electromagnetic and temperature profiles.
Numerical simulations allow analyzing the stirring effect in the reactor-cavity microwave system. Thus, the effect of stirring velocity in the temperatures profiles was evaluated. As general conclusion of this work the use of stirring is vital to improve the uniformity in temperatures profiles in order to ensure the safety of the final product.

Keywords: Microwaves, Stirred tank, Liquid, Pasteurization, Finite Elements.

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de procesamiento térmico tradicionales son típicamente de calentamiento superficial, donde el calor se transfiere al resto del material que se procesa a partir de una superficie calentada por mecanismo conductivo en sólidos, y por conducción y convección en líquidos. Tales técnicas requieren el empleo de superficies calientes, lo cual puede resultar en un daño térmico del producto si se busca un aumento de las tasas de procesamiento. Así pues, cuando se utilizan estas técnicas, las velocidades de calentamiento pueden ser limitadas por este potencial daño en la superficie. El calentamiento volumétrico (o calentamiento de todo el cuerpo) es un término tecnológico que describe el calentamiento producido a través de todo el volumen de un material. Esta característica puede resultar en significativos beneficios en el proceso y de la calidad final cuando se aplica a la elaboración de alimentos.

Las técnicas de calentamiento volumétrico son el resultado del uso de los campos electromagnéticos a frecuencias operativas situadas en diversas posiciones del espectro; los mecanismos por los que se genera calor en el producto varían con la frecuencia de funcionamiento del campo eléctrico: en las frecuencias bajas (50 y 60 Hz) y frecuencias de radio (0.1 a 100 MHz) los efectos se deben principalmente a calentamiento resistivo causado por el movimiento de los iones / electrones en el campo eléctrico. A frecuencias más altas, por ejemplo, calentamiento por microondas (0.1 a 100 GHz) la rotación molecular dipolar es el mecanismo principal de calentamiento, mientras que a altas frecuencias fijas (por ejemplo, de infrarrojos) el mecanismo dominante es uno de la vibración molecular (Maloney and Harrison, 2016).
Dentro de técnicas mencionadas, son muy empleadas las microondas. Su uso principal radica en las mejoras en la eficiencia debido a la reducción los tiempos de procesamiento. El calentamiento es aplicable a materiales llamados dieléctricos con capacidad de interactuar con la radiación. La presencia de sales disueltas y la naturaleza dipolar de las moléculas de agua son de suma importancia para el calentamiento dieléctrico. La presencia de agua en la mayoría de los productos alimenticios les permite ser calentados fácilmente en un campo electromagnético (Datta and Anantheswaran, 2005; Arballo et al., 2010; Campañone et al., 2012).
A nivel doméstico, el uso de esta tecnología es de alta demanda, pero la necesidad industrial implica un tratamiento a mayor escala. Como una manera de calentamiento no tradicional, la irradiación de microondas (MWI) ha sido utilizada desde 1970. Con más de 30 años de desarrollo, los investigadores han logrado un buen rendimiento del tratamiento con MWI que se ha aplicado gradualmente de escala de laboratorio a escala piloto.



Desde el punto de vista de la química, los reactores se emplean típicamente en el laboratorio para investigar la viabilidad de fabricación de productos químicos. Entre las ventajas del usos de los reactores por lotes se puede citar la flexibilidad de los procesos de múltiples productos, y relativamente de bajo costo de equipos y mantenimiento (Dimian et al., 2014).

La simulación de procesos es una herramienta muy útil para estudiar los fenómenos puestos en juego dentro de estos equipos. En el modelado de la transferencia de calor durante el calentamiento con microondas se debe considerar de forma especial la interacción de la energía electromagnética con el producto. El comportamiento de los campos eléctrico y magnético dentro del reactor asistido por microondas es muy complejo. Las ecuaciones de Maxwell describen su distribución en el interior de los mismos, vacíos o cargados (Clemens and Saltiel, 1996; Verboven et al., 2003; Dinčov et al., 2004). Con el fin de modelar matemáticamente el proceso de calentamiento por microondas es necesario plantear y resolver el balance microscópico de energía, el cual junto con las condiciones de contorno, conforman un sistema de ecuaciones diferenciales no lineales. Para la resolución matemática de la transferencia de calor en estado transitorio existen diferentes métodos numéricos, los cuales presentan ciertas ventajas y desventajas, dependiendo de las características del problema en estudio. Los métodos más usados son diferencias finitas (MDF) y elementos finitos (MEF). Aunque ambos métodos pueden ser utilizados para la discretización espacial y temporal, el MEF presenta las siguientes ventajas frente al MDF: se aplica a geometrías irregulares, se adapta fácilmente a condiciones de contorno en mallas deformables, se pueden analizar alimentos no homogéneos y sin isotropía y además es generalmente más exacto (Puri and Anantheswaran, 1993). Con el fin de facilitar la implementación del MEF han sido desarrollados ciertos programas comerciales, tales como COMSOL Multiphysics. Estos programas comerciales presentan las ventajas de disponer de módulos preconfigurados que permiten un rápido planteo y resolución de las simulaciones; sin embargo no se adaptan fácilmente a condiciones particulares de procesamiento.

En este trabajo se empleó el software COMSOL Multiphysics para analizar el calentamiento de productos líquidos dentro de reactores (tanques). Para dicho análisis se emplearon los paquetes ondas electromagnéticas y transferencia de calor en líquidos para obtener los perfiles de campo eléctrico y temperatura, respectivamente. En el caso de tanques agitados con paletas se adicionó el módulo de flujo laminar para incorporar los perfiles de velocidades. El objetivo del presente trabajo fue evaluar a partir de las simulaciones numéricas el efecto de la velocidad de agitación en los perfiles de temperatura desarrollados en el interior de la muestra, para obtener un producto final inocuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Modelado matemático

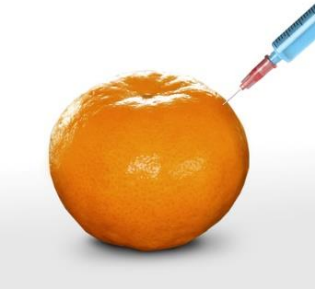
Un esquema de los dominios de simulación 3D se muestra en la **Fig. 1**. En el planteo del modelo completo se realizaron las siguientes consideraciones para cada uno de los mecanismos físicos estudiados:

Modelo para el Campo Electromagnético

- La absorción de la energía electromagnética por parte del aire se consideró despreciable.
- Las paredes del horno son consideradas conductores perfectos.
- El ingreso de la radiación ocurre a una frecuencia 2450 MHz en una guía de onda rectangular trabajando en un modo TE_{10}.

Esta formulación considera la distribución de energía tanto en el horno como dentro del producto a través de la resolución de las ecuaciones de Maxwell:

$$\nabla \times \mu_r^{-1}(\nabla \times E) - k_o^2 \varepsilon_{rc} E = 0 \qquad (1)$$



siendo

$$\varepsilon_{rc} = \varepsilon' - j\varepsilon'' \tag{2}$$

donde ε_{rc} es la permitividad dieléctrica compleja, μ_r es la permeabilidad magnética, ε' es la constante dieléctrica, ε'' es el factor de pérdida dieléctrica y k_o, es la constante de propagación definida como:

$$k_o = \alpha + i\beta \tag{3}$$

$$\alpha = \frac{2\pi f}{c}\sqrt{\frac{\varepsilon'(\sqrt{(1+\tan^2\delta)}+1)}{2}} \tag{4}$$

$$\beta = \frac{2\pi f}{c}\sqrt{\frac{\varepsilon'(\sqrt{(1+\tan^2\delta)}-1)}{2}} \tag{5}$$

$$\tan\delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \tag{6}$$

donde β es el factor de atenuación, f es la frecuencia de la radiación y c es la velocidad de la luz.

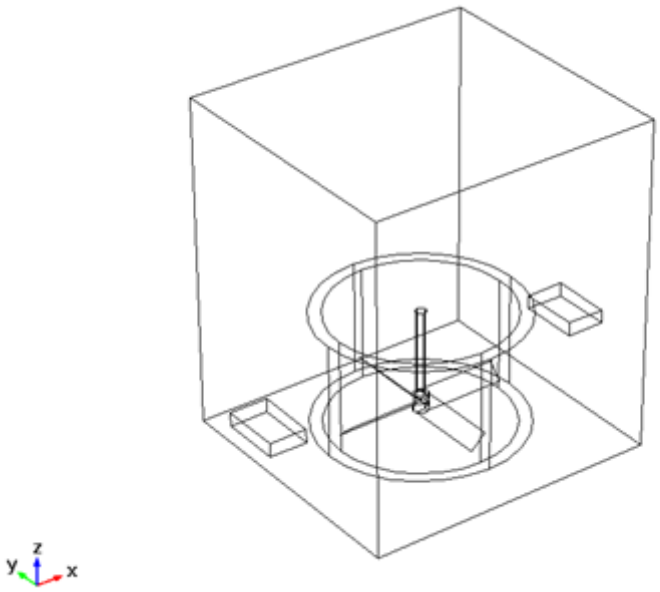


Figura 1. Geometría 3D del equipo de microondas incluyendo el reactor.

La Ec. (1) se resolvió considerando diferentes condiciones de contorno. Para las paredes metálicas del horno y de la guía de onda se empleó la condición de conductor eléctrico perfecto:

$$n \times E = 0 \tag{7}$$

La fuente de energía electromagnética se incorporó a través de condición de contorno de la guía de onda representando al puerto de entrada de las microondas. Este puerto rectangular es excitado por medio de una onda eléctrica transversal. Considerando la frecuencia de operación del horno de microondas (2.45 GHz), el modo TE_{10} se consideró como único modo de propagación a través de la guía de onda rectangular.
Para las interfaces aire-alimento se consideraron condiciones de continuidad.
Por consiguiente, en este modelo la potencia absorbida por unidad de volumen, *Q*, debido a la interacción de las microondas con el alimento se expresa como:

$$Q(x,y,z,t) = \frac{1}{2}\omega\varepsilon_0\varepsilon''\left|E\right|^2 \tag{8}$$

donde *E* es la intensidad del campo eléctrico.

Modelo para la Transferencia de Calor
- Temperatura y contenido de agua inicial uniformes dentro del producto,
- Propiedades térmicas, dieléctricas, y de transporte dependientes de la temperatura,
- Tamaño constante (sin cambios de volumen),
- Condiciones de contorno convectivas.

El calentamiento del alimento se produce hasta que el producto alcanza la temperatura de equilibrio T_{equi}. En esta etapa se plantea el balance microscópico de energía considerando un término de generación interna debido a la energía suministrada por las microondas (Lin et al., 1995). El balance microscópico resultante es el siguiente:

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla(k\nabla T) - \rho C_p u \nabla T + Q_{mic} \tag{9}$$

donde ρ es la densidad, C_p capacidad calorífica específica, T temperatura, t tiempo, k conductividad térmica, *u* es la velocidad y Q_{mic} (W/m^3) representa la generación volumétrica de calor. El segundo término de la derecha se anula cuando el sistema esta estático.

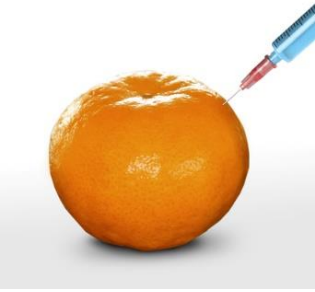
En estas condiciones se considera válido el balance microscópico de energía (Ec. 9) con las siguientes condiciones de contorno:

$$t = 0 \qquad T(x,y,z) = T_{ini} \tag{10}$$

En este modelo no se tuvo en cuenta la pérdida de humedad durante el calentamiento, esta suposición es válida para tiempos cortos de proceso.
Modelo para la Cantidad de Movimiento
Con el fin de modelar la distribución del flujo del fluido dentro del tanque, como resultado de la acción de agitación, se considerarán las ecuaciones de continuidad y cantidad de movimiento para flujo laminar:

$$\rho\nabla u = 0 \tag{11}$$

$$\rho(u.\nabla)u = -\nabla.\left[-p + \mu\left(\nabla u + (\nabla u)^T\right)\right] + F \tag{12}$$



donde u es la velocidad, p la presión, μ la viscosidad dinámica y F el término de disipación viscosa. En este caso se resolvió la ecuación de cantidad de movimiento en estado estacionario obteniendo la distribución de velocidades en todo el volumen.
Para la definición de las condiciones de borde se estableció un dominio externo fijo y un dominio interno rotativo. El dominio de rotación es el subdominio interno y la condición de contorno rotativa fue definida para los bordes de las aspas y el eje. La velocidad de giro, N_{rps}, se calculó a partir de la Ec. (13) y la dirección de rotación fue contraria a las agujas de reloj; entre el dominio fijo y el rotativo se estableció que los bordes cumplan con la condición de continuidad.

$$N_{rps} = \frac{N_{\mathrm{Re}}\mu}{\rho D_a} \tag{13}$$

donde N_{rps} es el número de revoluciones por segundo (velocidad de agitación), N_{Re} es el número de Reynolds que asegura flujo laminar del líquido dentro del tanque, μ es la viscosidad dinámica del fluido y D_a es el diámetro de las aspas del agítador.

Determinación del tiempo de pasteurización

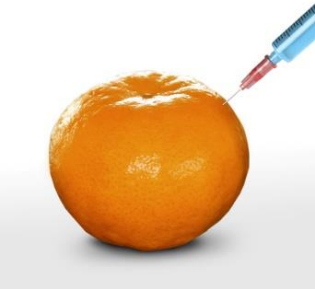
Para la evaluación del grado de destrucción microbiana alcanzado por el tratamiento se acopló al modelo de simulación una cinética de inactivación térmica de microorganismos (Ec (14)). Teniendo en cuenta que el líquido y los microorganismos que se encuentran en la zona de calentamiento lento (ZCL) son expuestos a condiciones térmicas de menor intensidad que el resto del producto (condición menos favorable), se determinó la evolución de la letalidad (F) para dicha zona. Con el propósito de comparar ambos procesos (con y sin agitación) se calculó el valor de letalidad alcanzado en 1600s.

$$F = \int_0^t 10^{(T-T_{ref})/z}\, dt \tag{14}$$

donde T_{ref} es la temperatura de referencia y z es factor de resistencia térmica, para la pasteurización de un alimento líquido estas variables pueden tomar valores de 72ºC y 8ºC, respectivamente (Holdsworth, 1997).

Solución numérica

Tanque sin agitación: Las ecuaciones acopladas de energía y del campo electromagnético (Ecs. 1 y 9) con sus condiciones iniciales y de contorno fueron resueltas numéricamente por el Método de los Elementos Finitos (MEF), usando el software comercial COMSOL Multiphysics. El programa utiliza una partición en formas más simples del modelo geométrico, para la aplicación del método numérico. La cantidad de elementos de la malla utilizada tiene influencia en la representación del modelo; en nuestro trabajo se resolvió con 940610 elementos tetraédricos, utilizando un mallado diferencial del dominio considerando diferentes subdominios como el interior del horno, la guía de onda y el alimento (**Fig. 2**). Dentro del producto se incorporó un tamaño máximo de los elementos de 6 mm, teniendo en cuenta la longitud de onda de la radiación dentro del mismo.



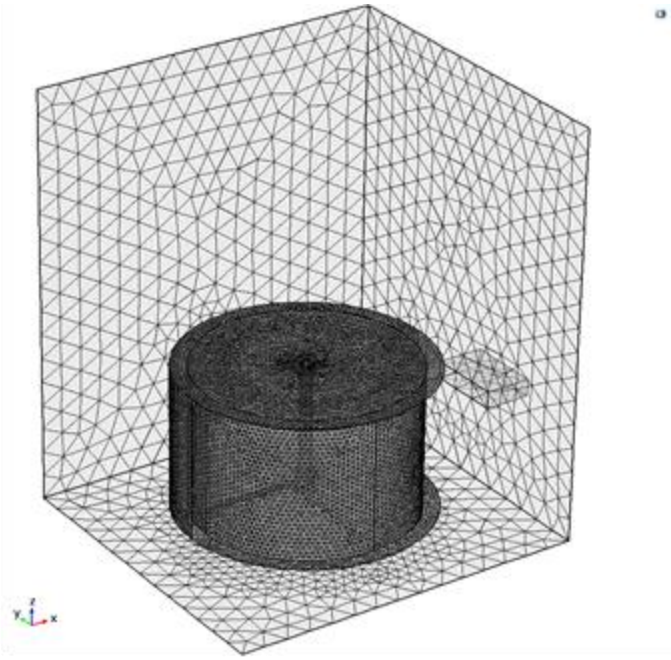


Figura 2. Mallado del dominio usado para las simulaciones numéricas del campo electromagnético, de las transferencias de calor y fluido-dinámica utilizando el software COMSOL Multiphysics.

El análisis de la propagación armónica fue considerado para resolver la Ec. (1), mientras que el balance microscópico de energía (Ec. 9) fue resuelto por medio del módulo de transferencia de energía en estado transitorio. El *solver* FGMRES se utilizó para obtener la solución en estado estacionario del campo eléctrico, tomando 25.5 min (1530 s) de tiempo de máquina. Para la transferencia de energía en estado transitorio se utilizó el *solver* PARDISO, que utiliza el paquete de resolución BDF (fórmula de derivación atrasada de múltiples etapas) al cual le llevó 430 min en llegar a la solución para 26 minutos (1600 s) de procesamiento térmico.

Tanque con agitación: En este caso se resolvieron, además de las ecuaciones de campo eléctrico y transferencia de calor, las ecuaciones de transferencia de cantidad de movimiento (Ecs. 1, 9, 11 y 12) con sus condiciones iniciales y de contorno usando el software comercial COMSOL Multiphysics. Teniendo en cuenta la complejidad del sistema multifísico, las ecuaciones tanto para obtener la distribución del campo eléctrico dentro del horno y del producto, como la distribución de velocidades dentro del tanque, fueron resueltas en estado estacionario. La ecuación de transferencia de calor fue resuelta en estado transitorio de tal forma que pueda considerarse el aumento de temperatura en función del tiempo.

Para lograr una coherencia en el mallado que tenga en cuenta las diferentes físicas, se tuvo en cuenta tanto el tamaño del elemento que pueda dar cuenta de la longitud de onda de las microondas en el aire y en el producto (dentro de tanque), como así también del efecto fluidodinámico producido por la agitación dentro del tanque (**Fig. 2**). Considerando estos aspectos se llegó a una malla compuesta por 940610 elementos tetraédricos. En el caso del tanque con agitación se incorporó la resolución estacionaria del campo de velocidades, utilizando el *solver* GMRES tomando 71.9 min (4315 s) en alcanzar la solución. Para alcanzar la solución del campo eléctrico tomó 25.5 min (1530 s) y para resolver la transferencia de calor en estado transitorio 430 minutos para 1600 s de proceso de pasteurización.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

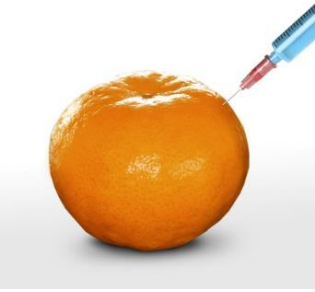
En la **Tabla 1** se muestran los parámetros y propiedades empleados por el modelo matemático. Las mismas son representativas de productos líquidos. Las dimensiones de la cavidad (horno) son de 38 x 35 x 43.6 cm. En el caso del sistema con agitación, la velocidad de giro de las aspas fue de 30 rpm considerando una longitud de las mismas de 10.56 cm.

Tabla 1. Parámetros y propiedades utilizados en el modelo matemático.

Parámetros	Valores
Temperatura inicial, ºC	20
Velocidad inicial, m/s	0
Constante dieléctrica (ε'), adimensional	75
Factor de Pérdida (ε''), adimensional	11
Densidad, kg/m^3	998
Viscosidad, Pa.s	1
Conductividad térmica, W/(m ºC)	0.61
Capacidad calorífica, J/(kg ºC)	4181
Frecuencia microondas, GHz	2.45
Velocidad de agitación, rps	1.24

Distribución del campo eléctrico

El software permitió observar el comportamiento del campo electromagnético dentro del sistema. En la **Fig. (3a)** se muestran las distribuciones de la intensidad del campo eléctrico en el interior del reactor. El mismo presenta valores máximos en los contornos, estas ubicaciones están enfrentadas a los magnetrones, por lo tanto a la incidencia directa de la radiación. La distribución dentro del horno es simétrica y estos máximos se atenúan hacia el interior. En la **Fig. (3b)** se muestra la distribución de energía debido a la absorción de la radiación; se puede observar que sigue el comportamiento del campo eléctrico, eso se debe a su dependencia con la intensidad de campo de acuerdo a la Ec. (8). En los análisis siguientes se presentan resultados simulados en función de los perfiles de temperatura.



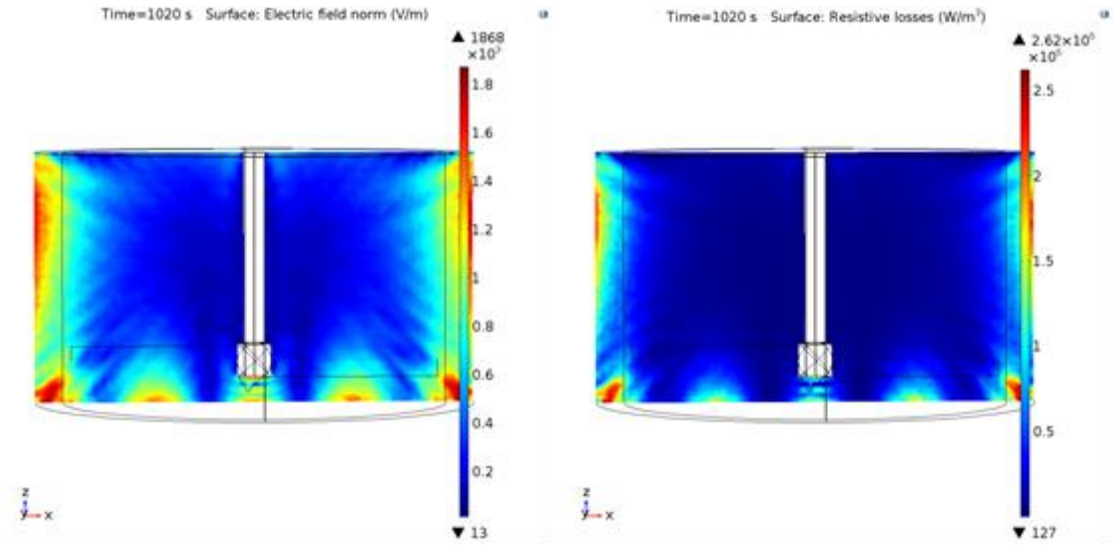


Figura 3. a) Distribuciones de la intensidad del campo eléctrico y b) la potencia absorbida por el producto.

Comparación de tanques con y sin agitación

Se analizó el sistema del reactor con y sin agitación (**Fig. 1**). La irradiación de las microondas se llevó a cabo mediante 2 magnetrones de 1000W cada uno, los cuales están dispuestos como muestra la **Fig. (1)**. En la **Fig. (4)** podemos observar los perfiles de velocidad obtenidos a través de la resolución del balance microscópico de cantidad de movimiento junto con la ecuación de continuidad. Se puede observar que el movimiento de las aspas provoca un efecto de mezclado deseado; la velocidad es máxima en la zona de contacto con las aspas y disminuye en zonas alejadas de las mismas.

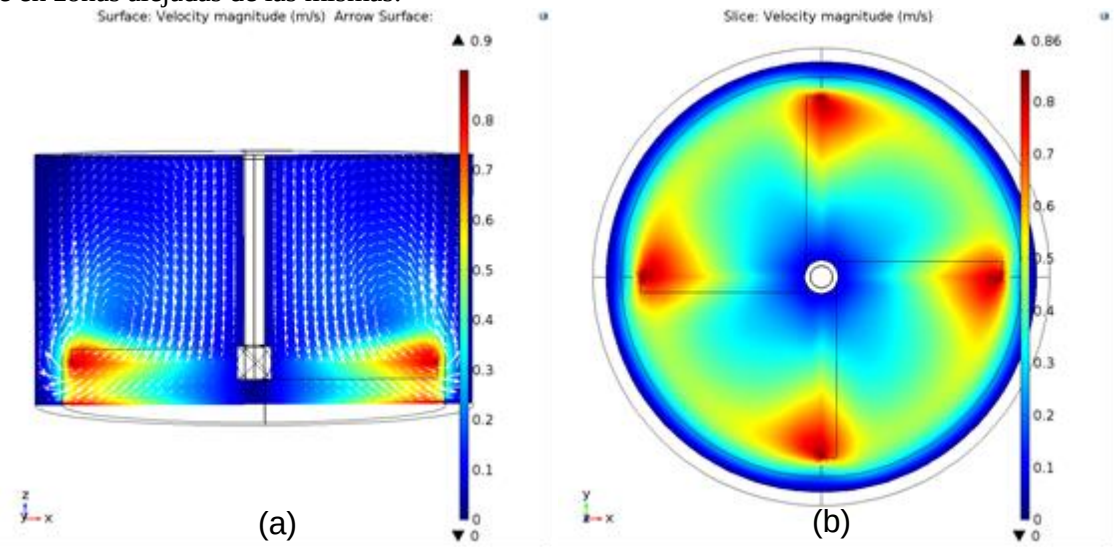


Figura 4. Efecto de la agitación en los perfiles de velocidad: a) corte frontal, b) vista superior.

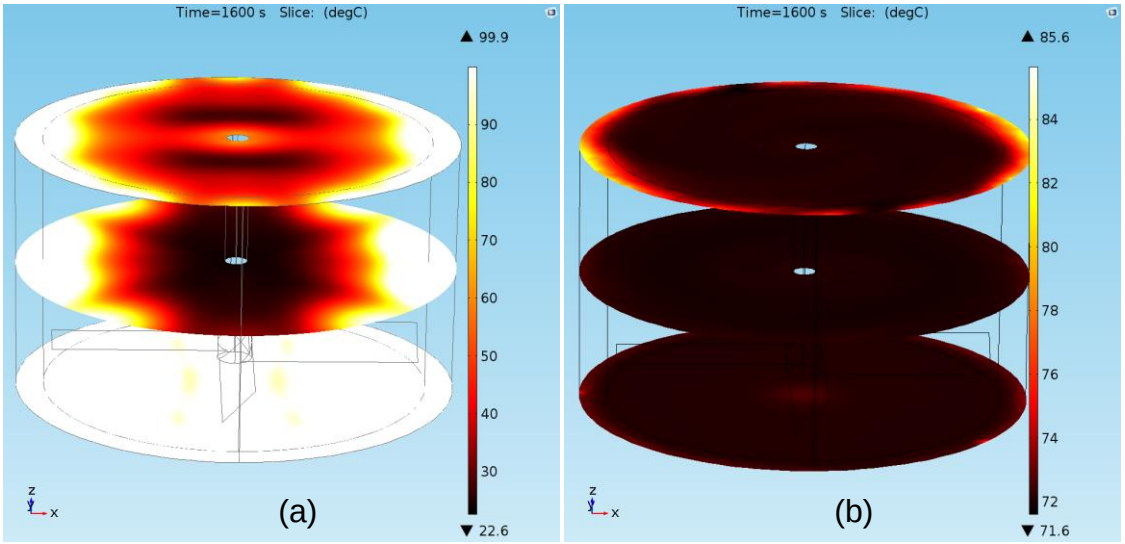
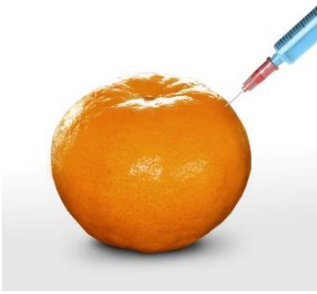


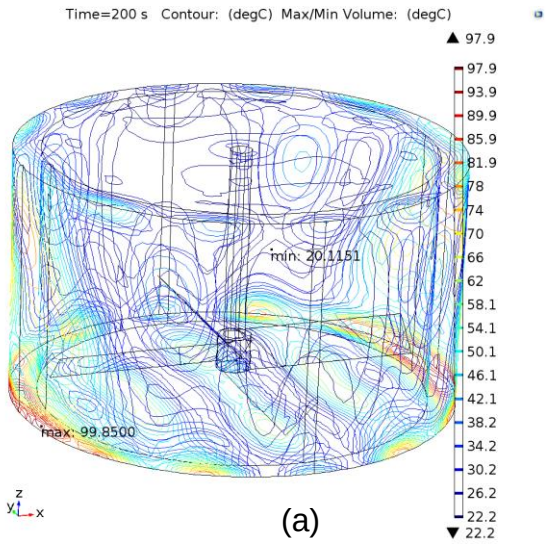
Figura 5. Distribución de temperaturas en tanque (a) sin y (b) con agitación.

A continuación se muestran los perfiles de temperaturas en tres posiciones dentro del tanque (zona inferior, media y superior) y se comparan los resultados del tanque sin y con agitación para 1600 s de proceso (**Figs. 5 a** y **b**). En el caso de tanque estanco se puede observar que las distribuciones de temperatura dentro de la carga siguen el comportamiento del campo electromagnético (**Fig. 5 a**). Además, la zona inferior presenta una mejor distribución de las temperaturas, no ocurre lo mismo en el resto del volumen. Debido a la agitación (**Fig. 5b**) se vio muy favorecida la uniformidad en la distribución de temperaturas, en consecuencia se alcanzan menores temperaturas en comparación con el tanque sin agitación.

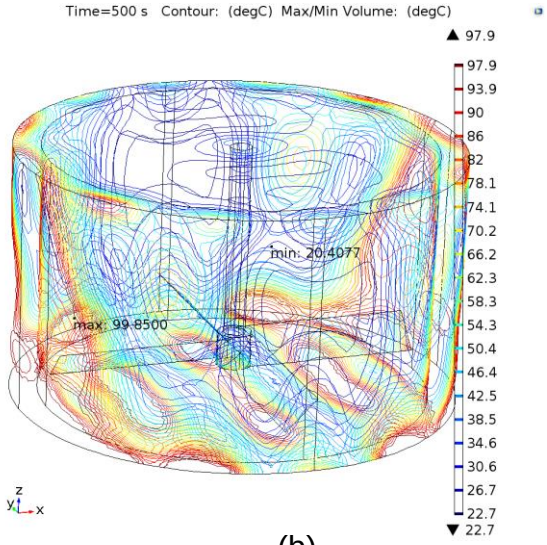
En la **Fig. 6** se presentan las líneas de contorno de temperaturas para distintos tiempos de proceso; en concordancia con la **Fig. 5** la distribución es más homogénea en el tanque agitado (**Figs. 6 d**, **e**, **f**), como consecuencia la diferencia entre los valores (T_{max}-T_{min}) es muy inferior en relación a lo que ocurre en el sistema estático para todos los tiempos.

La identificación del punto frio del sistema es determinante para poder obtener los valores de letalidad en las condiciones más desfavorables, es decir en la zona de calentamiento lento (ZCL). En el caso del tanque con agitación puede observarse que las posiciones de las temperaturas mínimas se mantienen en el tiempo, sin embargo en el tanque estático presenta modificaciones en los tiempos cercanos a 1000s (**Figs. 6 b** y **c**). Para visualizar este efecto se obtuvieron iso-superficies acotadas a los rangos mínimos (**Fig. 7**). En las imágenes se muestran una distribución simétrica, con respecto al plano horizontal, con la presencia de dos zonas de temperaturas mínimas. Estas constituyen las zonas de monitoreo para la determinación de las cinéticas de destrucción microbiana.

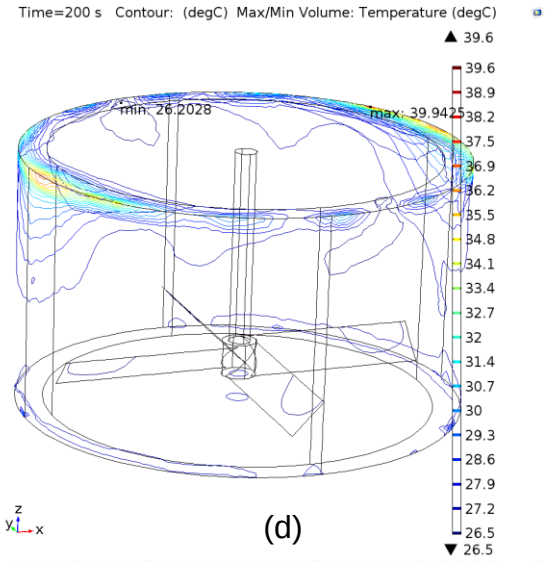



Time=200 s Contour: (degC) Max/Min Volume: (degC)
▲ 97.9
97.9
93.9
89.9
85.9
81.9
78
74
70
66
62
58.1
54.1
50.1
46.1
42.1
38.2
34.2
30.2
26.2
22.2
▼ 22.2
min: 20.1151
max: 99.8500

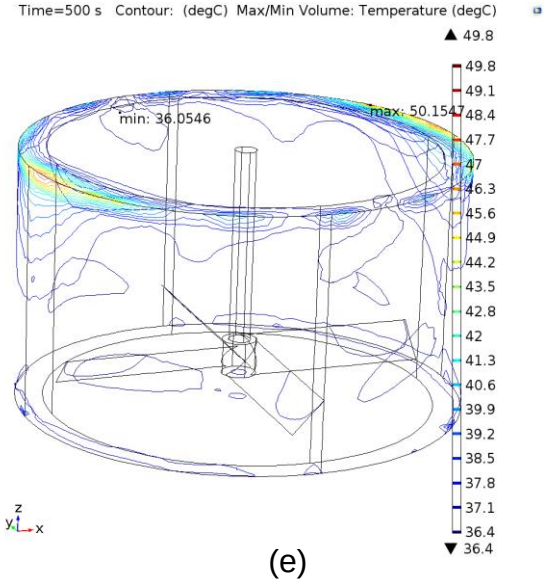
(a)


Time=500 s Contour: (degC) Max/Min Volume: (degC)
▲ 97.9
97.9
93.9
90
86
82
78.1
74.1
70.2
66.2
62.3
58.3
54.3
50.4
46.4
42.5
38.5
34.6
30.6
26.7
22.7
▼ 22.7
min: 20.4077
max: 99.8500

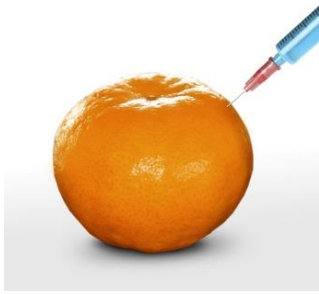
(b)


Time=200 s Contour: (degC) Max/Min Volume: Temperature (degC)
▲ 39.6
39.6
38.9
38.2
37.5
36.9
36.2
35.5
34.8
34.1
33.4
32.7
32
31.4
30.7
30
29.3
28.6
27.9
27.2
26.5
▼ 26.5
min: 26.2028
max: 39.9425

(d)


Time=500 s Contour: (degC) Max/Min Volume: Temperature (degC)
▲ 49.8
49.8
49.1
48.4
47.7
47
46.3
45.6
44.9
44.2
43.5
42.8
42
41.3
40.6
39.9
39.2
38.5
37.8
37.1
36.4
▼ 36.4
min: 36.0546
max: 50.1547

(e)



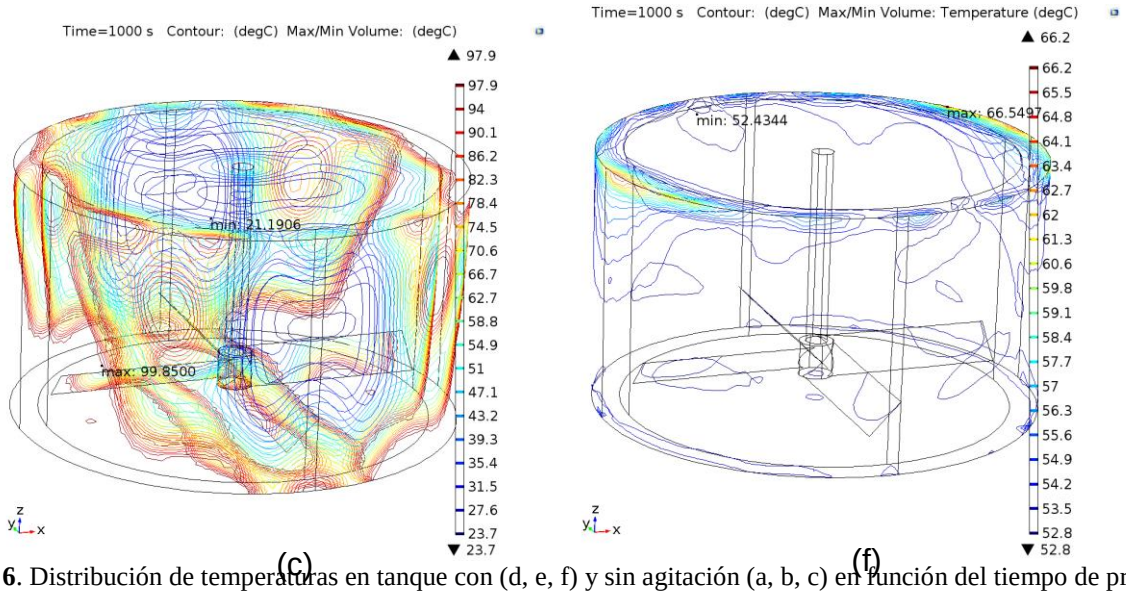


Figura 6. Distribución de temperaturas en tanque con (d, e, f) y sin agitación (a, b, c) en función del tiempo de proceso (200, 500 y 1000s).

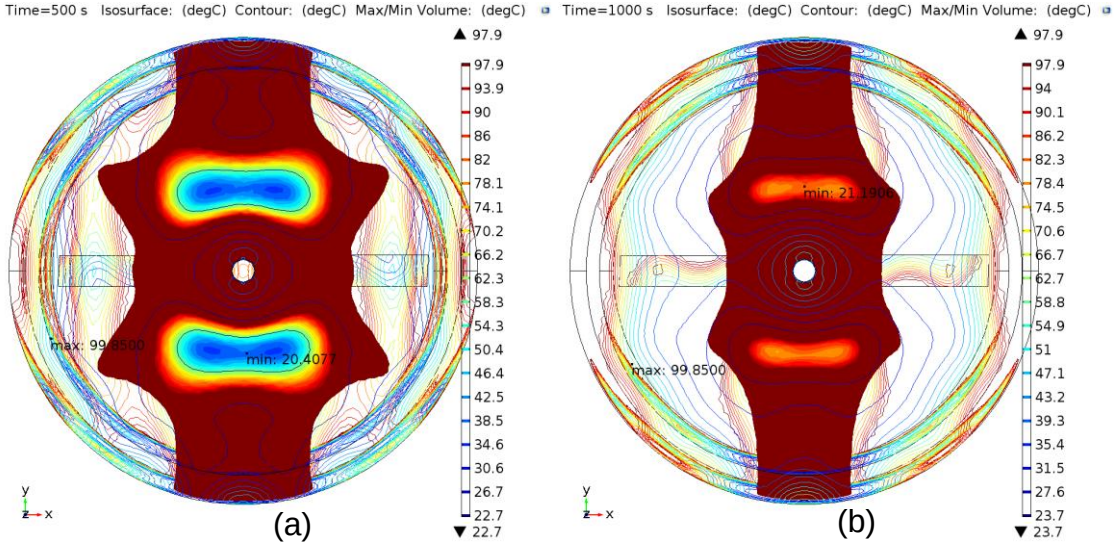
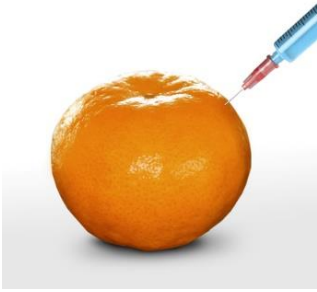


Figura 7. Ubicación de las temperaturas mínimas y máximas para distintos tiempos de proceso en tanque sin agitación: a) 500 s, b) 1000 s.

Finalmente, se encontraron los valores de letalidad en ZCL para los dos procesos estudiados (**Fig. 8**). En el tanque agitado a 1300s la curva presenta un cambio de pendiente que se corresponde una temperatura de 62ºC, a partir de este punto se produce un aumento geométrico del valor de destrucción microbiana. En cambio en el sistema estático no se logra alcanzar el objetivo de pasteurización ya que la ZCL no alcanza las temperaturas mínimas requeridas.



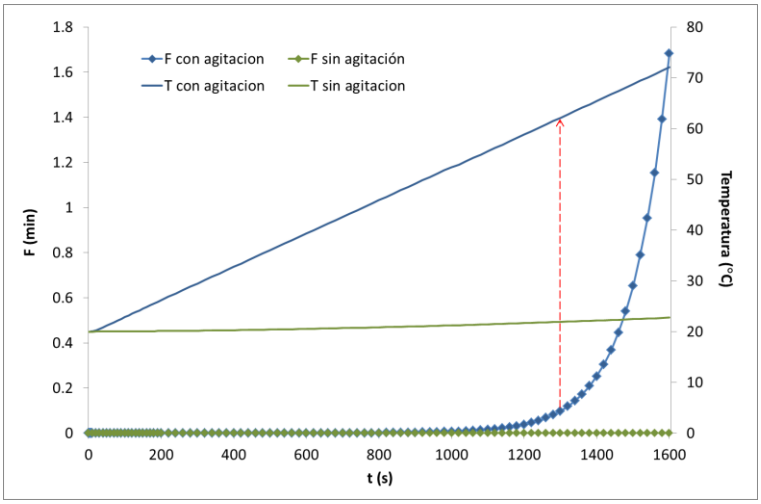


Figura 8. Evolución de la temperatura y de la letalidad *F* en la zona de calentamiento lento (ZCL) durante el proceso de pasteurización con microondas en tanques con y sin agitación.

CONCLUSIONES

En este trabajo se abordó la resolución de los balances acoplados de energía y cantidad de movimiento considerando válidas las ecuaciones de Maxwell durante el calentamiento con microondas. Las simulaciones numéricas permitieron analizar el efecto de la agitación en este tipo de sistemas. Como conclusión general del estudio realizado, el empleo de agitación resulta de vital importancia para mejorar la uniformidad en los perfiles de temperatura con el propósito de asegurar la inocuidad del producto final.

BIBLIOGRAFÍA

Arballo J.R., Campañone L.A. and Mascheroni RH. Modeling of Microwave Drying of Fruits. *Journal of Drying Technology*, 28: 1178-1184, 2010.

Campañone L.A., Paola C.A. and Mascheroni R.H. Modelling and simulation of heat and mass transfer during the heating of foods in microwave ovens under different heating schedules. *Food and Bioprocess Technology*, 738-749, 2012.

Clemens, J. and Saltiel, C. Numerical modeling of materials processing in microwave furnaces. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 39:1665-1675, 1996.

Datta, A.K. and Anantheswaran, R.C. *Handbook of microwave technology for food applications*. Marcel Dekker Inc. USA, 2005.

Dimian A.C., Bildea C.S., Kiss A.A. *Integrated Design and Simulation of Chemical Processes*, volume XXXV, Elsevier, 2014.

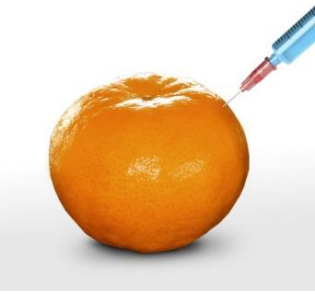
Dinčov, D.D., Parrott, K.A. and Pericleous, K.A. Heat and mass transfer in two-phase porous materials under intensive microwave heating. *Journal Food Engineering*, 65:403-412, 2004.

Holdsworth, S.D. Thermal processing of packaged foods. London, Ed. Chapman Hall, 146-155, 1997.

Lin, Y.E., Anantheswaran, R.C. and Puri, V.M. Finite element analysis of microwave heating of solid foods. *Journal of Food Engineering*, 25:85-112, 1995.

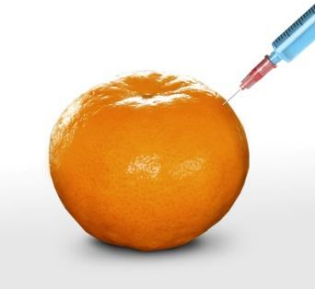
Maloney N. and Harrison M. *Advanced Heating Technologies for Food Processing, Innovation and Future Trends in Food Manufacturing and Supply Chain Technologies*. chapter 8, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 2016.

Puri, V.M. and Anantheswaran, R.C. Finite element method in food processing-a review. *Journal of Food Engineering*, 19:247-74, 1993.



Verboven, P., Datta, A.K., Anh, N.T., Scheerlinck, N. and Nicolai, B.M. Computation of airflow effects on heat and mass transfer in a microwave oven. *Journal of Food Engineering*, 59:181–190, 2003.

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen el financiamiento proveniente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y la Universidad Nacional de La Plata (UNLP).



Estudio de la variación de propiedades fisicoquímicas de un concentrado de proteínas de suero de leche de cabra

Ayunta C. A.[1], Montenegro M.[1], Puppo M.C.[2], Iturriaga L.B.[1]

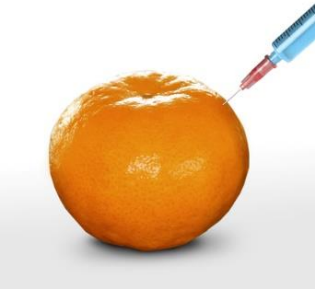
1 Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos, Centro de Investigación y Transferencia de Santiago del Estero, Univ. Nacional de Santiago del Estero, RN 9 km 1.125 Villa El Zanjón (4206) Santiago del Estero, Argentina.
2 CIDCA, Facultad de Ciencias Exactas, Univ. Nacional de La Plata, Calle 47 y 116, La Plata, Buenos Aires, Argentina.
anabelayunta@gmail.com

RESUMEN
Las proteínas del suero se utilizan como ingredientes alimentarios por su valor nutricional y propiedades fisicoquímicas. El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios inducidos por el tratamiento térmico (90ºC 30 minutos) y el pH (2, 4, 5, 7, y 10) en la solubilidad, el potencial zeta, hidrofobicidad superficial (Ho), y la contenido de sulfhidrilos libres en un concentrado de proteínas de suero de leche de cabra (CPSc) obtenido por ultrafiltración y diafiltración. Los resultados indicaron que la solubilidad fue elevada para muestras sin tratamiento térmico y mejoró en presencia de NaCl. La fuerza iónica (NaCl) modificó el valor del punto isoeléctrico. En las muestras sin tratamiento térmico, los grupos sulfhidrilos libres fueron independientes de pH, por otra parte a pH 7 y 8 las muestras sometidas a tratamiento térmico mostraron mayor contenido de grupos sulfhidrilos libres. La Ho fue alta a pH ácido y mostró un incremento con el tratamiento térmico. Las muestras de CPSc exhibieron buena solubilidad, elevada Ho y la reactividad de grupo tiol libre, con la aplicación de tratamiento térmico. Estos resultados indican que la CPSc obtenido por ultrafiltración y diafiltración presentó buenas propiedades para ser utilizado en formulaciones de alimentos.

Palabras claves: concentrado de proteínas de suero de leche, propiedades fisicoquímicas, pH y temperatura.

ABSTRACT
Whey proteins are used as food ingredients because of their high nutritional value and physicochemical properties. The objective of this study was to follow the changes induced by thermal treatment (90ºC 30 minutes) and the effect of pH (2, 4, 5, 7, and 10) in solubility, zeta potential, surface hydrophobicity, and thiol availability of caprine whey protein concentrate (WPCc) obtained by an ultrafiltration (UF) and diafiltration (DF). The results indicated that the solubility was high for systems without heat treatment and it was enhanced in the presence of NaCl. The solubility was strongly affected by the heat treatment. Zeta potential measurements showed that, the ionic strength (NaCl) modifying the isoelectric point. In samples without thermal treatment, free sulfhydryl groups were independent of pH; however, at pH 7 and 8, the samples subjected to heat treatment showed higher content of free sulfhydryl groups. The surface hydrophobicity was high at acid pH and showed an increase with heat treatment. The samples of WPCc exhibited good solubility, high surface hydrophobicity and reactivity of free thiol group, especially with the application of heat treatment. These results indicate that the WPCc obtained by UF and DF present good properties to be used in food formulations.

Key words: Whey protein concentrate, physicochemical properties, pH and temperature.



INTRODUCCIÓN

Las proteínas del suero se utilizan como ingredientes de alimentos debido a su alto valor nutritivo e interesantes propiedades fisicoquímicas (Kinsella y Whitehead 1989, Hoffman et al. 1997). La funcionalidad de los ingredientes es importante en la preparación, procesamiento, almacenamiento, calidad y atributos sensoriales de los alimentos. Los concentrados de proteínas de suero comerciales (CPS) y los aislados (APS), son derivados principalmente de suero bovino. Sin embargo, los productos lácteos de origen caprino son adecuados como posibles sucedáneos de la leche de vaca, sobre todo para las personas con alergias a la leche de vaca (Pandya y Ghodke 2007). Dado que los estudios preliminares en ratones indican que la leche de cabra es menos alergénica que la leche de vaca (Lara-Villoslada et al. 2004). Los CPS caprino podría ser una alternativa interesante del CPS bovino en los alimentos destinados a todas las personas que desarrollan reacciones alérgicas a las proteínas bovinas (Sanmartín et al. 2013).

Las propiedades fisicoquímicas y funcionales de las proteínas se ven afectadas por factores tales como la temperatura, el pH y la fuerza iónica, efectos de procesamiento, entre otros. La solubilidad de las proteínas es la primera propiedad funcional determinada normalmente durante el desarrollo y ensayo de nuevos ingredientes de proteínas (Zayas 1997), es el factor más importante y excelente índice para su funcionalidad (Kinsella 1976). La solubilidad de diversas proteínas disminuye con temperaturas (superiores a 50ºC) y el tiempo de calentamiento. Por el contrario, mejora las propiedades funcionales de superficie (de formación de espuma y emulsionantes) (Ibrahim et al. 1993). La reactividad del grupo tiol libre y la exposición de los sitios hidrófobos, previamente ocultos en la estructura nativa de moléculas de proteína, también aumenta notablemente por despliegue de las proteínas. Por lo tanto, las mediciones de la hidrofobicidad de la superficie pueden ser útiles en la predicción de la extensión de la desnaturalización de la proteína de suero de leche y la funcionalidad de los CPS (Moro et al. 2001).

Las proteínas del suero representan aproximadamente 18 a 20% del total de proteínas de la leche y sus componentes principales son β-lactoglobulina (β-Lg), α-lactalbúmina (α-La), albúmina de suero (SA) y immuneglobulin (Ig), lactoferrina (Lf), lo que representa, 60%, 20%, 3%, 10% y <0,1% de la fracción, respectivamente (Farrell et al. 2004). Las temperaturas de desnaturalización de las principales proteínas del suero: β-LG, α-La, Ig y SA son 78, 62, 64 y 72°C, respectivamente (De Wit y Klarenbeek 1984).

El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios producidos por el tratamiento térmico (90ºC 30 min) y el efecto del pH (2, 4, 5, 7, y 10), en algunas propiedades funcionales y fisicoquímicas de un concentrado de proteínas de suero de leche de cabra (CPSc) obtenido por ultrafiltración y diafiltración.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

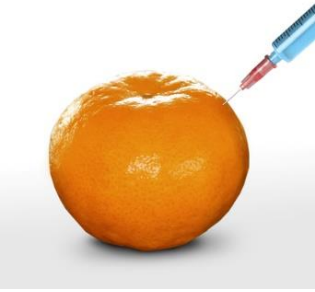
El suero dulce de leche de cabra (pH> 5,6) fue suministrado por una fábrica local de quesos de cabra (La Carola, El Polear (Banda), Argentina). Los parámetros físico-químicos de este suero de leche fueron: densidad 1,02 g/ml, pH 6,93, y acidez 10,08ºD. Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico.

Métodos

Preparación del concentrado de proteínas de suero de leche de cabra (CPSc)

El CPSc se preparó usando un proceso de ultrafiltración a escala de laboratorio (UF). Como pre-tratamiento, el suero se centrifugó a 1300 g durante 10 minutos a 4°C, principalmente para reducir el contenido de grasa. Después de la centrifugación, el suero descremado se ultrafiltró utilizando una membrana de 10 kDa de peso molecular de corte con 200 cm^2 de área de filtración (Vivaflow 200, Sartorius, Göttingen, Alemania).

Teniendo en cuenta el tiempo total del proceso y el aumento de la viscosidad del concentrado, el proceso de UF de proteínas de suero caprino se definió con un factor de concentración volumétrica (FCV) igual a 7. Con el fin de aumentar la concentración de proteína, se realizó un proceso de diafiltración (DF). La DF es una modificación



de UF en el que se añade agua al concentrado, con el fin de facilitar la permeación de algunos componentes a través de la membrana, principalmente lactosa y minerales. DF se realizó en cinco etapas discontinuas. El FCV se define como la relación entre el volumen inicial de la solución de suero de leche y el volumen de solución concentrada. El concentrado resultante después de los procesos de UF y DF se liofilizó utilizando un liofilizador (Labconco Corporation, Kansas City, EE.UU.).

La composición química del CPSc se determinó por los métodos oficiales de la AOAC (2005). El contenido de humedad se determinó de secado en estufa 105ºC hasta peso constante (AOAC 999.20); cenizas por incineración (AOAC 945.46.); la grasa por el método Röse-Gottlieb (AOAC 950.02). El contenido de proteína se llevó a cabo por Hach et al. (1985) usando un factor de conversión de 6,38. El contenido de lactosa se determinó por diferencia. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

La composición química del CPSc se determinó como sigue: proteínas 77,83%, humedad 2,40%, cenizas 1,73%, lípidos 14,44% y lactosa 3,6%.

Solubilidad

La solubilidad del CPSc se determinó en agua desionizada y NaCl, a pH 2, 4, 5, 7 y 10, con y sin tratamiento térmico (90ºC 30 minutos) por el método de Morr et al. (1985). Las soluciones de proteínas (1g/100 ml) se prepararon mediante la dispersión del CPSc en agua desionizada o en una solución NaCl 0,1 M, después de obtener una dispersión, el pH de las muestras se ajustó a 2, 4, 5, 7, y 10 con NaOH 1N o HCl 1N. Las dispersiones se agitaron durante 1 h a temperatura ambiente; durante este período, se controló el pH. Se tomaron dos alícuotas, una de las cuales se centrifugó y la otra se sometió a tratamiento térmico. Luego se centrifugaron a 2260 g durante 15 min a 4°C y se filtró el sobrenadante resultante. El contenido de proteína de las muestras filtradas y la dispersión original se determinó por el método de Lowry et al. (1951) las mediciones se realizaron en un espectrofotómetro UV-visible Jasco V630. La solubilidad del CPSc se expresó como el porcentaje de proteína en el sobrenadante y en la dispersión original. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Potencial zeta

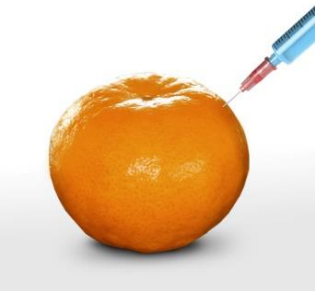
Para las mediciones de potencial zeta (PZ) a diferentes valores de pH, en agua y 0,1 M de NaCl, una alícuota de 1 ml de dispersión (1 g/100 ml) fue tomada y se llevó a un volumen final de 15 ml con agua ultrapura. El PZ de las soluciones acuosas del CPSc se determinó usando en medidor Zeta-System 3.0 (Zeta-Meter Inc., Nueva York, EE.UU.). La tasa de migración se determinó mediante la observación microscópica de desplazamiento individual de macromoléculas que mostraron movimiento rectilíneo y uniforme a lo largo de un enrejado de longitud 1 mm. Los valores obtenidos son valores medios obtenidos mediante el seguimiento de al menos 40 partículas diferentes. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Determinación de grupos sulfhidrilos libres (SH_l)

Se evaluaron los grupos SH libres (SH_l) de acuerdo con el método de Beveridge et al. (1974), utilizando el reactivo de Ellman [5,5-ditio-bis (ácido 2-nitrobenzoico)]. Se prepararon las soluciones de proteína (10mg/ml) dispersando el CPSc en buffer Tris-Gly a pH 7, 8, 9 y 10. A continuación, se tomó 500 µl de la soluciones de proteínas, se añadió 2,5 ml de urea 8 M (disuelto en buffer Tris-Gly), a continuación se añadió 20 µl del reactivo de Ellman, se agitó y se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Luego se midió la absorbancia a 412 nm utilizando un espectrofotómetro Jasco V630. Para los cálculos se utilizó un coeficiente de extinción molar de 1,36 x 104 mol /$L^{-1}cm^{-1}$. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Hidrofobicidad superficial

La hidrofobicidad superficial (So) se determinó por el método de espectroscopia de fluorescencia reportado por Kato y Nakai (1980) usando ácido 8-anilino-1-naftalenosulfónico (ANS). Se prepararon soluciones de proteínas con una concentración de 0,5 mg/ml dispersando el CPSc en buffer fosfato 0,1 M a diferentes pHs (2, 4, 5, 7 y 10). Las muestras con tratamiento térmico se sometieron a un baño de agua a 90ºC durante 30 minutos. A continuación se hicieron diluciones seriadas para alcanzar una concentración final de proteína en el rango de 0,0625 a 0,4375 mg/ml. El ANS 8 mM se preparó en buffer fosfato 0,01 M a pH 7. Por cada 2 ml de solución de



proteína se añadieron 50 µl de solución de ANS. Las longitudes de onda de excitación y emisión se fijaron en 360 y 480 nm, respectivamente. El ancho de la abertura de excitación y emisión de fueron de 5 nm, una tensión de 700 V. La intensidad relativa de fluorescencia (IRF) de las diluciones con y sin ANS y del blanco (buffer mas ANS) se midió usando F-2500 espectrofotómetro (Hitachi-Science & Technology, Berkshire, Reino Unido). La intensidad de fluorescencia neta (IFN) para cada muestra se calculó como la diferencia entre IFR de la muestra con y sin ANS menos el blanco. La Ho se calculó como la pendiente inicial del gráfico de IFN en función de la concentración de proteínas. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Solubilidad

La variación de la solubilidad del CPSc en agua y en NaCl 0,1 M, con y sin tratamiento térmico (90ºC 30 minutos) en función del pH (2, 4, 5, 7, y 10),) se muestra en la **figura 1**.

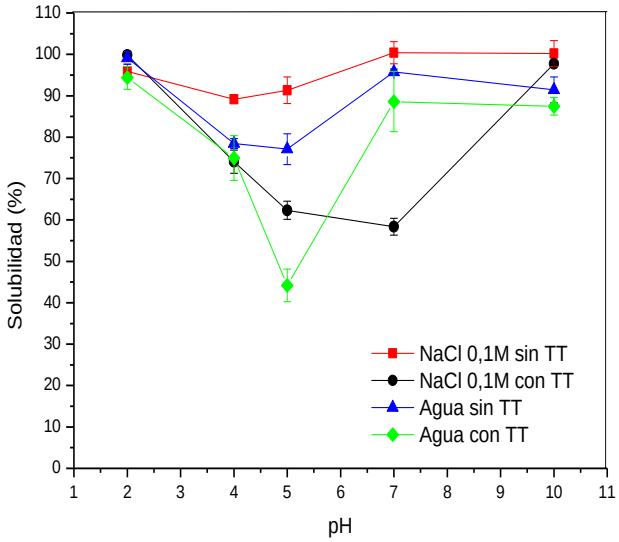


Figura 1, Variación de la solubilidad del CPSc en función del pH. TT: tratamiento térmico.

El CPSc mostró alta solubilidad en todo el rango de pH, esto podría atribuirse al bajo grado de desnaturalización asociado con la liofilización (Casper et al. 1999) y también al bajo contenido de lípidos. En el caso de muestras sin tratamiento térmico, la solubilidad fue más alta y prácticamente independiente del pH. Las muestras con tratamiento térmico mostraron solubilidad más baja, debido a la desnaturalización de las proteínas y exposición de los sitios hidrofóbicos. Esto conduce interacción entre las proteínas, que pueden formar agregados y precipitar, con la consiguiente pérdida de solubilidad (Robin et al. 1993, Vojdani 1996, Zayas 1997, Ordóñez et al.1998). La solubilidad más baja se presentó a pHs 4 y 5, en particular a pH 5. Esto se debe a que la solubilidad es inferior a pHs alrededor del punto isoeléctrico (4-5) (Zayas 1997). El aumento de la fuerza iónica mediante la adición de NaCl 0,1 M, aumentó la solubilidad por incremento de la carga neta, lo que permite una mayor solvatación de las proteínas. Como se sabe la solubilidad se ve afectada por el tipo y concentración de sales, en general, cuando la concentración de sales es inferior a 0,1 M, la solubilidad aumenta por el efecto de "salting-in".

A excepción de pH 7 con tratamiento térmico, en el que se redujo la solubilidad. Resultados similares fueron reportados por (Sanmartín, Díaz, Rodríguez-Turienzo, y Cobos, 2013) para las muestras de CPSc con NaCl sin tratamiento térmico. Por otro lado Palatnik et al. (2015) reportaron valores de solubilidad más bajos, estas diferencias podrían deberse al proceso de obtención del CPS.

Potencial zeta (PZ)

Los cambios de PZ de las soluciones de CPSc en agua y 0,1 M NaCl, sin tratamiento térmico como función del pH se muestran en la **figura 2**. Los valores de PZ fueron consistentes con los resultados de solubilidad.

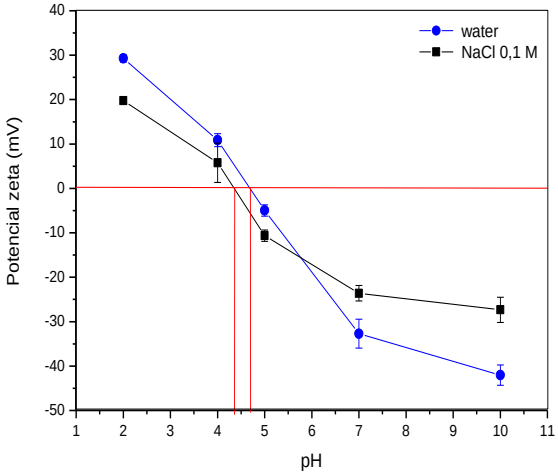


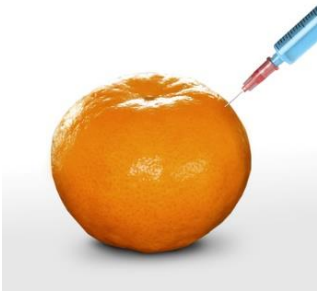
Figura 2. Variación del potencial zeta en muestras de CPSc, en agua y en NaCl 0,1M, como función del pH.

Las partículas con alto potencial zeta son auto-estable, ya que su carga inhibe la coalescencia y mejora la estabilidad (Morrison et al. 2002). Por el contrario, cuando la proteína tiene una carga neta de cero, las fuerzas de repulsión a ser menos importante que da lugar a la agregación y precipitación de partículas en suspensión. El valor de punto de carga cero (PCZ) se utilizó para encontrar el punto isoeléctrico de las soluciones de CPSc, que fue de 4,7 en agua y 4,4 en NaCl 0,1 M. Las proteínas tienen grupos ácidos y básicos, por lo tanto su carga depende del pH y la fuerza iónica del medio (Benítez et al. 2007). El aumento de la fuerza iónica mediante la adición de NaCl 0,1 M produjo un corrimiento en el punto isoeléctrico. Las sales provocan un efecto de apantallamiento las cargas de las proteínas, haciendo que la doble capa eléctrica se vuelva más comprimida (Bhattacharjee 2016).

El PZ se vió fuertemente afectado por el pH, pero no por la fuerza iónica. Las muestran con tratamiento térmico no se pudieron medir ya que formaron grandes agregados.

Hidrofobicidad superficial

La hidrofobicidad superficial (Ho) se utiliza como un parámetro para predecir el potencial de una proteína para asociarse por calentamiento o cambio de las condiciones ambientales, y se relaciona con las propiedades funcionales, tales como la formación de espuma y de gelificación (Nakai 1983). Los cambios en la Ho de las muestras con y sin tratamiento térmico (90ºC 30 min) en función del pH (2, 4, 5, 7 y 10) se muestran en la **figura 3**.



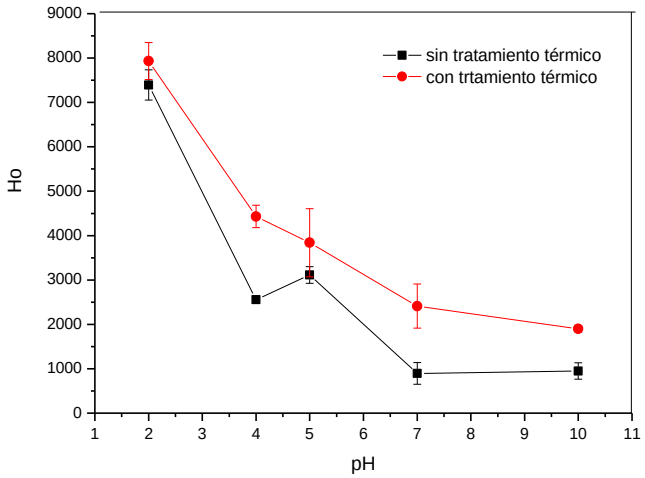
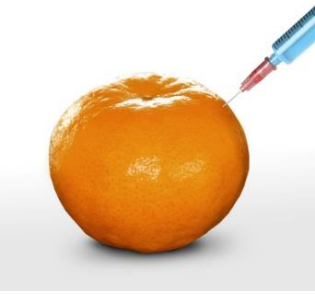


Figura 3. variación de la hidrofobicidad superficial (Ho) del CPSc en función del pH.

La Ho disminuyó con el aumento del pH en todas las muestras. A pH 2 ambas muestras (con y sin tratamiento térmico) exhibieron valores similares. Mientras que a pH 10 el valor de Ho se duplicó por efecto de la temperatura. La Ho fue mayor en las muestras con el tratamiento térmico, por el despliegue de las proteínas y exposición de grupos hidrofóbicos. Resultados similares fueron reportados por (Alizadeh-Pasdar y Li-Chan 2000) para CPS bovino utilizando ANS como sonda fluorescente. Estos resultados son coherentes en cuanto a la tendencia con pH y el tratamiento térmico, sin embargo, nuestros valores hidrofobicidad de la superficie fueron más altos, esto puede ser debido a que las concentraciones de proteína y voltaje aplicado. Por otro otra parte, Afizah y Rizvi (2014) informaron de un valor de Ho a pH 7 mayor para una muestra sin tratamiento térmico, esto podría ser debido a que el CPS comercial es deshidratado mediante secado spray, exponiendo a las proteínas al calor.

Grupos sulfhidrilos libres (SH_l)

Los grupos sulfhidrilos libres de las soluciones de CPSc, con y sin tratamiento térmico (90ºC 30 min) en función del pH (7, 8, 9 y 10) se muestran en la **figura 4**. Solo se analizó un intervalo de pH reducido dado que la reacción con el reactivo de Ellman sólo se produce en condiciones ligeramente alcalinas.



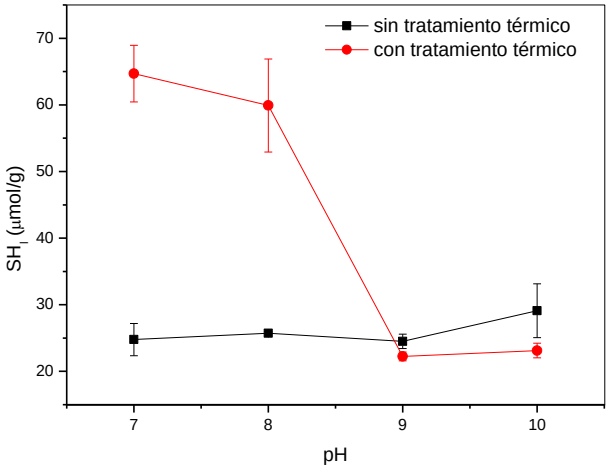


Figura 4. Contenido de grupos sulfhidrilos libres (SH_l), en muestras con y sin tratamiento térmico (90ºC 30 min) en función del pH.

La reactividad de grupo tiol es fuertemente dependiente de pH. Sin embargo, en las muestras sin tratamiento térmico no se observaron cambios en el rango de pH estudiado. En estado nativo, los grupos SH de β-lg son inaccesibles para DTNB (Sava et al. 2005). Resultados similares fueron informados por Afizah et al. (2014), para CPSc bovino a pH 8. Sin embargo, las muestras con tratamiento térmico mostraron alto contenido de SH_l a pH 7 y 8, y mucho menor valor de pH 9 y 10, incluso más bajos que los obtenidos sin tratamiento térmico. Resultados similares fueron reportados por (Shimada y Cheftel 1988) en geles de aislados de proteína de soja. Estos autores indican que los enlaces S-S se forman por oxidación de grupos SH a pH alcalino, reduciendo así el contenido de SH_l.

CONCLUSIONES

En este trabajo se logró obtener un concentrado de proteínas de suero de leche de cabra con 77,83%, mediante ultrafiltración y diafiltración. El concentrado presentó elevada solubilidad, lo cual indica buena funcionalidad. La fuerza iónica incrementó la solubilidad y provocó un corrimiento en el valor del punto isoeléctrico. La hidrofobicidad superficial fue mayor a pHs bajos. El contenido de grupos SH_l fue independiente del pH en muestras sin tratamiento térmico.

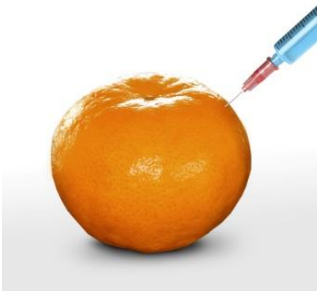
Estos resultados indican que la CPSc obtenido por UF y DF presentó buenas propiedades para ser utilizado en formulaciones de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

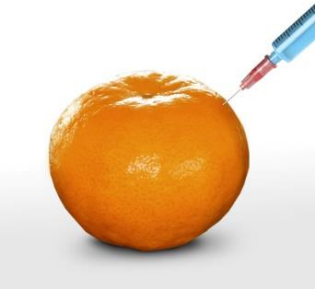
Association of Official Analytical Chemists. (2005). Official Methods of Analysis, 18th ed.Association of Official Analyst Chemists, Gaithersburg, MD. U.S.A: Dr. William Horwitz.

Benítez, E. I., Genovese, D. B., & Lozano, J. E. . (2007). Effect of pH and ionic strength apple juice turbidity: Application of the extended DLVO theory. Food Hydrocolloids , 21(1), 100–109.

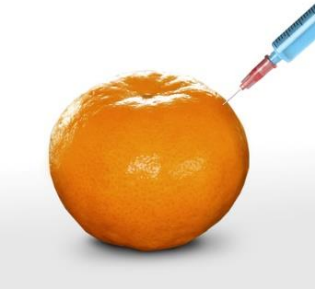
Beveridge, T., Toma, S. J., & Nakai, S. (1974). Determination of SH and SS groups in some food proteins using Ellman's reagent. Journal of Food Science, 39, 49-51.



Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not? Review article. Journal of Controlled Release, 235, 337–351.
Casper, J.L., Wendorff, W.L., & Thomas, D.L. (1999). Functional properties of whey protein concentrates from caprine and ovine specialty cheese wheys. Journal of Dairy Science., 82,(2), 265–271.
Das, K. P. & Kinsella, J. E. (1989). pH dependent emulsifying properties of B-Lactoglobulin. Journal of Dispersion Science and Technology, 10, 77-102.
De Wit, J.N. Klarenbeek, G. (1984). Effects of various heat tratments on structure and solubility of whey proteins. Journal Dairy Science, 67, 2701-2710.
Farrell, J. H.-F.-K.-H. (2004). Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. Journal of Dairy Science, 87,1641–1674.
Hambling, S.G., McAlpine, A. S.and Sawyer, L. (1992). β-Lactoglobulin. En In Adevanced Dairy Chemistri, Volume I Proteins, 2nd adn (P.F.Fox, ed) (págs. 141-90).
Hoffman, M., Sala, G., Olieman, C., & K. de Kruif. (1997). Molecular mass distributions of heat-induced β-lactoglobulin agaggregates. J. Agric. Food Chem., 45, 2949-2957.
Ibrahim, H. R., Kobayashi, K. & Kato, A. (1993). Improvementof the surface functional properties of B-lactoglobulin and a-lactalbumin by heating in a dry state. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 57, 1549-1552.
Jovanovic, S., Barac, M., Macej, O., Vucic, T., Lacnjevac, C. (2007). SDS-PAGE analysis of soluble proteins in reconstituted milk exposed to different heat treatments. Sensors, 7, 371-383.
Kato, A. & Nakai, S. (1980). Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correletion with surface properties o proteins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure, Volume 624, Issue 1, 13-20.
Kinsella, E., & Whitehead, D. M. . (1989). Proteins in whey: chemical, physical and functional properties. . Advances in Food and Nutrition Research, 33, 343–438.
Kinsella, J. (1976). Functional properties of proteins in food: a survey. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 7, 219.
Kinsella, J.E., & Whitehead, D. M. (1989). Proteins in whey: chemical, physical and functional properties. Advances in Food and Nutrition Research, 33, 343–438.
Lara-Villoslada, F., Olivares, M., Jiménez, J., Boza J., and Xaus, J. (2004). Goat Milk is Less Immunogenic than Cow Milk in a Murine. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 39:354–360.
Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A. L., Randall R.J. (1951). Protein measurements with the Folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry, 193, 265-275.
M. Nor Afizah , Syed S.H. Rizvi . (2014). Functional properties of whey protein concentrate texturized at acidic pH: Effect of extrusion temperature. LWT - Food Science and Technology, 57, 290-298.
Moro, A., Gatti, C., & Delorenzi, N. (2001). Hydrophobicity of Whey Protein Concentrates measured by fluorescence quenching and its relation with surface functional properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry , 49, 4784-4789.
Morr, C., German, B., Kinsella, J., Regenstein, J. M., Van Buren, J. P., Kilara, A., . . . Mangino, M. E. (1985). A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. Journal of Food Science, 50, 1715–1728.
Morrison, I.D. & Ross, S. (2002). Colloidal dispersions; suspensions,emulsions and foams. NY, USA: Wiley.
Mulvihill, D. M., Kinsella, J. E. (1988). Gelation of beta-lactoglobulin: Effects of sodium choloride and calcium chloride on the rheological and structural properties of gels. Journal of Food Science, 231-236.
Nooshin Alizadeh-Pasdar and Eunice C. Y. Li-Chan. (2000). Comparison of Protein Surface Hydrophobicity Measured at Various pH Values Using Three Different Fluorescent Probes. Journal of Agricultural and Food Chemistry , 48, 328-334.



Owusu-Apenten, R. & Chee, C. (2004). Sulfhydryl group activation for commercial b-lactoglobulin measured using k-casein 2-thio, 5´nitrobenzoic acid. International Dairy Journal, 14, 195–200.
Pandya, A.J., Ghodke, K.M. (2007). Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. Small Ruminant Research, 68,193–206.
Sanmartín, B., Díaz, O., Rodríguez-Turienzo, L., & Cobos, A. (2013). Functional properties of caprine whey protein concentrates obtained from clarified cheese whey. Small Rumiant Research, 110,52-56.
Sava, N., Van der Plancken, I., Claeys, W., & Hendrickx, M. . (2005). The kinetics of heat-induced structural changes of b-lactoglobulin. Journal of Dairy Science, 88, 1646-1653.
Schokker, E. P., Singh, H., Pinder, D. N., Norris, G. E., & Creamer, L. K. (1999). Characterization of intermediates formed during heat-induced aggregation of b- lactoglobulin AB at neutral pH. International Dairy Journa, 791–800.
Shimada, K. & Cheftel, J. C. (1988). Determination of Sulfhydryl Groups and Disulfide Bonds in Heat-Induced Gels of Soy Protein Isolate. Journal of Agricultural and Food Chemitry, 36, 147-153.
Zayas, J. (1997). ,Functionality of Proteins in Food. Verlag, Berlin: Springer.



Propiedades de los geles mixtos de carragenano y concentrado de proteínas de suero de leche de cabra obtenido por ultrafiltración

Ayunta C. A.[1], Montenegro M.[1], Puppo M.C.[2], Iturriaga L.B.[1]

1 Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos, Centro de Investigación y Transferencia de Santiago del Estero, Univ. Nacional de Santiago del Estero, RN 9 km 1.125 Villa El Zanjón (4206) Santiago del Estero, Argentina.
2 CIDCA, Facultad de Ciencias Exactas, Univ. Nacional de La Plata, Calle 47 y 116, La Plata, Buenos Aires, Argentina.
anabelayunta@gmail.com

RESUMEN

Las proteínas del suero de leche de cabra fueron recuperadas mediante la aplicación de la ultrafiltración y la diafiltración. Se obtuvo un concentrado de proteínas de suero de leche de cabra (CPSc) con 77,83% de proteínas. Las propiedades estructurales, reológicas y de textura de geles mixtos, formulados con diferentes concentraciones de proteína (0,5, 1 y 3% w/v) y carragenano (Car) (1% w/v) a pH 7, en presencia o en ausencia de $CaCl_2$ (10 mM), a 45 °C y 90 °C, fueron estudiadas. Las micrografías obtenidas por CLSM revelaron agregados de proteínas en la matriz de gel. Estudios de reologia dinámica indican que en ausencia de $CaCl_2$ los geles mixtos se debilitaron por el aumento de la concentración de proteínas. La temperatura como única variable no tuvo ningún efecto. Los geles con $CaCl_2$ presentaron mayor G', dureza y adhesividad. Este estudio demuestra que geles mixtos fuertes y altamente elásticos se pueden elaborar mediante el uso de CPSc, Car y $CaCl_2$ en proporciones adecuadas.

Palabras claves: concentrado de proteínas de suero de leche de cabra, ultrafiltración, carragenano, geles mixtos.

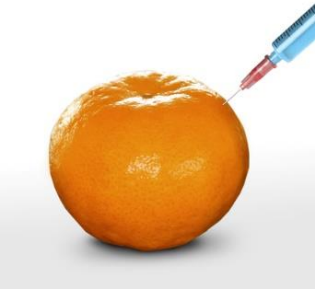
ABSTRACT

Proteins from caprine whey milk were recovered by applying ultrafiltration and diafiltration. Caprine whey protein concentrate (WPCc) with 77.83% of protein content was obtained. The structural, rheological and textural properties of mixed gels formulated with different protein concentrations (0.5, 1, and 3% w/v) and carrageenan (Car) at 1% (w/v) concentration at pH 7, in the presence or in the absence of $CaCl_2$ 10 mM, and at 45°C and 90°C, were studied. CLSM images revealed aggregated protein in the gel matrix. Dynamic rheology studies indicate that in the absence of $CaCl_2$, the mixed gels were weakened by with the increase in protein content. The temperature as unique variable did not have any effect. The highest G', hardness and adhesiveness corresponded to gels formulated with $CaCl_2$. This study demonstrates that strong and highly elastic mixed gels can be prepared by using WPCc, Car and $CaCl_2$ in adequate proportions.

Keywords: caprine whey protein concentrate, ultrafiltration, carrageenan, mixed gels.

INTRODUCCIÓN

El suero es un subproducto obtenido durante la coagulación de la leche en el proceso de fabricación del queso y producción de caseína, después de la separación de la fase micelar. Este contiene más de la mitad de los sólidos presentes en la leche entera original, incluyendo las proteínas del suero (20% de total del contenido de proteínas) y la mayor parte de lactosa, minerales y vitaminas solubles en agua (Rektor & Vatai 2004, Atra et al. 2005). El



suero de la leche se produce en todo el mundo en grandes cantidades, y a pesar de su alto valor nutritivo, por lo general se desecha, lo que lo convierte en uno de los principales problemas de la industria láctea (Boumba et al. 2001). Por estas razones, hoy en día el suero se lo considera como materia prima en lugar de los desecharlo, y el mayor esfuerzo se centra en la recuperación de proteínas y muchas vitaminas, principalmente los del complejo B (McDonough et al. 1974, Delaney 1976).

Las tecnologías de membrana, aplicadas a la industria láctea, son una herramienta única para la concentración y fraccionamiento de componentes de la leche, en base a las diferencias en el peso molecular y el tamaño relativo. La ultrafiltración (UF) es un método muy atractivo para la obtención de concentrado de proteínas, ya que no emplea calor, no involucra cambios de fase, por lo que el proceso de concentración es más económico (Baldasso et al. 2011).

Los concentrados de proteínas de suero (CPS) y los aislados (APS) obtenidos a partir de suero bovino, son ampliamente utilizados como ingredientes de alimentos debido a su alto valor nutricional y excelentes propiedades funcionales, tales como gelificación, emulsionantes y agentes espumantes (Kinsella y Whitehead 1989).

Los productos de leche de cabra son posibles sustitutos de la leche de vaca en la dieta, sobre todo para las personas con alergias a la leche de vaca (Pandya y Ghodke 2007). Dado que los estudios preliminares realizados en ratones indican que la leche de cabra es menos alergénica que la leche de vaca (Lara-Villoslada et al. 2004), el CPS caprino podría ser una alternativa interesante para CPS bovino, en los alimentos destinados a las personas que desarrollan reacciones alérgicas a las proteínas bovinas (Sanmartín et al. 2013).

Los polisacáridos se agregan a menudo para mejorar la textura y la microestructura de los geles de proteínas de leche. Sin embargo, la adición de polisacáridos afecta a la formación del gel de proteínas de suero (Capron et al. 1999, Ould Eleya y Turgeon 2000 b, Beaulieu et al. 2005) durante la agregación inducida por calor de una manera que hoy en día no está completamente entendido (Flett y Corredig 2009).

Los carragenanos son biopolímeros lineales de alto peso molecular extraídos de especies de algas marinas rojas, ampliamente utilizados como espesantes, gelificantes y agentes estabilizantes, en particular en la industria láctea.

Los objetivos de este trabajo fueron: (a) obtener un concentrado de proteínas de suero de leche de cabra (CPSc) utilizando tecnología de membrana; y (b) evaluar las propiedades de geles mixtos de CPSc y carragenano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

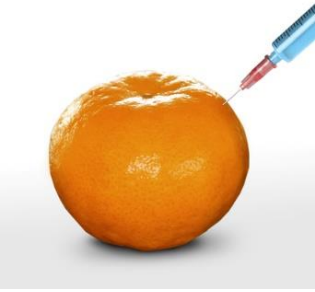
El suero dulce de leche de cabra (pH> 5,6) fue suministrada por una fábrica local de quesos de cabra (La Carola, El Polear (Banda), Argentina). Los parámetros físico-químicos de este suero de leche fueron: densidad 1,02 g/ml, pH 6,93, y acidez 10,08ºD.

Carragenano (Car) (C1013, grado comercial) fue utilizado (Sigma, St. Louis, MO, USA). La composición de minerales del carragenano fue determinado: K^+ (1%), Ca^{+2} (3,01%), y Na^+ (3,9%).

Métodos

Preparación del concentrado de proteínas de suero de leche de cabra (CPSc)

El CPSc se preparó usando un proceso de ultrafiltración (UF) a escala de laboratorio como se muestra en la **figura 1**. Como pre-tratamiento, el suero se centrifugó a 1300 g durante 10 minutos a 4°C, principalmente para reducir el contenido de grasa. Después de la centrifugación, el suero descremado se ultrafiltró utilizando una membrana de peso molecular de corte de 10 kDa con 200 cm^2 de área de filtración (Vivaflow 200, Sartorius, Göttingen, Alemania).



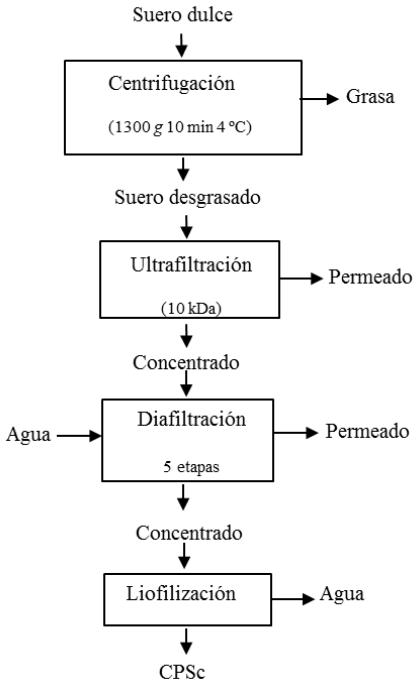


Figura 1. Diagrama de flujo de obtención de CPSc caprino.

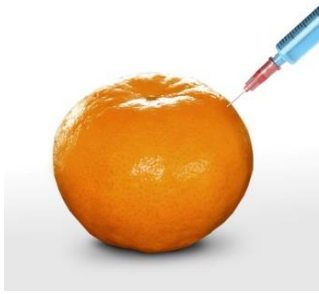
Teniendo en cuenta el tiempo total del proceso y el aumento de la viscosidad del concentrado, el proceso de UF quedó definido con un factor de concentración volumétrica (FCV) igual a 7. Con el fin de aumentar la concentración de proteínas, se realizó un proceso de diafiltración (DF). La DF es una modificación de UF en el que se añade agua al concentrado, con el fin de facilitar la permeación de algunos componentes a través de la membrana, principalmente lactosa y minerales. La DF se realizó en cinco etapas discontinuas. El FCV se define como la relación entre el volumen inicial de suero de leche y el volumen final del concentrado. La membrana se limpió entre los procesos de UF y DF para remover los sólidos depositados, que reducen el flujo de permeado. El concentrado resultante después de los procesos de UF y DF se liofilizó utilizando un liofilizador (Labconco Corporation, Kansas City, EE.UU.).

Caracterización de etapas de filtración

El proceso de filtración se caracterizó midiendo el flujo de permeado, la concentración de proteínas y lactosa en cada FCV. La concentración de proteína se determinó por el método de Lowry (Lowry et al. 1951). El contenido de lactosa se determinó espectrofotométricamente a 540 nm usando 3,5 ácido dinitrosalicílico (DNS) (Miller 1959). Las mediciones espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro UV-visible Jasco V 630.

Composición química

La composición química de las muestras liofilizadas de suero dulce original (S.orig.), suero de leche descremado (Sd) y CPSc se evaluó usando los métodos oficiales de la AOAC (2005). El contenido de humedad se determinó mediante el secado en estufa a 105 ºC hasta peso constante (AOAC 999.20); cenizas por incineración (AOAC 945.46.); grasa por el método Röse-Gottlieb (AOAC 950.02). El contenido de proteína se determinó por el método de Hach et al. (1985) usando un factor de conversión de 6,38. El contenido de lactosa se determinó por diferencia. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.



Preparación de geles CPSc-Car

Las mezclas se prepararon mediante la dispersión de proteínas a concentraciones de 0,5, 1 y 3% (w/v) en agua destilada o en solución de $CaCl_2$ 10 mM. La concentración de la $CaCl_2$ seleccionado fue la óptima reportada para geles de β-Lg para la obtención de geles de fuerza máxima (Mulvihill y Kinsella 1988). Las dispersiones de proteína se agitaron durante 30 minutos a 25°C y, a continuación, se añadió el polvo de Car a una concentración de 1% w/v. La mezcla se calentó a 45ºC durante 20 minutos para completar la dispersión del polisacárido, el pH de las mezclas se ajustó a 7 con NaOH 1N o HCl 1N. Las mezclas que fueron sometidas a un tratamiento térmico, se llevaron a un baño de agua a 90ºC durante 30 minutos, y luego se enfriaron con agua de la canilla. Todas las mezclas se vertieron en tubos de vidrio (2,9 cm de diámetro interno y 6 cm de altura) con tapones de caucho y se refrigeraron a 4°C durante 24 h.

Los geles se designaron como sigue: A-45 (A-45ºC), A-90 (A -90ºC), $CaCl_2$-45 (cloruro de calcio 10 mM - 45ºC) y $CaCl_2$-90 (cloruro de calcio 10 mM - 90ºC). Los geles de Car puro obtenidos con los mismos tratamientos se utilizaron como controles.

Mediciones reológicas

Las mediciones reológicas de los geles mixtos fueron llevadas a cabo usando un reómetro AR1000 TA (reómetro TA Instrument, New Castle, DE, EE.UU.) El reómetro fue acoplado con una geometría de placas paralelas acero inoxidable (25 mm de diámetro, separación de 1 mm, placas lisas). Las pruebas oscilatorias dinámicas se llevaron a cabo dentro del rango viscoelástico lineal de frecuencia entre 0,05 a 50 Hz usando un esfuerzo oscilatorio constante de 1 Pa, a 10ºC. El módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G") y δ tan (G"/G') se tomaron a partir de los reogramas de frecuencia a 1 Hz. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Análisis del perfil de textura

El análisis de perfil de textura (TPA) se realizó con un analizador de textura (TA-XTplus, Stable Micro Systems, Reino Unido). Utilizando una celda de carga de 50 kg, junto con una sonda cilíndrica de aluminio (40 mm de diámetro). Se realizaron dos ciclos de compresión de los geles.

Los parámetros del modo de compresión se establecieron fueron los siguientes: velocidad pre-ensayo 3 mm/s, velocidad de ensayo 3 mm/s, velocidad post-ensayo 10 mm/s, deformación 20% a partir de la altura inicial de la muestra. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Microestructura

La microestructura de los geles mixtos se estudió por microscopía confocal láser de barrido (CLSM). Para la observación CLSM, dispersiones CPSc se prepararon usando un colorante fluorescente, rodamina B (0,32 ml de una solución de rodamina 0,01%/1,6 g de proteína como fue descripto por Lutz et al. 2009), para teñir las proteínas. La solución de proteínas con el colorante se mezcló durante 30 minutos y luego se continuó como se describe en la sección de "preparación de geles CPSc-Car". Las observaciones se realizaron con un microscopio láser confocal de barrido Olympus FV300 (Olympus Corporation, Tokio, Japón) equipado con filtros para separar la señal de fluorescencia de rodamina B utilizando filtros de emisión (560-610 nm), BS (divisor de haz) 570 nm; la longitud de onda de excitación de la rodamina B fue 543 nm.

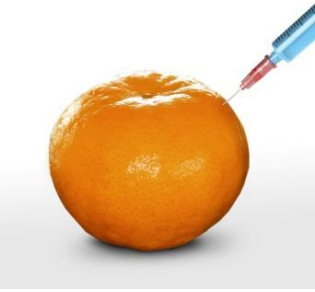
Análisis estadístico

Los datos se evaluaron usando el análisis de la varianza (ANOVA). Se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para comparar los valores medio. Los resultados fueron analizados con InfoStat-versión 2008 (Grupo InfoStat, FCA-UNCo, Argentina).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Proceso de obtención del CPSc

El perfil de flujo de permeado obtenido durante UF y DF se muestra en la **figura 2**. Se pueden identificar tres



etapas características del proceso. En la etapa I, hasta la primera hora del proceso, se observa una diminución brusca debido a la polarización de la concentración. En la etapa II, hasta 5 h 45 min de proceso, el flujo continúa disminuyendo, pero a una velocidad más lenta que en la etapa I, debido principalmente a la formación de depósitos. En la etapa III, llamada período de cuasi-estacionario, el flujo se establece en un valor de estado estacionario (Marshall et al. 1993). Perfiles similares fueron obtenidos por Atra et al. (2005) a escala de laboratorio. La capa depositada es a menudo un fenómeno negativo asociado a los procesos de membrana, que reducen el flujo de permeado y alargan el tiempo de concentración o separación (Schwab et al. 1993).

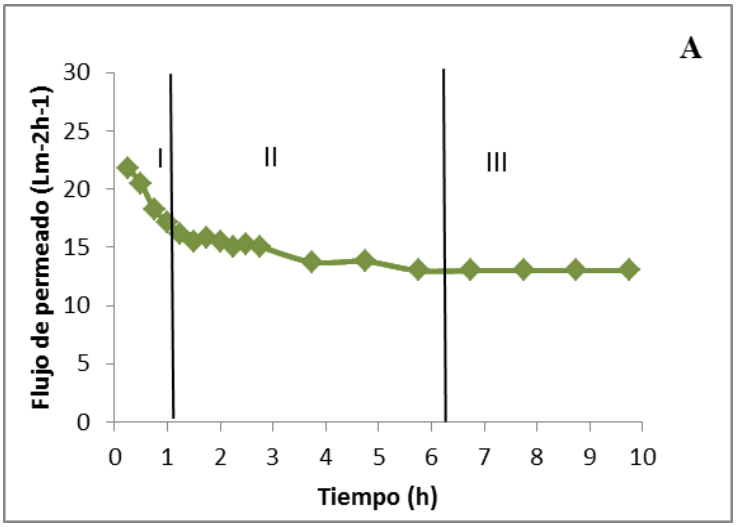
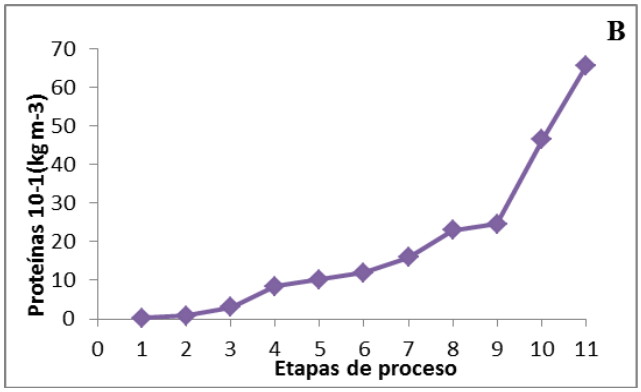
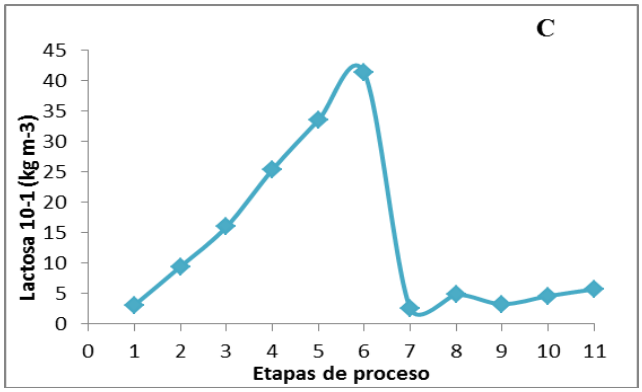


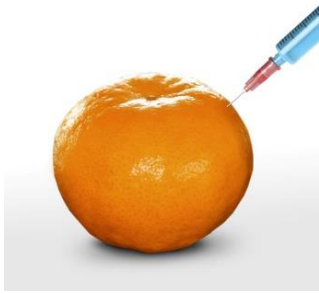
Figura 2 (A). Flujo de permeado en función del tiempo de proceso (ΔP= 250 kPa).

Las **figuras 2B** y **2C** muestran la evolución de la concentración de proteínas y lactosa en el concentrado, respectivamente, de acuerdo a las etapas de filtración. Como se puede ver en la **figura 2B**, el contenido de proteínas aumentó gradualmente hasta el paso 6 (durante la UF), el aumento posterior fue más pronunciado durante la DF, hasta alcanzar un valor de 6.568 kg/ m^3. La **figura 2C** muestra un rápido aumento en la concentración de lactosa en el retenido, que cae abruptamente cuando el proceso comienza DF, debido a la dilución del concentrado. Perfiles similares se muestran por Baldasso et al. (2011).





Figuras 2 (B) y **(C)**: Evolución de la concentración de proteínas y lactosa en función de las etapas de proceso de filtración. UF: etapas 1-6, DF: etapas 7-11.



Composición química de las muestras de suero de leche de cabra

En la **Tabla 1** se muestra la composición química del CPSc obtenido después de la UF y DF, y las muestras liofilizadas de suero dulce original (S. orig.) y suero descremado (Sd). El contenido de lípidos de Sd disminuyó en aproximadamente un 50% en comparación con la de S.orig, lo que indica que el proceso de centrifugación fue eficaz.

El contenido de lactosa del CPSc, que se muestra en la **Tabla 1**, fue 3,6%. Un contenido en lactosa del 6,89% (w/w) fue informado por Sanmartín et al. (2012) para un CPSc con 10 FCV y una etapa de DF. Por otro lado, Palatnik et al. (2015) reportaron un contenido de lactosa del 47,83% en CPSc con un FCV de 2,79. Por lo tanto, el contenido final de lactosa dependería del número de FCV y etapas de DF del proceso de concentración, la DF sería una etapa clave. Además, estos resultados sugieren que la adición de pequeños volúmenes de agua agregados varias veces, es más eficaz que un gran volumen en un paso como fue reportado por Baldasso et al. (2011).

El contenido de proteínas del CPSc (**Tabla 1**), fue 77,83%. Otros investigadores obtuvieron bajos contenidos de proteínas, por ejemplo, Sanmartín et al. (2012) y Palatnik et al. (2015) informaron de 36,84% y 23,73%, respectivamente.

En resumen, la etapa de descremado de suero de leche y el proceso DF aplicada en varias etapas discontinuas permite el aumento del flujo de permeado y, por consiguiente, la obtención de un concentrado con alto contenido en proteínas y bajo en lactosa y cenizas, lo que reduce el tiempo de procesamiento y por lo tanto los costos de operación.

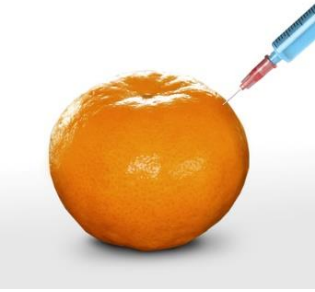
Tabla 1. Composición química % (w/w) de muestras liofilizadas: suero original (S. orig.), suero descremado (Sd) y concentrado de proteínas de suero de leche de cabra (CPSc).

Composición química % (w/w)					
Muestra	**Humedad[1]**	**Cenizas[2]**	**Grasa[2]**	**Proteinas[2]**	**Lactosa[2]**
S. orig.	4,51±0,45[a]	6,64±0,92[a]	26,50±2,6[a]	15,76±0,42[a]	46,59±0,00
Sd	5,68±1,22[a]	7,79±2,35[a]	14,32±1,32[a]	16,40±0,03[a]	55,81±0,00
CPSc	2,40±0,001[a]	1,73±0,22[a]	14,44±1,02[a]	77,83±1,63[b]	3,6±0,00

Valores medios comparados mediante la prueba de Tukey. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los valores ($p < 0,05$). 1: base húmeda. 2: base seca

Propiedades viscoelásticas de los geles mixtos de CPSc-Car

Todos los geles mixtos exhibieron valores de módulo elástico (G') mayor que el módulo viscoso (G") a lo largo de todo el rango de frecuencia. Los valores de G' fueron independientes de la frecuencia y diez veces mayores que los valores G". En la figura 3 se muestran los valores medios de G' a 1 Hz de frecuencia.



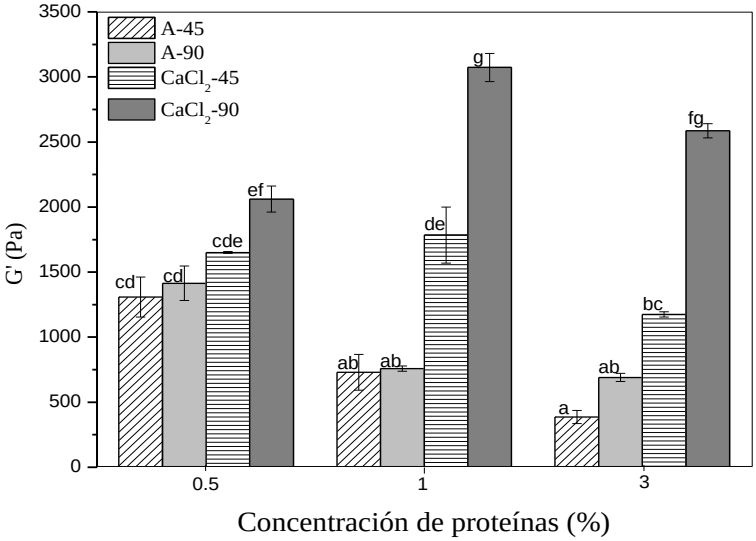


Figura 3. G' en función de la concentración de proteínas de los geles mixtos de CPSc y Car. Geles: A-45 (agua-45ºC), A-90 (agua-90ºC), CaCl2-45 (cloruro de calcio 10mM-45ºC) y CaCl2-90 (cloruro de calcio 10 Mm-90ºC). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los valores (p <0,05).

Los geles preparados en agua presentaron los valores más bajos de G', sobre todo a una concentración de proteína más alta que 1%. Este comportamiento sugiere que la proteína debilita la red de Car dado que los geles-car en agua (1% w/v), sometidos al mismo tratamiento térmico, alcanzaron valores más alto G', 6000 y 7000 Pa para A-45 y A-90, respectivamente (reogramas no mostrados).

La presencia de $CaCl_2$ modificó el comportamiento, ya que este ion interactúa con Car y la proteína. La interacción entre el Car y el calcio en presencia de proteína nativa dio geles más fuertes que los preparados en agua. La presencia de la proteína también debilitó la matriz de Car a 3% de la concentración de proteínas, especialmente teniendo en cuenta que el G' de los geles de Car puro obtenido en las mismas condiciones fue de 15.800 Pa. Por otra parte, la disminución del módulo elástico con el aumento de la concentración de proteínas se correlacionó con la disminución de la actividad de calcio debido a la interacción con las proteínas nativas (Nguyen et al. 2015).

Los valores de más alto G' fueron obtenidos para geles $CaCl_2$-90. Este refuerzo de la red podría ser debido a las proteínas que se despliegan con calentamiento y el calcio actúa uniendo moléculas de proteínas entre sí (Mulvihill y Kinsella 1988). Sin embargo, la presencia de la proteína debilitó el gel de Car, ya que el G' del control fué 18.000 Pa.

A pH 7 tanto el CPSc como el Car, poseen carga neta negativa. En estas condiciones la desnaturalización térmica, produce una separación de fases en las mezclas de proteína de suero y diversos polisacáridos aniónicos (Syrbe 1997). Por otra parte, la presencia de cationes de calcio también favoreció la separación de fases entre los dos polímeros (Old Eleya y Turgeon 2000 a).

La **figura 4** muestra la tan δ a 1 Hz en función de la concentración de proteínas. El parámetro que mejor explica la viscoelasticidad es tan δ, que es la G'' relación de G', los valores de tan δ fueron entre 0,07 y 0,11, lo que sugiere que todos los sistemas se comportaban como geles fuertes (tan δ <0,1) (Clark y Ross-Murphy1987).

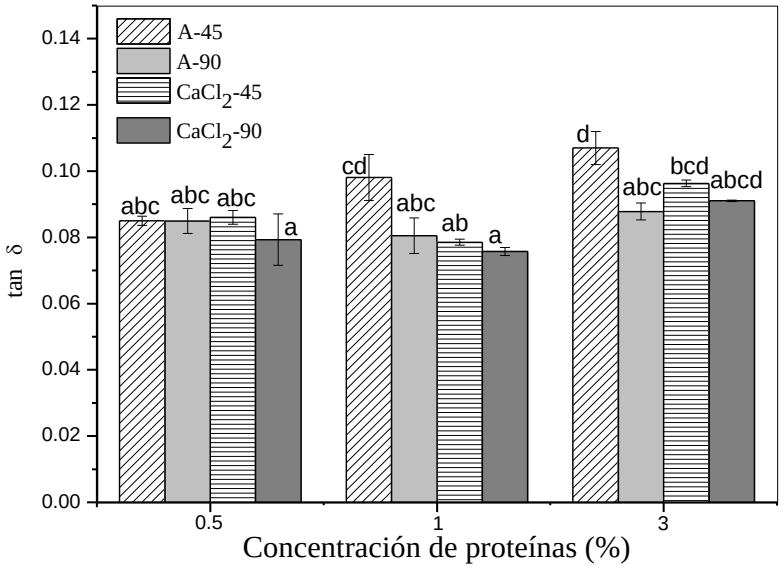


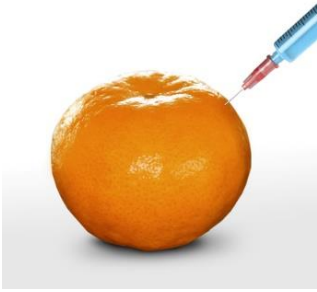
Figura 4. Tan δ en función de la concentración de proteínas de los geles mixtos de CPSc y Car. Geles: A-45 (agua-45ºC), A-90 (agua-90ºC), CaCl2-45 (cloruro de calcio 10mM-45ºC) y CaCl2-90 (cloruro de calcio 10 Mm-90ºC). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los valores (p <0,05).

Propiedades texturales de los geles de CPSc-Car

La **figura 5** muestra los parámetros de textura de los geles CPSc-Car. La dureza no se modificó significativamente con el incremento de la concentración de proteína para elaborados en agua incluso cuando se ve una tendencia a disminuir (**Fig. 5A**). Por el contrario, la adición de calcio aumentó la dureza de los geles. Los geles $CaCl_2$-45 aumentaron la dureza con el aumento de la concentración de proteína. Después del tratamiento térmico ($CaCl_2$-90), se observaron los mayores valores de dureza e independiente del contenido de proteínas. Además las mezclas sometidas a tratamiento térmico, formaron geles más duros que los obtenidos a 45°C, ya que este polisacárido se disuelve mejor por encima de 80°C favoreciendo la formación del gel. La dureza de los geles de Car puros en presencia de calcio, fue mayor que la de geles mixtos. Harrington et al. (2009) reportaron que la interacción del calcio con la proteína debilitó la fuerza de los geles de Car puro.

Todos los geles presentaron altos valores de elasticidad (> 0,9) (**Fig. 5B**). Alta elasticidad de los geles de CPS preparados a pH 7 fue informado (Yamul y Lupano 2003). A pH 7 las reacciones de intercambio sulfhidrilo-disulfuro son favorecidas, contribuyendo a la resistencia del gel. Los geles preparados en agua a baja temperatura (45°C) presentaron alta elasticidad que la disminuyó a la concentración de 1% de proteína. El calentamiento a 90ºC formó geles menos elásticos y este parámetro no varió con la concentración de proteínas. La elasticidad de los geles de $CaCl_2$-90 aumentó significativamente con el contenido de proteína (3%).

La **figura 5C** muestra que la adhesividad fue mayor en los geles con $CaCl_2$. Se observó una tendencia a disminuir la adhesividad cuando el contenido de proteína aumentó en la mezcla (3%), lo que sugiere que los agregados de proteínas absorben agua, reduciendo la migración de agua a la superficie del gel.



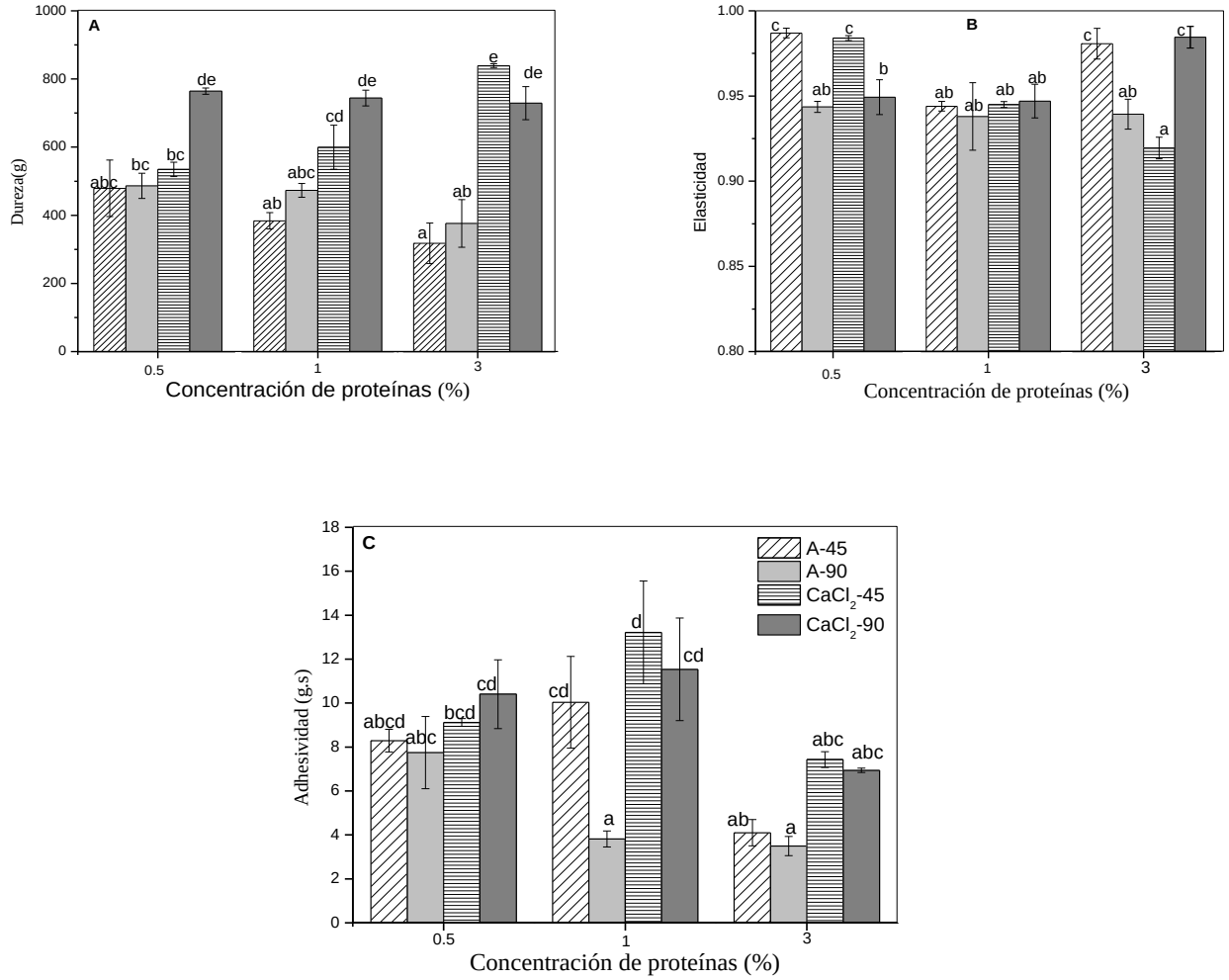
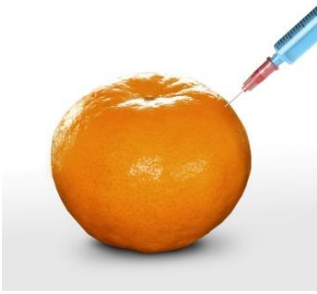


Figura 5. Parámetros texturales de los geles mixtos: Dureza (A), Elasticidad (B) y Adhesividad (C) de los geles mixtos en función de la concentración de proteínas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los valores ($p < 0,05$).

Microestructura de geles CPSc-Car

En la **figura 6** se muestra la microestructura de los geles mixtos con un contenido de proteína de 3%, obtenidas por microscopía confocal. Las áreas brillantes, teñidas de rodamina B, indican la red de proteínas de CPSc, mientras que las zonas oscuras corresponden a zonas sin proteínas, que contiene por lo tanto Car o agua



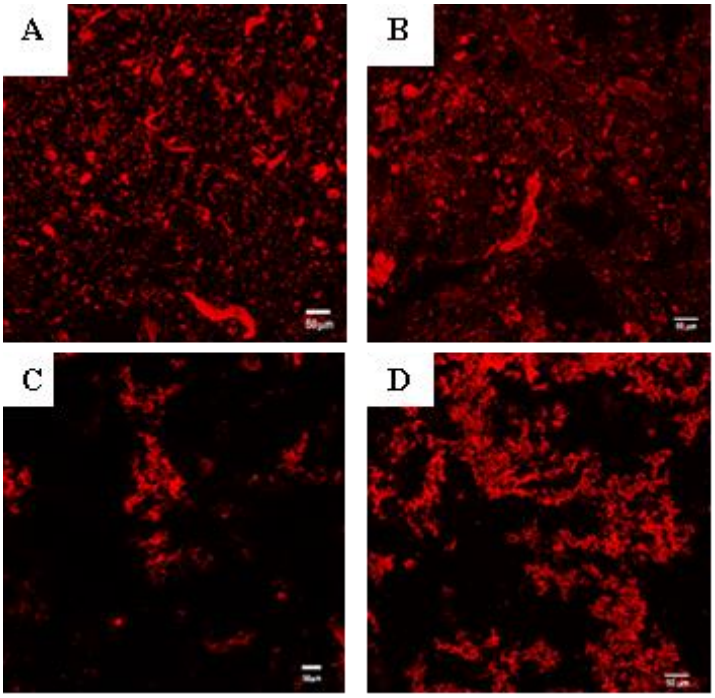


Figura 6. Imágenes obtenidas por microscopía confocal láser de barrido (CLSM) de geles CPScC/Car (3%/1% w/v) a pH 7. (A) A-45, (B) CaCl2-45, (C) A-90, y (D) CaCl2-90. Las áreas brillantes corresponden a la proteína. La barra de escala indica 50 micras.

La **figura 6** muestra que todos los geles exhibieron separación de fases. Sin embargo, las **figuras 6A** y **6B**, que corresponden a los sistemas preparados a 45°C, se ven muy diferente de las **figuras 6C** y **6D** que representan sistemas prepararon a 90°C. Cuando la proteína se encuentra en estado nativo, aparece dispersa, distribuida uniformemente en la matriz de Car. Las partículas fluorescentes presentan diferentes formas y no parece presentar diferencias entre las imágenes, a pesar de que la **figura 6B** corresponde a un sistema preparado con calcio. Resultados similares fueron presentados por Heilig et al. (2009). Este resultado confirmó que el calcio ejerce un efecto sinérgico con la fracción de Car, que mejora la firmeza. Las mezclas calentadas mostraron dominios de fracciones de proteínas desnaturalizadas que se observan como grandes clusters (racimos) en **figura 6C** y **6D**. La adición de $CaCl_2$ produjo dominios compactos más densos y más de agregados de proteínas. Nguyen et al. (2015) informaron de que la densidad de los agregados estaría relacionada con la actividad de $CaCl_2$.

CONCLUSIONES

Un concentrado de proteínas se obtuvo a partir de suero de leche proveniente de la fabricación de quesos de cabra, lo que permitió la recuperación de un subproducto normalmente descartado y elaboración de geles con aplicación en alimentos. Los procedimientos de ultrafiltración y diafiltración fueron eficientes y permitieron obtener un concentrado con alto contenido de proteínas. La etapa de desgrasado como pre-tratamiento de suero de leche de cabra y las etapas de diafiltración favorecieron la reducción en el contenido de lactosa y cenizas. Las

propiedades reológicas y de textura en general fueron dependientes de la presencia de $CaCl_2$, ya que los geles más elásticos y más duros se obtuvieron en estas condiciones. Esto sería debido al proceso de agregación causada por la interacción de calcio con las proteínas desnaturalizadas o con el Car cuando la proteína estaba nativa. Geles fuertes y elásticos se obtuvieron para todas las formulaciones.

Este estudio indica que los CPSc se podrían utilizar satisfactoriamente para obtener geles mixtos con Car, ya presentaron interesantes propiedades de textura y reológicas. Otros estudios que exploren las propiedades sensoriales y nutricionales son necesarios para utilizar estas matrices en los alimentos reales y confirmar la potencialidad de estas fuentes alternativas de proteínas.

BIBLIOGRAFÍA

Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official Methods of Analysis, 18th ed.Association of Official Analyst Chemists, Gaithersburg, MD.* U.S.A: Dr. William Horwitz.

Atra, R., Vatai, G., Bekassy-Molnar, E., & Balint, A. (2005). Investigation of ultra and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *Journal Food Engineering*, 67, 325-332.

Baldasso, C., Barros, T. C., & Tessaro, I. C. (2011). Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, 278, 381-386.

Beaulieu, M., Corredig, M., Turgeon, S. L., Wicker, L., & Doublier, J. (2005). The formation of heat induced protein aggregates in whey protein/pectin mixtures studied by size exclusion chromatography coupled with multi-angle laser light scattering detection. *Food Hydrocollids*, 19, 803-812.

Boumba, V. A., Voutsinas, L. P., & Philippopoulos, C. D. (2001). Composition and nutritional value of commercial dried whey products from feta cheese manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, 54, 141-145.

Capron, I., Nicolai, T., & Durand, D. (1999). Heat induced aggregation and gelation of b-lactoglobulin in the presence of k-carrageenan. *Food Hydrocolloids*, 13, 1-5.

Clark, A. H., & Ross-Murphy, S. B. (1987). Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Adv. Polym. Sci.*,83, 57–192.

Delaney, R. A. (1976). Composition, properties and uses of whey protein concentrates. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 29, 91–101.

Flett, K. L., & Corredig, M. (2009). Whey protein aggregate formation during heating in the presence of k carrageenan. *Food Chemistry*, 115, 1479-1485.

Hach, C. C., Brayton, S. V., & Kopelove, A. B. (1985). A powerfull Kjeldahl nitrogen method using peroxymonosulfuric acid. *Journal Agricultural Food Chemist*, 33, 1117-1123.

Harrington, J. C., Foegeding, E. A., Mulvihill, D. M., & Morris, E. R. (2009). Segregative interactions and competitive binding of Ca2+ in gelling mixtures of whey protein isolate with Na+ k-carrageenan. *Food Hydrocolloids* , 23, 468–489.

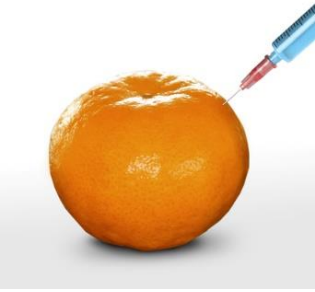
Heilig, A., Göggerle, A., & Hinrichs, J. (2009). Multiphase visualisation of fat containing b-lactoglobulin–k carrageenan gels by confocal scanning laser microscopy, using a novel dye, V03-01136, for fat staining. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 646–653.

Kinsella, E., & Whitehead, D. M. (1989). Proteins in whey: chemical, physical and functional properties. *Advances in Food and Nutrition Research*, 33, 343–438.

Lara-Villoslada, F., Olivares, M., Jiménez, J., Boza J., & Xaus, J. (2004). Goat Milk is Less Immunogenic than Cow Milk in a Murine. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 39, 354–360.

Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., & Randall R.J. (1951). Protein measurements with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.

Lutz, R., Aserin, A., Portnoy, Y., Gottlieb, M., & Garti, N. (2009). On the confocal images and the rheology of



whey protein isolated and modified pectins associated complex. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 69,43–50.

Marshall, A. D., Munro P. A., & Trägårdh, G. (1993). The effect of protein fouling in microfiltration and ultrafiltration on permeate flux, protein retention and selectivity: A literature review. *Desalination*, 91, 65-108.

McDonough, F. E., Hargrove R. E., Mattingly, W. A., Posati, L. P., & Alford, J. A. (1974). Composition and properties of whey protein concentrates from ultrafiltration. *Journal of Dairy Science*, 57, 1438-1443.

Miller, G. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical CHemistry*, 32, 426-428.

Mulvihill, D. M., & Kinsella, J. E. (1988). Gelation of beta-lactoglobulin: Effects of sodium choloride and calcium chloride on the rheological and structural properties of gels. *Journal of Food Science*, 53, 231-236.

Ould Eleya, M. M., & Turgeon, S. L. (2000 a). The effects of pH on the rheology of b-lactoglobulin / k carrageenan mixed gels. *Food Hydrocolloids*, 14, 245-251.

Ould Eleya, M. M., & Turgeon, S. L. (2000 b). Rheology of k-carrageenan and b- lactoglobulin mixed gels. *Food Hydrocolloids*, 14, 29–40.

Palatnik, D. R., Ostermann Porcel, M. V., González, U., Zaritzky, N., & Campderrós, M. E. (2015).
Recovery of caprine whey protein and its application in a food protein formulation. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 331-338.

Pandya, A. J., & Ghodke, K. M. (2007). Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. *Small Ruminant Research*, 68,193–206.

Quéguiner, C., Dumay, E., Cavalier, C., & Cheftel, J. C. (1989). Reduction of Streptococcus thermophilus in a whey protein isolate by low moisture extrusion cooking without loss of functional properties. *International Journal of Food Science Technology*, 24, 601-612.

Rektor, A., & Vatai, G. (2004). Membrane filtration of Mozzarella whey. *Desalination*, 162, 279-286.

Sanmartín, B., Diaz, O., Rodriguez-Turienzo, L., & Cobos, A. (2015). Properties of heat-induced gels of caprine whey protein concentrates obtained from clarified cheese whey. *Small Ruminant Research*, 123, 142-148.

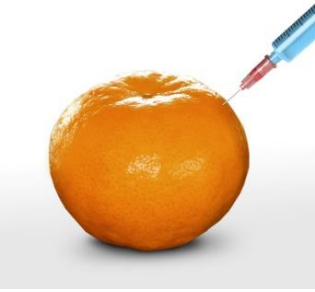
Sanmartín, B., Díaz, O., Rodríguez-Turienzo, L., & Cobos, A. (2013). Functional properties of caprine whey protein concentrates obtained from clarified cheese whey. *Small Rumiant Research*, 110, 52-56.

Sanmartín, B., Díaz, O., Rodríguez-Turienzo, L., & Cobos, A. (2012). Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey. *Small Ruminant Research*, 105, 186-192.

Schwab, C., Kulozik, U., & Kessler, H. G. (1993). Effect of structure controlled deposited layers on the retention of flavour compounds in reverse osmosis. *Desalination*, 90, 173-182.

Syrbe, A. (1997). Polymer incompatibility in aqueous whey protein and polysaccharide solutions: phase separation phenomena and microgel particle formation. *PhD thesis. Munich: Munich Technical University.*

Yamul, D. K., & Lupano, C. E. (2003). Properties of gels from whey protein concentrate and honey at different pHs. *Food Reserch International*, 36, 25-33.



Impacto de la estructura de HPMC en la modulación del proceso de lipólisis: Rol de las sales biliares

Bellesi F.A., Pizones Ruiz-Henestrosa, V.M., Pilosof A.M.R.

CONICET - Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria 1428, Buenos Aires, Argentina.
fernandobellesi@gmail.com

RESUMEN

Desde que el elevado consumo en lípidos ha sido asociado a numerosos problemas de salud (obesidad, problemas cardiovasculares, etc.) existe un interés creciente en el control de la digestión lipídica. En el presente trabajo, el comportamiento de dos hidroxipropilmetilcelulosas (HPMC) con diferente estructura molecular (E4M y E5LV) ha sido analizado. A partir de la digestión gastroduodenal *in vitro* se determinó que las emulsiones de E5LV fueron más resistentes al proceso de lipólisis que las estabilizadas por E4M. Esta diferencia no pudo atribuirse al área interfacial que crea cada emulsionante para la adsorción de la lipasa, sino más bien fue asociada a la capacidad de cada uno para interaccionar con las sales biliares (SB), que juegan un rol crucial durante la digestión de lípidos. A partir del análisis del grado de interacción entre cada HPMC y las SB, se concluyó que E4M (más hidrofílica) es más afectada por la presencia de SB. Posiblemente las SB se adsorben en mayor medida en la interfase formada por E4M produciendo mayor desarreglo molecular que en la interfase de E5LV, lo que daría lugar a un mayor número de sitios disponibles para la adsorción interfacial de la lipasa y en consecuencia al mayor grado de lipólisis observado.

Palabras Clave: Hidroxipropilmetilcelulosa, Sales Biliares, Lipólisis.

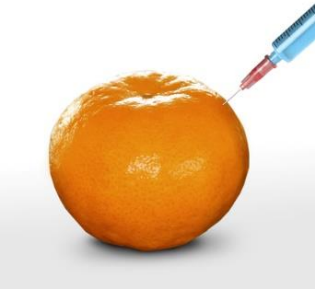
ABSTRACT

Since the high lipid consumption has been associated with an important number of health problems (obesity, cardiovascular diseases, etc.) exist a growing interest in the control of lipid digestion. In the present work, the behavior of two hydroxypropylmethylcelluloses (HPMC) with different molecular structure (E4M and E5LV) has been analyzed. During the *in vitro* simulated gastroduodenal digestion, it was demonstrated that E5LV emulsions were more resistant than E4M emulsions to the lipolysis process. This difference could not be associated with the interfacial area formed by each emulsified needed to the lipase adsorption but it was attributed to the interaction with bile salts (BS), that play a crucial role during the lipid digestion. From the analysis of the degree of interaction between each HPMC and BS, it was concluded that E4M (more hydrophilic than E5LV) is more affected by the presence of BS. It is possible that BS can adsorb more efficiently on the interface formed by E4M producing higher molecular disarrangement than in the interface formed by E5LV, which could produce more available sites for interfacial adsorption of pancreatic lipase and, consequently, produce the higher lipolysis degree observed.

Keywords: hydroxypropylmethylcellulose, Bile Salts, lipolysis.

INTRODUCCIÓN

Gran parte de las dietas hipercalóricas, consisten en alimentos procesados que deben sus atributos sensoriales a



la presencia de lípidos. Gracias a estos atributos, los alimentos con un alto contenido lipídico se convierten en una de las opciones más elegidas por los consumidores. En su mayoría, los lípidos se encuentran en forma emulsionada, distribuyéndose en forma de gotas de aceite en un medio acuoso continuo. Rodeando la superficie de las gotas, en la interfase aceite/agua (O/W), las sustancias anfifílicas forman la película interfacial característica aumentando la estabilidad del producto emulsionando.

El consumo elevado de alimentos hiperlipídicos se ha relacionado con numerosos problemas de salud (sobrepeso, obesidad, etc.). De hecho, según la OMS, los casos de obesidad se han incrementado significativamente en los últimos años, convirtiéndola en una enfermedad que ha alcanzado niveles de epidemia. Por lo tanto, con objeto de buscar una mejora del impacto que tienen las emulsiones sobre la salud de los consumidores, numerosos trabajos de investigación se han enfocado en el estudio de la digestión de emulsiones alimentarias (Pilosof 2016).

La digestión de los lípidos es un proceso complejo que requiere de la adsorción interfacial (interfase O/W) de la lipasa pancreática en presencia de SB y colipasa. Las SB son surfactantes biológicos que producen la emulsificación de los lípidos que llegan al duodeno, interfiriendo en la película interfacial de emulsionante adsorbida, con el propósito de unir el complejo lipasa/colipasa a la interfase O/W, además de aumentar el área interfacial disponible para la adsorción de la enzima. Otro rol de las SB consiste en la desorción y transporte de los productos de lipólisis, como los ácidos grasos, liberados a partir de los triglicéridos (TG), a través de la solubilizarían en forma de micelas hasta los enterocitos donde finalmente serán absorbidos (Golding y Wooster 2010).

Al ser a lipólisis una reacción interfacial, la manipulación de la región interfacial para el control del proceso ha cobrado cada vez mayor importancia y la ingeniería interfacial se ha convertido en una herramienta clave de estudio. En este contexto, la búsqueda de películas interfaciales que retarden (o inhiban) la digestión de las emulsiones representa un camino promisorio para el desarrollo de alimentos funcionales que reduzcan el riesgo de padecer las enfermedades asociadas a la elevada ingesta de lípidos.

En el presente trabajo se estudió si la hidrofobicidad y el peso molecular de dos HPMC afectan la extensión del proceso de lipólisis. Para ello se comparó el grado de lipólisis de emulsiones estabilizadas por dos tipos de HPMC: E5LV y E4M, que se diferencian principalmente en su hidrofobicidad y peso molecular (**Tabla 1**). Una vez determinado el grado de lipólisis de las emulsiones, se estudiaron sus interacciones con las SB ya sea en la interfase o en solución, debido a que esta interacción podría modular de la lipólisis.

Tabla 1. Características fisicoquímicas de las HPMC utilizadas

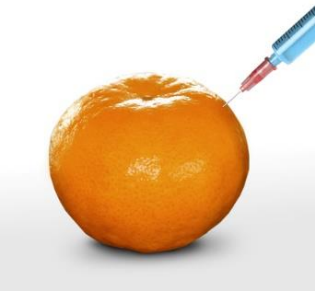
Características/HPMC	E4M	E5LV
% metilos	28,0	29,5
% hidroxipropilos	10,2	9,7
Relación metilos/ hidroxipropilos	2,3	3,0
Viscosidad (cp), solución2% p/p, 25°C	4965	5,4
Peso molecular (Da)	90000	2000

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Las hidroxipropilmetilcelulosas Methocell E5LV y E4M (Dow Chemical Company) fueron empleadas sin purificación posterior.

Se empleó aceite de girasol comercial como fase oleosa en la preparación de emulsiones. Se usó aceite purificado para las mediciones en interfases, para lo cual se dejó interactuar al aceite con un compuesto (Florisil)



atrapante de sustancias tensioactivas del aceite (ácidos grasos, fosfolípidos y monoglicéridos).

Métodos

Obtención de emulsiones O/W

Se prepararon emulsiones O/W (10/90) mediante la aplicación de ultrasonidos durante 20 min, usando un procesador ultrasónico (Vibra Cell Sonics) a una frecuencia de 20 kHz y una amplitud de 20%. La fase acuosa consistió en una solución de cada HPMC al 2% p/p.

Digestión gastroduodenal *in vitro* de las emulsiones.

Las emulsiones obtenidas se sometieron a un proceso de digestión gastroduodenal *in vitro*. La simulación gástrica (1 h) se llevó a cabo a partir de la utilización de un fluido formado por NaCl, $CaCl_2$, NaH_2PO_4 y KCl a pH 2,5, en presencia de concentraciones fisiológicas de pepsina y fosfatidilcolina. Finalizada la etapa gástrica, se ajustó el pH del digerido a 7 (NaOH) y la digestión continuó con la incorporación de una solución que simula al fluido duodenal (FIS: 39 mM de K_2HPO_4, 150 mM de NaCl y 30 mM de $CaCl_2$) con concentraciones fisiológicas de tripsina, quimotripsina, SB y lipasa pancreática (Singh y Sarkar 2011) por 1 hora. La mezcla se mantuvo en agitación controlada a 37ºC durante todo el proceso.

Determinación del grado de lipólisis

A partir de la neutralización de los ácidos grasos liberados (AGL) por la lipasa pancreática durante la etapa duodenal de la digestión, se determinó el % de AGL como:

$$\%AGL= ((V_{NaOH\,(t)} * M_{NaOH}*MW_{TG})/m_{TG}*2)*100 \quad (1)$$

donde V_{NaOH} y M_{NaOH} son el volumen y la molaridad del NaOH utilizado para mantener el pH del digerido en 7, MW_{TG} es el peso molecular promedio de un TG de aceite de girasol y m_{TG} corresponde a la masa de TG presentes al momento de incorporar la lipasa pancreática. La expresión considera que una molécula de TG da lugar a la liberación de 2 AG titulables (Li y McClements 2010).

Impacto de las SB sobre cada HPMC

Para determinar el efecto de las SB sobre cada HPMC, se trabajó bajo condiciones de digestión duodenal, utilizando concentracines fisiológicas de SB (5 mg/ml) preparadas en FIS y manteniendo la temperatura en 37°C durante las mediciones.

Análisis de tamaño de gota

Se determinó la distribución de tamaño de las gotas de aceite de cada emulsión en ausencia y presencia. Las determinaciones se realizaron utilizando un equipo analizador de partículas Mastersizer 2000.

Análisis de las propiedades interfaciales

Con la ayuda de un tensiómetro interfacial PAT-1(SINTERFACE Technologies, Alemania), se obtuvo la variación de la presión interfacial (□) y la elasticidad interfacial de la película de emulsionante en función del tiempo. Para llevar a cabo las mediciones se formó una gota con solución de HPMC en una cubeta que contiene el aceite de girasol purificado. Para analizar el impacto de las SB sobre la estructura interfacial de cada HPMC, se procedió a la adsorción secuencial de una solución de SB sobre la película interfacial formada previamente con cada polisacárido.

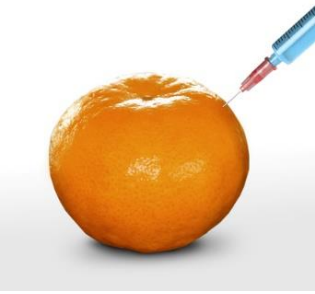
Determinación del potencial zeta (□)

Se utilizó un analizador Nano Zetasizer, de Malvern Instruments (Worcestershire, UK) para las mediciones del potencial □. Las determinaciones se realizaron sobre emulsiones estabilizadas por cada HPMC en ausencia y presencia de SB.

Distribución de tamaño de partícula por dispersión dinámica de luz

Utilizando el mismo analizador con el que se determinó el potencial □ se obtuvo el tamaño de partícula de las soluciones de HPMC, SB y sus mezclas, con objeto de determinar si existen interacciones entre las moléculas.

Determinación del punto gel (*Cloud point)*



A modo de evidenciar la existencia o no de interacciones entre las moléculas de HPMC y las SB en solución acuosa, se determinó la temperatura de cloud point de cada HPMC (1%) y su mezcla con soluciones de SB (1%). Para tal fin, en un baño seco a temperatura constante (70°C), se calentaron varios tubos conteniendo las diferentes soluciones. A tiempos sucesivos se retiraron de a un tubo por vez del baño y se observaron los cambios visualmente perceptibles en la solución. El cloud point, está dado por la aparición de un punto opaco en la muestra e indica el comienzo de las asociaciones entre las HPMC mediadas por interacciones hidrofóbicas, que antecede a la formación de un gel (Camino, Pérez et al. 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Figura 1** muestra el perfil de liberación de los ácidos grasos durante la digestión duodenal *in vitro*, obtenido para cada una de las emulsiones (Ecuación (1)). Para ambas HPMC, se observó un rápido incremento en el % AGL durante los primeros minutos, previo a alcanzar un valor de pseudoequilibrio. Al trabajar con una concentración suficiente de lipasa su adsorción en la interfase O/W es casi inmediata a su incorporación al medio de reacción, por lo que el proceso de lipólisis comienza de manera inmediata. La disminución posterior, puede asociarse con la acumulación interfacial de AGL en las gotas de aceite, que al presentar actividad interfacial, permanecen en la interfase actuando como inhibidores de la lipasa, reduciendo su actividad (Gallier, Tate et al. 2013).

A partir de la **Figura 1**, se concluye que las emulsiones de E4M fueron más susceptibles al proceso de lipólisis que las estabilizadas por E5LV, presentando una mayor extensión en el % AGL hacia el final de la etapa duodenal.

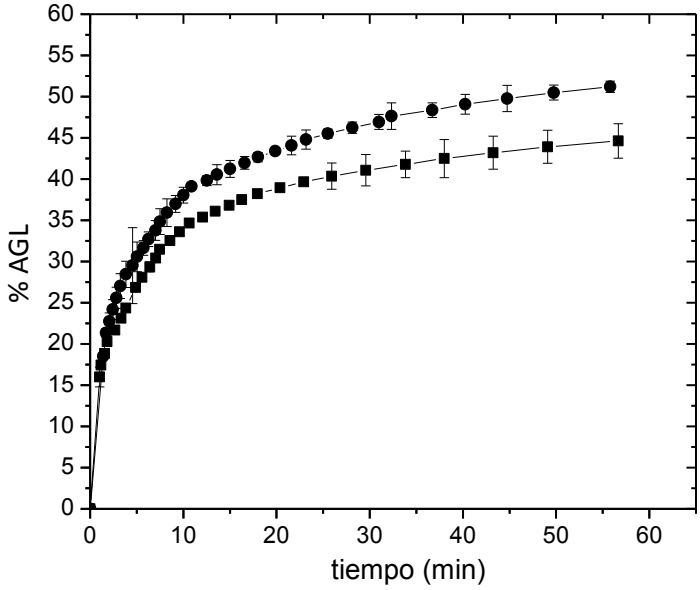


Figura 1. Liberación de ácidos grasos en el tiempo durante la fase duodenal de la digestión *in vitro* de emulsiones (10/90) de HPMC al 2% p/p: E5LV (■) y E4M (●).

Con el propósito de analizar el impacto del tamaño de las gotas de aceite, que determinan el área interfacial disponible para la adsorción de la lipasa, se analizaron las distribuciones de tamaño de gota de las emulsiones O/W iniciales y de sus mezclas con SB. En la **Figura 2** se observa que las emulsiones estabilizadas por E5LV

presentaron una distribución caracterizada por una población mayoritaria de 1,5 m acompañada por un hombro a 0,3 m. Las emulsiones de E4M presentaron una distribución con una población mayoritaria con un tamaño de 1,4 m. Pero cuando se mezcló cada emulsión con las SB, los resultados obtenidos indicaron que no tuvo lugar un cambio importante, ya sea al momento de realizar la mezcla (t_0 min) o una hora después (t_{60} min), lo cual indicaría que ambos sistemas son estables bajo las condiciones de digestión duodenal en presencia de SB. Es decir, que el tamaño de las gotas de aceite, que determina el área interfacial, no justifica la diferencia en el grado de lipolisis observado, indicativo de la existencia de otros factores que determinan la extensión del proceso.

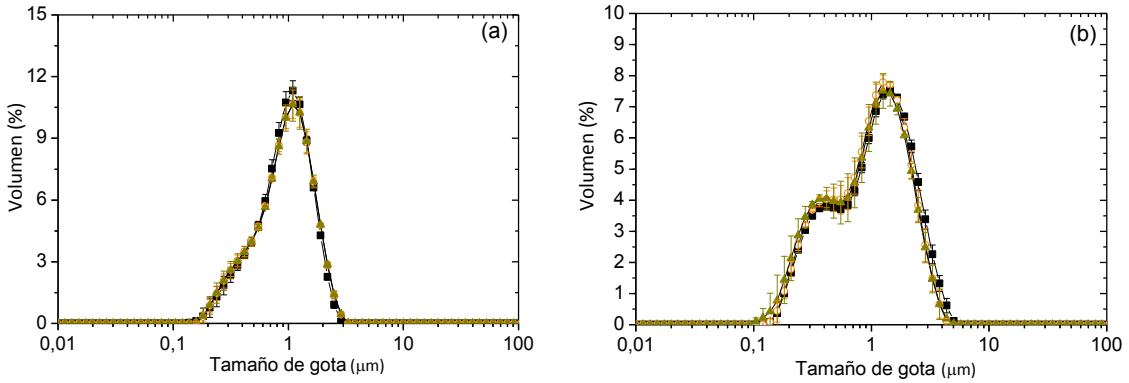


Figura 2. Distribución de tamaño de gota en volumen para emulsiones O/W de HPMC (E5LV (a) y E4M (b)) iniciales (■) y luego de mezclarse con SB (en el momento de la mezcla (t_0 min, O) y una hora después (t_{60} min, ▲)) bajo condiciones de digestión duodenal a 37°C.

Al ser la lipólisis un proceso interfacial resulta necesario analizar cómo las propiedades mecánicas de la película interfacial de emulsionante impactan en la adsorción de las SB. Con este fin, se evaluó el efecto que presentan las SB sobre la película interfacial formada con cada HPMC utilizando un tensiómetro interfacial de gota. La concentración de HPMC utilizada fue 0,5%, valor suficiente para conseguir la saturación interfacial (Camino et al. 2009). La incorporación de las SB se realizó a los 8000 s de haberse formado la película interfacial de cada HPMC, ya que éste representa un tiempo suficientemente largo en el cual ambas HPMC han saturado la interfase O/W y los valores de han alcanzado condiciones de pseudoequilibrio.

Al analizar la variación de con el tiempo (Figura 3a se observa que tras la incorporación de SB, los valores aumentan de forma instantánea alcanzando, al final de la medida, el valor correspondiente a las SB solas, indicativo de que ambas películas serían penetradas por las SB.

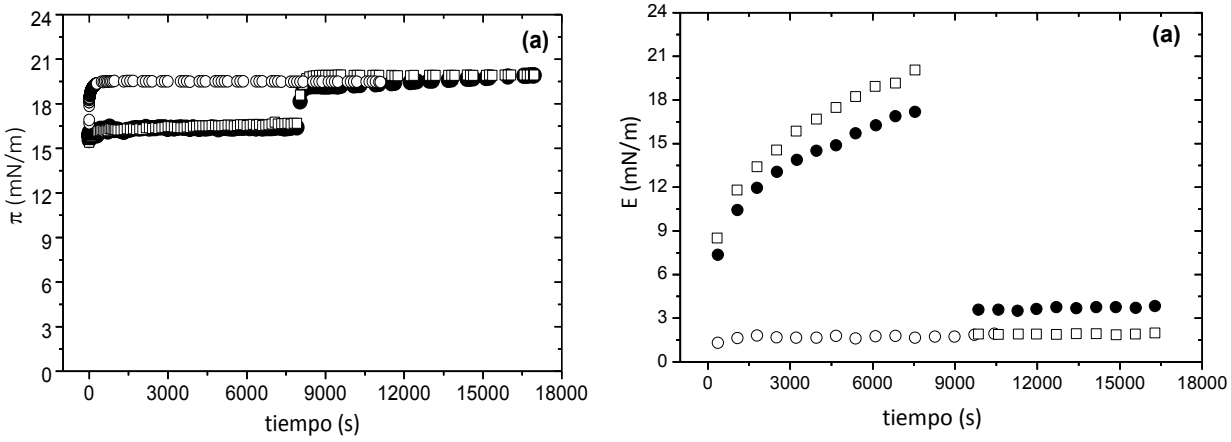
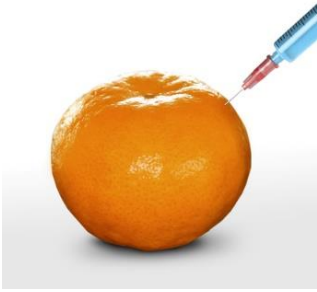


Figura 3. Variación de (a) y de E (b) con el tiempo a 37°C tras la adición secuencial de una solución de SB



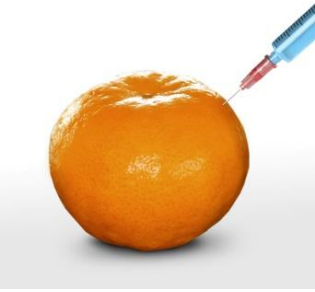
sobre películas interfaciales de HPMC: E5LV (□) y E4M (●), a 0,5% p/p. Como referencia se muestra el resultado de SB a 5 mg/ml (O).

Respecto al módulo dilatacional interfacial (E), los menores valores obtenidos para E4M (**Figura 3b**) reflejan el menor carácter elástico de la película interfacial, lo cual puede ser atribuido al menor grado de sustitución en grupos metilos (**Tabla 1**), lo que disminuye su hidrofobicidad y por ende su asociación interfacial. A pesar de que ambos sistemas se caracterizaron por la formación de una película con elevados valores de E, se observó un comportamiento similar luego de la inyección de las SB, donde los parámetros disminuyeron rápidamente alcanzando valores muy bajos, similares a los obtenidos por la disolución de SB (mostrados como referencia), lo que indicaría que las películas interfaciales serían bastante perturbadas tras la adsorción de las SB, dando como resultado la formación de una interfase de carácter elástico muy pobre.
A partir de estos resultados puede concluirse que estas moléculas penetran en ambas películas interfaciales causando un importante desarreglo molecular e interrumpiendo las interacciones que se establecen entre las HPMC adsorbidas (Bellesi, Pizones Ruiz-Henestrosa, et al. 2014). Sin embargo, ambas HPMC exhibieron un comportamiento similar en respuesta a la adsorción interfacial de las SB, por lo cual no es posible explicar las diferencias encontradas en el grado de lipólisis, en base a su resistencia a la penetración interfacial de las SB.
A continuación, se evaluó el impacto de las SB sobre la carga superficial (potencial □) de las gotas de aceite de cada emulsión (**Tabla 2**). Al tratarse de polisacáridos no iónicos, el valor determinado para las emulsiones en ausencia de SB fue prácticamente nulo (Camino et al. 2009). Sin embargo, cuando se mezclaron con las SB ambas emulsiones mostraron un comportamiento muy similar, arrojando valores más negativos que el de las emulsiones iniciales, indicativo de que las SB han penetrado en la interfase formada por cada HPMC, fenómeno que está en concordancia con los resultados determinados al analizar los parámetros interfaciales. Sin embargo, los valores obtenidos se encuentran por encima al reportado para las SB solas, hecho que refleja que las HPMC permanecen adsorbidas en la interfase, reduciendo la carga negativa a portada por las SB.

Tabla 2. Potencial □ de las emulsiones iniciales (E5LV y E4M) y luego de mezclarlas con SB bajo condiciones de digestión duodenal. El potencial □ reportado para una emulsión estabilizada por SB (5 mg/ml) es < – 40 mV (Sarkar, Ye, et al. 2016).

HPMC	Potencial □ (mV) Sin SB	Potencial□□ (mV) Con SB
E5LV	-1,23 ± 0,07	-7,13 ± 0,8
E4M	-0,54 ± 0,24	-4,01 ± 0,8

Los resultados obtenidos indican que las SB desestructuran ambas películas, pero no evidencian un desplazamiento total de los polisacáridos, ya que no se produce un cambio esperado respecto a la carga superficial de las gotas de aceite o en el tamaño de sus emulsiones. Sin embargo, el comportamiento obtenido para ambas HPMC es muy similar, independientemente de sus diferencias fisicoquímicas. Por lo tanto no es posible atribuir las diferencias encontradas en el grado de lipólisis al área interfacial que crea cada HPMC o las propiedades reológicas de la película interfacial que forman.
Por este motivo, se estudiaron a continuación, las interacciones entre cada HPMC y las SB en solución acuosa, a fin de evidenciar si el grado de interacción entre ambas influye en la disponibilidad de las SB.
Debido a su naturaleza anfifílica, las SB pueden autoensamblarse en solución acuosa formando micelas estabilizadas principalmente por interacciones hidrofóbicas (Maldonado-Valderrama, Wilde, et al. 2011). La capacidad de las SB para interactuar con otros componentes en solución podría alterar su capacidad de autoensamblaje, afectando el tamaño de la micela resultante. Por este motivo, en primer término se evaluó el impacto que presenta la presencia de cada HPMC sobre la capacidad de asociación de las moléculas de SB, bajo



condiciones de digestión duodenal.
En la **Figura 4** se observa la distribución de tamaño en volumen de las micelas de SB. Se puede observar que, en las condiciones de estudio, las SB forman dos poblaciones de micelas: una con un tamaño promedio de 460 nm y otra menos importante de 106 nm.

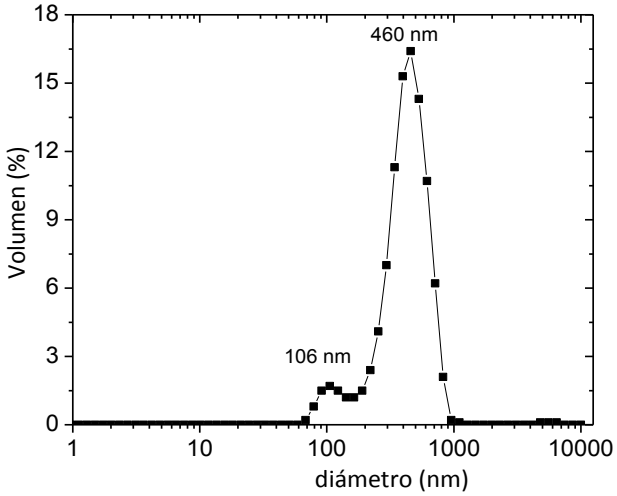


Figura 4. Distribución de tamaño de partícula expresada en volumen para una solución de SB (5 mg/ml).

Respecto a las HPMC, se observó que la E5LV se caracterizó por presentar una distribución monomodal, con una población de 7,5 nm de diámetro (**Figura 5a**), mientras que la solución de E4M presentó una distribución bimodal con un pico principal a 18,2 nm (**Figura 5b**). Del ancho de la base de la distribución de ambas HPMC puede concluirse que se trata de soluciones polidispersas, indicativo de la existencia de asociaciones o clusters entre las HPMC. El autoensamblaje de las HPMC se debe al alto grado de sustitución con grupos metilos lo cual permite la existencia de fuertes interacciones hidrofóbicas (Camino, et al. 2009).

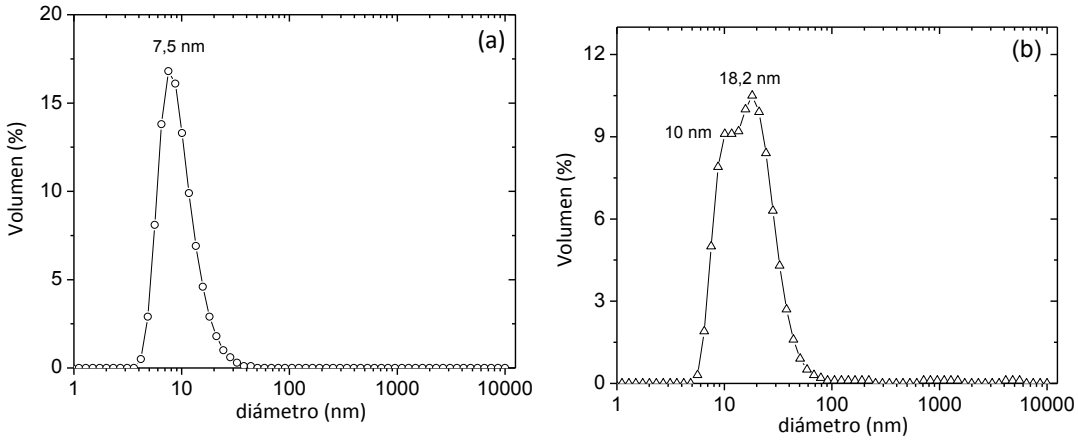
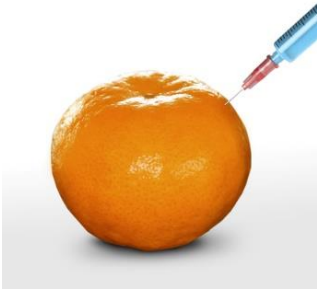


Figura 5. Distribución de tamaño de partícula expresada en volumen para una solución de E5LV (a) y E4M (b). Ambos a una concentración de 0,5% p/p.

A igual concentración de polisacárido, E5LV forma clusters de menor tamaño que E4M. Este comportamiento puede atribuirse al mayor peso molecular de E4M (**Tabla 1**) y a la mayor tendencia a la asociación al aumentar



el peso molecular (Funami, et al. 2007).
La distribución de tamaño para el sistema mixto formado por las SB y cada HPMC (**Figura 6**), muestra en ambos casos la desaparición del pico correspondiente a las micelas de SB, indicativo de que las SB se han unido a los polisacáridos, rompiéndose la estructura micelar característica observada en la **Figura 4**.
Para el caso de E5LV (**Figura 6a**) resulta que el pico correspondiente al polisacárido se mantiene casi sin cambios, lo que indicaría que, si bien E5LV interfiere en el grado de interacción entre las SB, estas últimas no afectan al grado de interacción entre las moléculas de E5LV, que mantiene el tamaño del cluster característico.

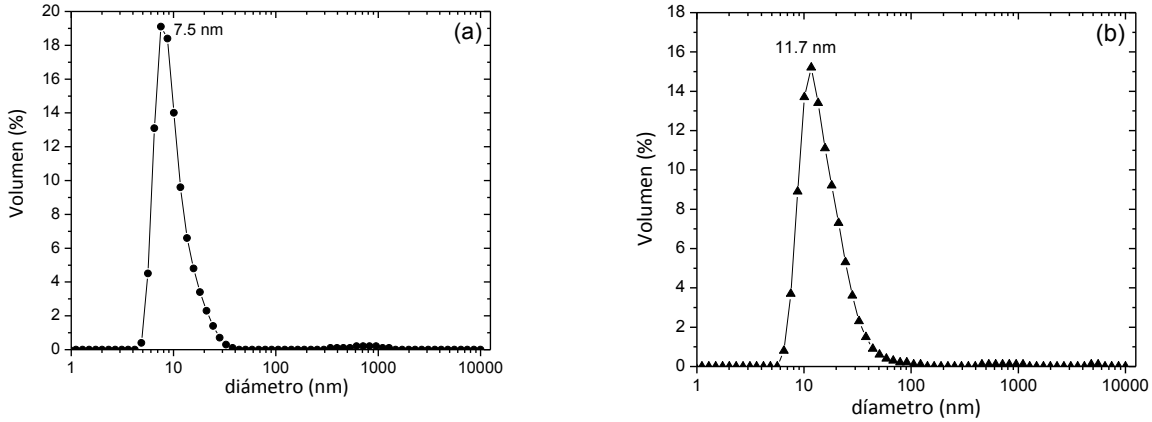


Figura 6. Distribución de tamaño de partícula expresada en volumen para soluciones de HPMC (0,5% p/p) mezcladas con solución de SB (5 mg/ml): E5LV (a) y E4M (b).

Para el sistema formado por E4M y SB (**Figura 6b**) se observó, no solo que el agregado micelar de SB había desaparecido, sino que también se evidenció la casi "disolución" del cluster de mayor tamaño (18,2 nm) de E4M. Al tratarse de polisacáridos no iónicos, su carga neta es "cero" (**Tabla 2**), lo que favorece la formación de clusters de gran tamaño, ya que la repulsión electrostática entre las moléculas es prácticamente nula. Sin embargo, cuando las SB interaccionan con las moléculas de HPMC le aportan carga negativa aumentando el grado de repulsión entre estas moléculas, disminuyendo su tendencia a la formación de clusters.
Según Torcello-Gómez, et al. (2015) los ésteres de celulosa son más sensibles a la penetración de las SB cuanto mayor es el grado de sustitución de grupos hidroxipropilos en la molécula. De hecho, E5LV presenta una mayor relación entre grupos metilos/hidroxipropilos que E4M (**Tabla 1**), lo que podría explicar la mayor resistencia de los clusters de E5LV frente a la disolución llevada a cabo por las SB.
Por lo tanto, puede concluirse que se establecen interacciones entre las HPMC y las SB en solución acuosa pero estas dependen del tipo de sustituyente y el patrón de sustitución de la celulosa.
Por último, se determinó la temperatura de cloud point (T*cp*) de cada sistema en ausencia y presencia de SB.
En el primer caso, se observó que la T*cp* fue menor para E4M que para E5LV (**Figura 7**), lo que indica que E4M exhibe una mayor tendencia a la agregación que E5LV, lo cual está en concordancia con lo indicado por Sarkar (1979), quien reportó que los derivados de celulosas de mayor peso molecular exhiben una menor T*cp*, debido a su mayor tendencia para asociarse.

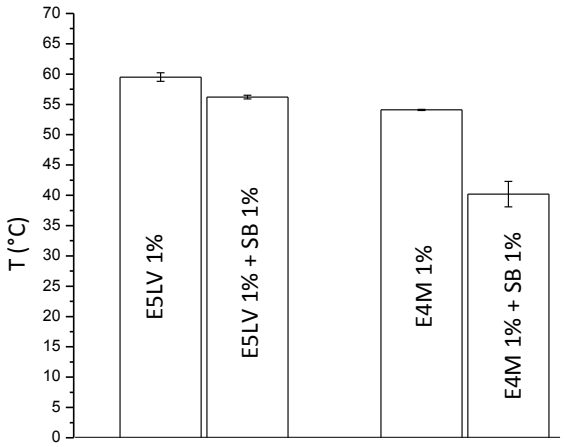
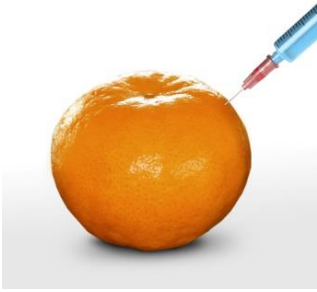


Figura 7. Temperatura de cloud point correspondiente a cada HPMC y sus mezclas con SB.

Cuando las soluciones de cada HPMC fueron calentadas en presencia de SB se observó una disminución en los valores de T*cp*, lo cual indica que las SB interfieren en las interacciones hidrofóbicas que determinan la asociación en cada HPMC.
El hecho de que la adsorción de SB aumente la carga negativa en las moléculas de HPMC (**Tabla 2**), aumentaría la repulsión electrostática entre sus cadenas, facilitando el desarreglo molecular que se promueve durante el calentamiento. Al comparar las HPMC entre sí, se observó que el cambio en esta temperatura fue mucho más evidente para E4M (14°C) que para E5LV (3°C), lo que indicaría nuevamente que esta HPMC sería más susceptible a las SB.

CONCLUSIONES
Las emulsiones de HPMC estudiadas presentaron diferencias en cuanto a la extensión del proceso de lipólisis. No fue posible atribuir estas diferencias a las características fisicoquímicas de estas HPMC, ni al área interfacial disponible para la adsorción de la lipasa. Los resultados encontrados más bien indican que la diferente susceptibilidad al proceso dependería de eventos moleculares que involucran la adsorción interfacial de las SB. Aunque ambas HPMC mostraron capacidades similares para "secuestrar" a las SB en solución acuosa, surgen algunas particularidades al considerar la relación de grupos metilos/ hidroxipropilos que sustituyen ambas moléculas. Según Torcello-Gómez y Foster 2014, las celulosas más hidrofílicas presentan mayor sensibilidad a la presencia de las SB. Este comportamiento es concordante con los presentes resultados, donde se vio que los agregados de E4M, la HPMC más hidrofílica fueron más afectados por la presencia de SB, en comparación con los agregados formados por moléculas de E5LV más hidrofóbica.
En base a estos resultados se podría pensar que la diferencia observada en el grado de lipólisis estaría asociada a la mayor desestructuración que producen las SB sobre la película de E4M. En la **Figura 8** se propone un modelo para explicar con mayor claridad estas conclusiones.
El modelo planteado muestra, en primer término, que la interfase O/W se encuentra estabilizada principalmente por interacciones hidrofóbicas establecidas entre las moléculas adsorbidas de HPMC, independientemente del tipo de HPMC involucrada. En estas condiciones la carga neta de la interfase y, por lo tanto, de las gotas de aceite de la emulsión es cercana a cero. Durante la adsorción de las SB se produce una gran interrupción de estas interacciones en ambos casos, lo que determinaría que las películas pierdan su carácter elástico y las gotas de



aceite adquieran carga superficial negativa. Si bien la perturbación es muy importante en ambos sistemas, al ser la película de E4M la que presenta mayor carácter hidrofílico sería en la que se produciría el mayor desarreglo molecular. Como consecuencia de esta mayor perturbación, las cadenas de E4M se separan más entre sí aumentando los sitios disponibles para la adsorción de la lipasa pancreática en comparación con E5LV, mas hidrofóbica. La mayor separación de las cadenas de E4M adsorbidas y, en consecuencia la mayor adsorción de la lipasa pancreática (en asociación con la colipasa), daría lugar al mayor grado de lipólisis obtenido con las emulsiones de E4M.

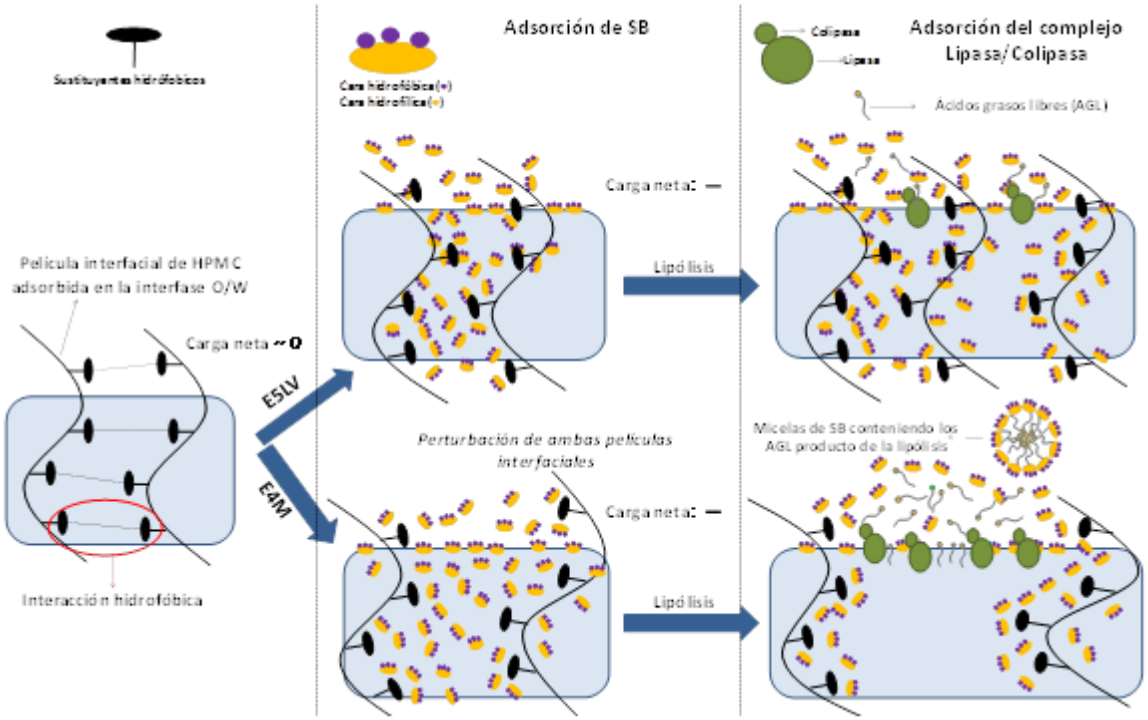


Figura 8. Representación esquemática del modelo propuesto: Las SB producen mayor desarreglo en E4M aumentando los sitios disponibles para la adsorción de la lipasa en mayor medida que en E5LV, lo que resulta en un mayor grado de lipólisis.

BIBLIOGRAFÍA

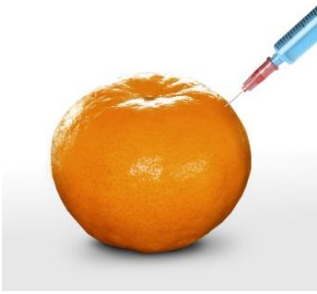
Bellesi, FA, Pizones Ruiz-Henestrosa, VM, Pilosof, AMR. 2014. Behavior of protein interfacial films upon bile salts addition. Food Hydrocolloids, 36: 115-122.

Camino, NA, Pérez, OE, Sanchez, CC, Rodriguez Patino, JM, Pilosof, AMR. 2009. Hydroxypropylmethylcellulose surface activity at equilibrium and adsorption dynamics at the air–water and oil–water interfaces. Food Hydrocolloids, 23: 2359-2368.

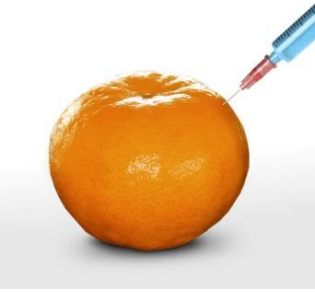
Funami, T, Kataoka, Y, Hiroe, M, Asai, I, Takahashi, R, Nishinari, K. (2007). Thermal aggregation of methylcellulose with different molecular weights. Food Hydrocolloids, 21: 46-58.

Gallier, S, Tate, H, Singh, H. 2013. In vitro gastric and intestinal digestion of a walnut oil body dispersion. Journal of Agricultural Food Chemestry, 61: 410-417.

Golding, M, Wooster, TJ. 2010. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. Current



Opinion in Colloid & Interface Science, 15: 90-101.
Kato, Yokoyama, M, Takahashi, A. 1978. Melting temperatures of thermally reversible gels IV. Methyl cellulose-water gels. Colloid and Polymer Science, 256: 15–21.
Maldonado-Valderrama, J, Wilde, P, Macierzanka, A, Mackie, A. 2011. The role of bile salts in digestion. Advances in Colloid and Interface Science, 165: 36-46.
McClements, DJ. 2015. Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques. 3ª ed. USA: CRC Press.
McClements, DJ, Li, Y. 2010. Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. Advances in Colloid and Interface Science, 159: 213-228.
Pilosof, AMR. 2016. Potential impact of interfacial composition of proteins and polysaccharides stabilized emulsions on the modulation of lipolysis. The role of bile salts. Food Hydrocolloids.
Sarkar, A, Ye, A, Singh, H. 2016. On the role of bile salts in the digestion of emulsified lipids. Food Hydrocolloids, 60: 77-84.
Sarkar, N. 1979. Thermal gelation properties of methyl and hydroxypropyl methylcellulose. Journal of Applied Polymer Science, 24: 1073–1087.
Torcello-Gomez, A, Fernandez Fraguas, C, Ridout, MJ, Woodward, NC, Wilde, PJ, Foster, TJ. (2015). Effect of substituent pattern and molecular weight of cellulose ethers on interactions with different bile salts. Food Funct, 6: 730-739.
Torcello-Gómez, A, Foster, TJ. 2014. Interactions between cellulose ethers and a bile salt in the control of lipid digestion of lipid-based systems. Carbohydrate Polymers, 113: 53-61.



Desarrollo de emulsiones aceite en agua con elevado contenido lipídico para dietas cetogénicas

Benitez L.O. [(1)] , Salgado P.R. [(2)] , Añón M.C. [(2)]

(1) Facultad de Ciencias de la Alimentación – UNER, Concordia, Entre Ríos, Argentina.
(2) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, CONICET – UNLP), Buenos Aires, Argentina.
lucasobenitez@hotmail.com

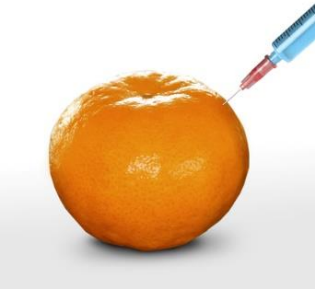
RESUMEN
La dieta cetogénica se ha indicado efectiva en el tratamiento de la epilepsia refractaria. Este régimen alimentario promueve la ingesta de elevadas fracciones lípidicas, y bajas en carbohidratos y proteínas. El objetivo de este trabajo fue obtener y caracterizar emulsiones de aceite en agua (O/W) para ser utilizadas en el desarrollo de alimentos con elevado contenido lipídico, capaces de ser incluidos en la dieta cetogénica. Se formularon emulsiones con distintas relaciones de aceite:carbohidratos+proteínas y distintas relaciones de fases. Se preparó una dispersión acuosa de harina de soja y se pre-emulsificó con aceite de arroz utilizando un homogeneizador Ultraturrax. La pre-emulsión se sometió a 150 bar en un homogeneizador de válvula durante 1 o 5 etapas de homogeneización. Las emulsiones resultantes fueron almacenadas en refrigeración y en reposo. Todas las emulsiones obtenidas presentaron distribuciones bimodales de tamaño de gotas y elevados valores de luz dispersada. El aumento en el número de etapas de homogeneización permitió obtener emulsiones con distribuciones de tamaño de partículas más homogéneas. La mayoría de las emulsiones estudiadas resultaron estables durante siete días de almacenamiento. Las emulsiones formuladas resultan promisorias para desarrollar alimentos con elevado contenido lipídico.

Palabras clave: Estabilidad de emulsiones O/W, Aceite de arroz, Harina de soja, alimentos con alto contenido lipídico.

ABSTRACT
The ketogenic diet has been shown to be effective in the treatment of refractory epilepsy. This diet promotes the ingestion of high lipid fractions, low in carbohydrates and proteins. The objective of this work was to obtain and characterize oil-in-water emulsions (O/W) to be used in the development of foods with high lipid content, capable of being included in the ketogenic diet. Emulsions with different ratios of oil: carbohydrates + proteins and different phase rations were formulated. An aqueous dispersion of soybean meal was prepared and pre-emulsified with rice oil using an Ultraturrax homogenizer. The pre-emulsion was then subjected to 150 bar in a valve homogenizer during 1 or 5 homogenization steps. The resulting emulsions were stored under refrigeration and at rest. All emulsions obtained showed bimodal droplet size distributions and high values of light scattered. The increase in the number of homogenization steps allowed obtaining emulsions with more homogeneous particle size distributions. Most of the studied emulsions were stable for seven days of refrigerated storage. The formulated emulsions are promising for the development of foods with high lipid content.

Keywords: O/W emulsion stability, rice oil, soybean flour, high lipid content food.

INTRODUCCIÓN



La dieta cetogénica (DC) es un régimen alimentario donde el mayor aporte calórico proviene de los lípidos, limitándose la ingesta de carbohidratos y proteínas. Los alimentos básicos incluidos en la dieta cetogénica son crema de leche, manteca, mayonesa, aceite, queso, tocino y huevos, y se complementan con carne, pescado, nueces, frutas y verduras. Sin embargo, para lograr la proporción adecuada de macrocomponentes, se deben conocer las cantidades y la composición nutricional de cada uno de los alimentos ingeridos (Armeno et al., 2014). La DC es una alternativa terapéutica actualmente aceptada para tratar pacientes epilépticos refractarios a fármacos antiepilépticos ya sean niños o adultos (Freeman et al., 1998, Kossoff et al., 2009, Stafstrom y Rho 2012). Pero, al mismo tiempo, es un régimen alimentario restrictivo y estricto, de difícil aceptación y continuidad para el paciente (Armeno et al., 2014). El desarrollo de productos alimenticios que respeten dichas proporciones, en particular la formulación de emulsiones O/W, se presenta como un desafío interesante para la industria alimentaria. Las emulsiones O/W son sistemas termodinámicamente inestables cuyas características y propiedades dependen de la composición de las fases acuosa y oleosa, de los compuestos tensioactivos, de la técnica de emulsificación y de las condiciones de almacenamiento, entre otros factores (McClements 1999). El aceite de arroz es rico en ácidos oleico, linoleico y palmítico, y también posee antioxidantes como tocoferoles, oryzanol y tocotrienoles que han resultado ser beneficiosos para la prevención de enfermedades cardiovasculares (Kris-Etherton, 2002), por lo que resulta atractivo para utilizarse como fase oleosa en la formulación de emulsiones O/W. Si bien este aceite es ampliamente utilizado en países asiáticos y en Estados Unidos como aditivos en alimentos, productos farmacéuticos y en la producción de piensos para animales (Orthoefer, 2005). Por otra parte, estudios muestran que las proteínas de soja son capaces de formar y estabilizar emulsiones (Kinsella 1979, Aoki et al., 1981). El empleo de harinas de soja con elevado contenido proteico, que además contienen carbohidratos y lípidos, resulta promisorio para la formulación de emulsiones O/W que respeten las proporciones de nutrientes definidas por la dieta cetogénica. En este contexto, el obtener emulsiones de aceite en agua (O/W) para ser utilizadas en el desarrollo de alimentos con elevado contenido lipídico, capaces de ser incluidos en la dieta cetogénica; evaluando el efecto de la formulación y del procesamiento sobre la formación y estabilidad de las emulsiones resultantes fueron realizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El aceite de arroz de la firma Saman S.A. fue adquirido en la ciudad de Salto, República Oriental del Uruguay. La harina de soja con alto porcentaje en proteínas fue suministrado por la firma América Pampa S.A. de la ciudad de Buenos Aires, Argentina. Todos los reactivos empleados fueron de grado analítico.

Caracterización del aceite de arroz

Se determinó la composición de ácidos grasos por cromatografía gaseosa (GC) de acuerdo al método estandarizado IUPAC 2.302.

Caracterización de la harina de soja

Se determinó el contenido de agua mediante un determinador electrónico a 105°C, el contenido proteico por método Kjeldahl (N x 6,25), lípidos por el método de Soxhlet empleando *n*-hexano como solvente, cenizas por método gravimétrico, carbohidratos por el método de diferencias y fibras por el método de filtro cerámico (AOAC, 2005).

Preparación de las emulsiones aceite en agua (O/W)

Se formularon emulsiones O/W empleando aceite de arroz como fase oleosa y una dispersión acuosa de harina de soja como fase acuosa. Se obtuvieron emulsiones con diferentes relaciones cetogénica contenido lipídico: contenido de carbohidratos+proteínas (5:1, 4:1 y 3:1 p/p) y diferentes relaciones de fases (phi) (0,2, 0,25 y 0,3). La **Tabla 1** muestra la cantidad de aceite de arroz, harina de soja y agua para cada una de las emulsiones estudiadas.

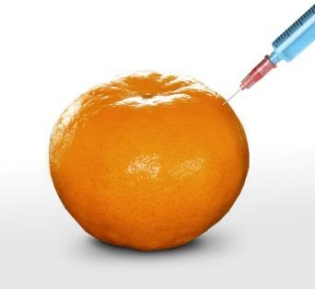


Tabla 1. Formulaciones de las emulsiones O/W.

	Relación cetogénica (*)					
	5:1			**4:1**		**3:1**
	phi = 0,30	**phi = 0,25**	**phi = 0,20**	**phi = 0,25**	**phi = 0,20**	**phi = 0,20**
Aceite de arroz (g)	88,51	73,75	59,00	73,44	58,75	58,34
Harina de soja (g)	23,35	19,46	15,56	24,32	19,46	25,94
Agua (g)	209,25	224,38	239,50	224,22	239,38	239,17

(*) Relación cetogénica: contenido de lípidos: contenido de carbohidratos+proteínas.

Se pesó en un vaso de precipitado la harina de soja, se le incorporó ¾ del agua destilada total de la formulación de la emulsión, la dispersión resultante se mantuvo en agitación a 1180 rpm durante 1 hora con el objetivo de hidratar los compuestos que conforman la harina. En otro vaso de precipitado se pesó la cantidad de aceite necesaria para cada una de las formulaciones. Transcurrido el tiempo de hidratación de la harina, se trasvasó el contenido de la dispersión al vaso que contenía el aceite. Con el ¼ agua destilada restante se lavó el vaso que contenía la dispersión y se lo trasvasó al vaso que contenía el aceite.

Se realizó la pre-emulsificación utilizando un equipo UltraTurrax T18 con rotor S18N-19G operado a 18,000 rpm por 90 s. La cantidad de emulsión ensayada para cada una de las formulaciones fue de 300 mL.

Las pre-emulsiones fueron homogenizadas a 150 bar usando un homogenizador de válvulas de altas presiones hidroestáticas (Panda 2000, GEA), realizando 1 y 5 recirculaciones.

Las emulsiones obtenidas se sometieron a almacenamiento estanco en temperatura de refrigeración (4°C) y al resguardo de la luz.

Caracterización de las emulsiones

Distribución de diámetro de partícula y parámetros D(4,3) y D(3,2)

La distribución de diámetros de partícula y los parámetros de diámetro medio De Broucker D (4,3) y Sauter D (3,2) de las partículas de las emulsiones fueron determinados utilizando un equipo de difracción laser (Malvern, Mastersizer 2000) a los días 0 y 7.

Estabilidad de las emulsiones

La estabilidad de las emulsiones se determinó cuantificando la dispersión de la luz que produce la muestra, utilizando el equipo Turbiscan Formulation. Se realizaron determinaciones a las 0 y 7 días El equipo cuantifica el porcentaje de backscattering (%BS) en función del largo del tubo (50-60 mm). A cada tiempo, se obtuvieron los valores promedios de %BS en las zonas inferior (zona 1) y superior (zona 2) del tubo de cada una de las emulsiones ensayadas, con el fin de determinar la estabilidad de las mismas.

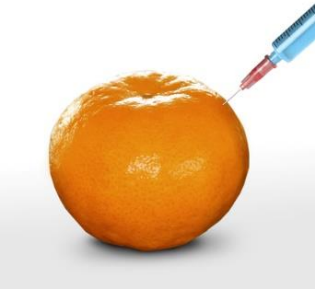
Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado mediante un ANOVA con un nivel de significancia del 5%. Se llevaron a cabo comparaciones de medias de acuerdo al test de comparaciones múltiples de Tukey con un valor de significancia de 0,05. Se validaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de los valores experimentales de acuerdo a los Tests de Kolmogorov-Smirnov y de Levenne respectivamente, ambos con un nivel de significancia del 5%. Todos los ensayos en este trabajo se realizan por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del perfil de ácidos grasos del aceite de arroz

En la **Tabla 2** se muestra la composición de ácidos grasos del aceite de arroz utilizado en este trabajo. Aproximadamente el 75% de los ácidos grasos de este aceite son insaturados, siendo los ácidos oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) los mayoritarios. De los ácidos grasos saturados, el palmítico (C16:0) es el más abundante.



Debido a su riqueza en ácidos grasos insaturados, el aceite de arroz resulta susceptible de sufrir fenómenos de auto-oxidación y enranciamiento. A su vez, el perfil lipídico de este aceite provee a las dietas un mejor aporte nutricional, sobre todo en la dieta cetogénica para pacientes epilépticos refractarios, donde es restringida la ingesta de alimentos.

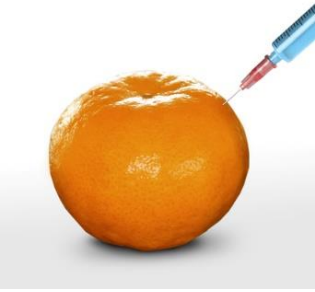


Tabla 2. Perfil lipídico del aceite de arroz.

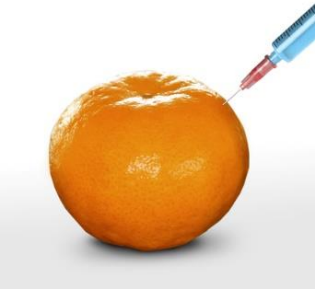
Ácido graso	Nombre	Porcentaje (%)
C18:1 N-9 CIS	ácido Oleico (w-9)	40,18 ± 2,05
C18:2 N-6 CIS	ácido Linoleico (w-6)	31,51 ± 1,63
C16:0	ácido Palmítico	16,7 ± 1,11
C18:0	ácido Esteárico	1,91 ± 0,36
C18:3 N-3	ácido Alfa Linolénico (w-3)	1,11 ± 0,05
C18:3 N-6	ácido Gama Linolénico (w-6)	0,71 ± 0,13
C20:1	ácido Pualinico o Gondoico	0,53 ± 0,03
C24:0	ácido Lignocérico	0,46 ± 0,18
C20:3 N-6	ácido Eicosatrienoico	0,3 ± 0,14
C14:0	ácido Mirístico	0,22 ± 0,02
C16:1	ácido Palmitoleico	0,18 ± 0,05
C20:0	ácido Araquídico	0,13 ± 0,01
C17:0	ácido Margárico	0,04 ± 0,01

Caracterización de la harina de soja

En la **Tabla 3** se presenta la composición química porcentual de la harina de soja empleada en este estudio. Cabe destacar que esta harina posee un elevado contenido proteico (≈ 50%) y que además posee cantidades apreciables de carbohidratos (≈ 27%) y lípidos (≈ 6%). Esta información se tuvo en cuenta para formular cada una de las emulsiones O/W con diferentes relaciones cetogénicas y relaciones de fases (phi) (**Tabla 1**).

Tabla 3. Composición química porcentual de la harina de soja con elevado contenido proteico.

Componente	Porcentaje (%)
Proteínas	49,81 ± 0,44
Carbohidratos	27,22 ± 0,05
Lípidos	6,45 ± 0,01
Fibras	7,24 ± 0,65
Cenizas	6,06 ± 0,17
Humedad	3,22 ± 0,27

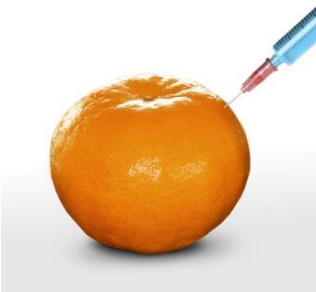


Caracterización de las emulsiones

Distribución de diámetro de partícula y diámetros promedio

Distribución de diámetros de partícula

En la **Figura 1** se muestran las distribuciones de diámetros de partículas de las emulsiones estudiadas en función de sus formulaciones, número de etapas de homogeneización realizadas y del tiempo de almacenamiento. Todas las emulsiones presentaron inicialmente distribuciones bimodales de gotas, apreciándose un pico de mayor proporción alrededor de 1 m y un pico menor alrededor de los 30 m (**Figuras 1.A** y **1.B**). Las distribuciones iniciales correspondientes a las emulsiones obtenidas empleando sólo una etapa de homogeneización (**1.A**) presentaron un hombro en la zona con valores menores de diámetro de partícula que disminuye su apreciación cuando se procesan con cinco etapas de homogeneización (**1.B**). Asimismo, el pico de mayor tamaño (≈ 30 m) disminuye su proporción cuando se obtienen las emulsiones con cinco etapas de homogeneización. Estos resultados indican que se obtienen partículas con diámetros más homogéneos al aumentar el número de reciclos de homogeneización. Por otra parte, no se observaron cambios apreciables en las distribuciones de diámetros de partículas de las emulsiones almacenadas en refrigeración durante siete días (**Figuras 1.C** y **1.D**).



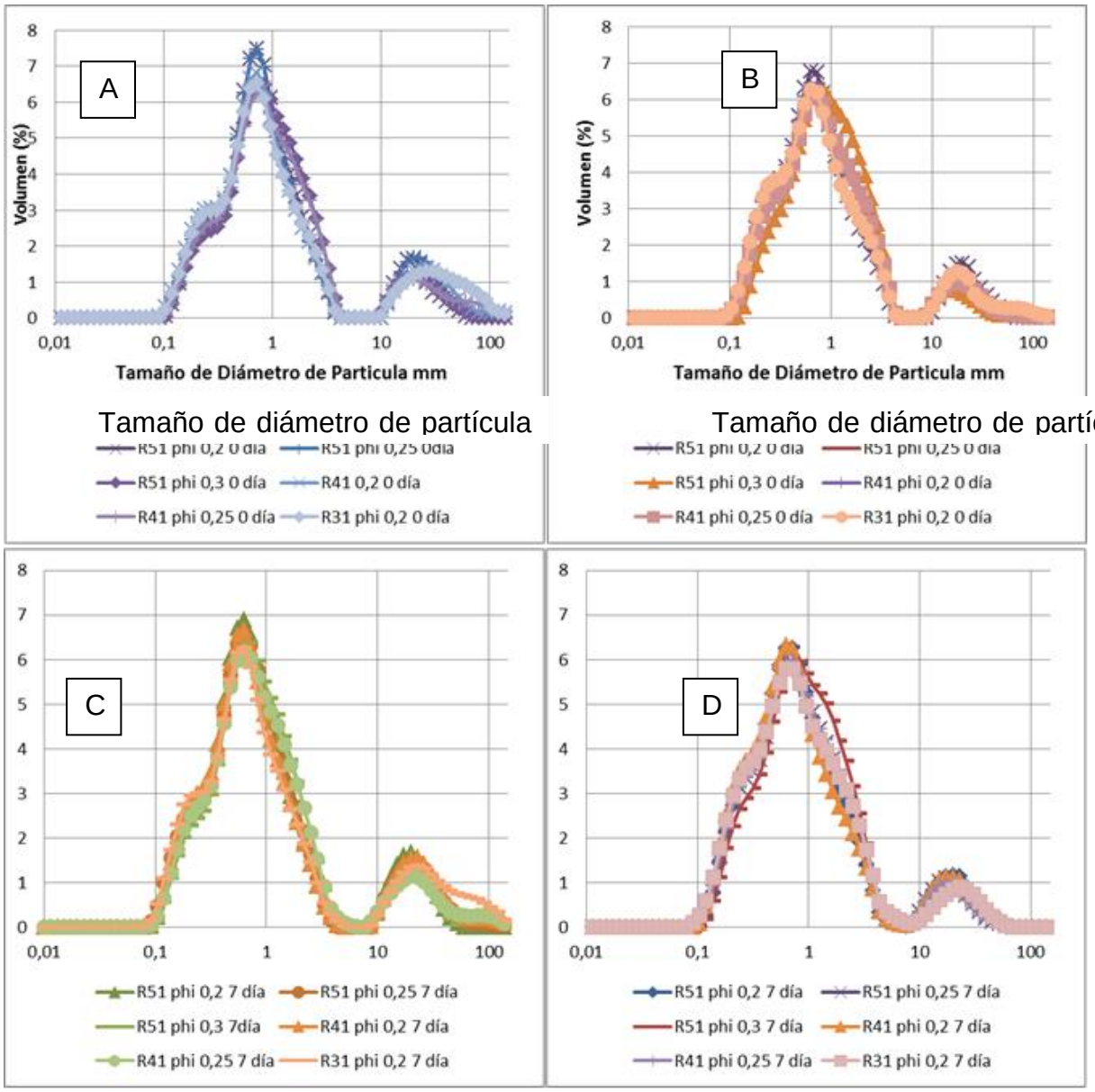


Figura 1. Distribución de diámetros de partículas de las emulsiones con diferentes relaciones cetogénicas (5:1, 4:1 y 3:1) y relaciones de fases (phi=0,20, 0,25 y 0,30) en función del número de reciclos de homogenización y del tiempo de almacenamiento. (A) 1 reciclo, 0 días de almacenamiento; (B) 5 reciclos, 0 días de almacenamiento; (C) 1 reciclo, 7 días de almacenamiento; (D) 5 reciclos, 7 días de almacenamiento.

Diferencias entre valores de parámetros D(4,3) y D(3,2)

Cuando los valores de D(4,3) y D(3,2) difieren considerablemente entre sí se presume que las gotas obtenidas resultan más heterogéneas en tamaño y más irregulares, mientras que cuando los valores de D(4,3) y D(3,2) se aproximan da idea de tamaños de gotas más pequeños, homogéneos, esféricos e uniformes (Fabra et al., 2009). En la **Tabla 3** se presentan las diferencias entre los diámetros medios De Broucker D(4,3) y Sauter D(3,2) para cada una de las emulsiones estudiadas en función de sus formulaciones, número de etapas de homogeneización realizadas y del tiempo de almacenamiento. Las diferencias entre los valores iniciales (a t=0) de D(4,3) y D(3,2) son relativamente bajas, independientemente de la formulación analizada

(p>0,05). Al procesar las emulsiones con cinco reciclos de homogeneización se espera una disminución en la diferencia entre los dos parámetros, ya que al introducir mayor energía al sistema provocaría una disminución del tamaño de la gota, obteniéndose partículas más homogéneas y uniformes. Sin embargo, y en base a los resultados obtenidos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) cuando se produjo la emulsificación en 1 o 5 etapas. Durante el almacenamiento estanco refrigerado, las emulsiones en estudio no presentaron diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) entre los valores de D(4,3)-D(3,2).

Tabla 3. Diferencia entre los diámetros medios De Broucker D(4,3) y Sauter D(3,2) para cada una de las emulsiones con diferentes relaciones cetogénicas (5:1, 4:1 y 3:1) y relaciones de fases (phi=0,20, 0,25 y 0,30) en función del número de reciclos de homogenización y del tiempo de almacenamiento.

Formulación	**Diferencia D(4,3) - D(3,2)**			
	1 Etapa		**5 Etapas**	
	Tiempo (días)		**Tiempo (días)**	
	0	**7**	**0**	**7**
5:1, phi=0,20	3,44 ± 1,78^{abc}	3,87 ± 1,41^{abc}	2,70 ± 1,14^{bc}	2,66 ± 1,05^{bc}
5:1, phi=0,25	4,17 ± 1,68^{abc}	3,70 ± 0,62^{abc}	2,10 ± 0,60^{bc}	2,13 ± 0,56^{bc}
5:1, phi=0,30	2,93 ± 0,46^{abc}	3,35 ± 0,58^{abc}	1,84 ± 0,79^{c}	1,63 ± 0,35^{c}
4:1, phi=0,20	4,71 ± 0,75^{abc}	4,78 ± 0,80^{abc}	2,57 ± 0,92^{bc}	2,75 ± 1,01^{bc}
4:1, phi=0,25	4,24 ± 0,66^{abc}	4,36 ± 0,38^{abc}	3,22 ± 2,31^{abc}	1,88 ± 0,4^{c}
3:1, phi=0,20	5,31 ± 1,51^{ab}	6,16 ± 1,86^{a}	3,17 ±1,01^{bc}	2,18 ± 1,22^{c}

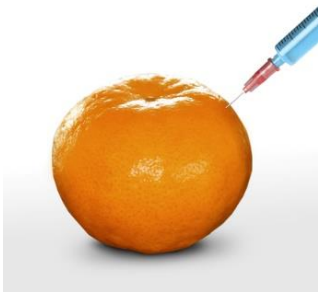
^{abc} Diferentes índices indican diferencias significativas (p<0,05).

Estabilidad de las emulsiones

En la **Tabla 4** se muestran los valores promedios de backscattering en la zona inferior del tubo para cada una de las emulsiones estudiadas en función de sus formulaciones, número de etapas de homogeneización realizadas y del tiempo de almacenamiento. Todas las emulsiones, ya sean procesadas en 1 o 5 etapas de homogeneización, resultaron estables durante el tiempo de almacenamiento estanco refrigerado. Sólo la emulsión 5:1 phi=0,20 obtenida luego de una etapa de homogeneización presentó signos de desestabilización (disminución abrupta del %BS) luego de 7 días de almacenamiento.

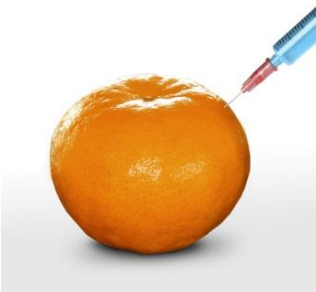
Tabla 4. Valores promedios de backscattering (%BS) en la zona inferior del tubo para cada una de las emulsiones con diferentes relaciones cetogénicas (5:1, 4:1 y 3:1) y relaciones de fases (phi=0,20, 0,25 y 0,30) en función del número de reciclos de homogenización y del tiempo de almacenamiento.

Formulación	**Backscattering (%) en la zona inferior del tubo**			
	1 Etapa		**5 Etapas**	
	Tiempo (días)		**Tiempo (días)**	
	0	**7**	**0**	**7**
5:1, phi=0,20	79,62 ± 4,81^{abcd}	51,26 ± 1,20^{f}	82,35 ± 3,50^{abc}	78,42 ± 3,75^{abcd}
5:1, phi=0,25	82,07 ± 2,16^{abcd}	76,69 ± 6,16^{abcd}	80,39 ± 3,50^{abcd}	78,48 ± 4,15^{abcd}
5:1, phi=0,30	82,34 ± 2,43^{abcd}	79,43 ± 1,77^{abcd}	84,39 ± 0,46^{abcd}	80,63 ± 2,61^{ab}
4:1, phi=0,20	81,70 ± 1,33^{abcd}	77,38 ± 1,6^{abcd}	82,87 ± 1,40^{abc}	75,70 ± 5,78^{abcd}



4:1, phi=0,25	81,22 ± 0,41[abcd]	77,67 ± 0,45[abcd]	85,26 ± 0,95[a]	83,14 ± 0,52[abcd]
3:1, phi=0,20	78,15 ± 1,84[abcd]	75,06 ± 1,90[bcd]	83,47 ±4,02[abc]	80,95 ± 3,25[abcd]

[abcdef] Diferentes índices indican diferencias significativas (p<0,05).



CONCLUSIONES

Se obtuvieron emulsiones O/W empleando aceite de arroz y dispersiones acuosas de harina de soja. El aumento en el número de etapas de homogeneización permitió obtener emulsiones con distribuciones de tamaño de partículas más homogéneas. Todas las emulsiones estudiadas, excepto la 5:1 phi=0,20 procesada en 1 etapa de homogeneización, resultaron estables durante siete días de almacenamiento estanco refrigerado. Las emulsiones formuladas resultan promisorias para desarrollar alimentos con elevado contenido lipídico, aptos para incluir en dietas cetogénicas.

BIBLIOGRAFÍA

Aoki, H., Taneyama, N., Orimo, N., & Kitagawa, I. 1981. Effect of lipophilization of soy protein on its emulsion stabilizing properties. Journal of Food Science, 46, 1192–1195.

Armeno, M., Caraballo, R.,Vaccarezza, M., Alberti M. J., Ríos, V., Galicchio, S., S.de Grandis E., Mestre, G., Escobal, N., Matarrese, P., Viollaz, R., Agostinho, A., Díez, C, Cresta, A., Cabrera,A., Blanco, V., Ferrero, H., Gambarini, V., Sosa, P., Bouquet, C., Caramuta, L., Guisande, S., Gamboni, B., Hassan, A., Pesce, L., Argumedo, L., Dlugoszewski, C., DeMartini,M., Panico, L. 2014. Consenso nacional sobre dieta cetogénica. Revista Neurología; 59 (5): 213-223

Freeman, J.M., Vining, E. P., Pillas, D. J., Pyzik,p. L., Casey,J. C., and Kelly, L. A. M. T.1998. Pedriatrics, 102(6):1358-1363.

Desrumaux, A., Marcand, J. 2002. Formation of sunflower oil emulsions stabilized by whey proteins with high-pressure homogenization (up to 350 MPa): effect of pressure on emulsion characteristics. International Journal of Food Science and Technology 37 (3), 263–269.

Gutierrez JM, Gonzalez C, Maestro A, Sol_e I, Pey CM, Nolla J.2008. Nanoemulsions: new applications and optimization of their preparation. Curr Opin Colloid; 13:245e51.

Kinsella, J. E. 1979. Functional properties of soy protein. Journal of American Oil Chemists0 Society, 56, 242–258.

Kossoff, E. H., Zupec-kania, B. A., AmarkP. E., Ballaban-Gil, J. R., Christina Berq-vist, A. G., Blackford,R., Buchhlater, J. R., Caraballo, R. H., Helen Cross, J., Dahlin, M. G., Donner, E. J., Keppler, J., Jehle, R.S., Kim, H.D., Christiana Liu; Y. M., Nation,J., Nordli,D. R., Pfeifer; H. H., Rho, J. M., Staftrom, C. E., Thiele, E. A., Turner, Z., Wirrell, E. C., Wheless, J. W., Veggiotti, P., and Vining, E. P. G. 2009. Optimal clinical management of children receiving the ketogenic diet: recommendatios of international Ketogenic DietStudy group. Epilepsya, 50(2):304-17.

Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F. 2002. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. The American Journal of Medicine, 113, 71-88.

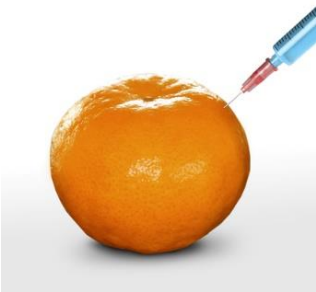
McClements, M. J. 1999. Emulsion ingredients. In: Food emulsions principles, practice and techniques (pp. 83–124). New York: CRC Press.

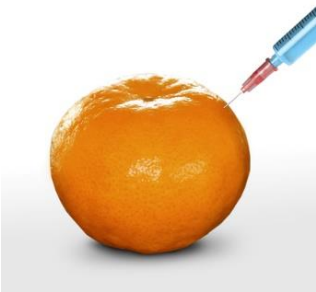
Orthoefer, F. T. 2005. Rice bran oil. In F. Shahidi (Ed.), Bailey's industrial oil and fat products (volume 6, pp. 465e489). New York: Jonh Wiley & Sons.

Stafstrom, C. E., and Rho, J. M. 2012. The ketogenic diet as treatment paradigm for diverse neurological disorders. Frontiers in Pharmacology, 3:59.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa America Pampa S.A. por haber donado la muestra de harina de soja para realizar la investigación. Este trabajo de investigación fue financiado por la Universidad Nacional de Entre Ríos a través del proyecto PID Novel N° 8090 y por el CITER (Centro de Investigaciones y Transferencia de Entre Ríos (CONICET-UNER).





Evaluación del rendimiento del descascarado de granos de alpiste en una descascaradora centrífuga

Bertero J.[1], Durruty M.X.[1], de Figueiredo A.K.[1], Nolasco S.M.[1,2], Riccobene I.C.[1]

[1]TECSE (Núcleo de Investigación Tecnología de Semillas y Alimentos), Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Av. del Valle 5737, B7400JWI-Olavarría, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
[2]Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata (Argentina)
kdfiguer@gmail.com

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el comportamiento de una descascaradora centrífuga a escala piloto para descascarar granos de alpiste para consumo humano, además de determinar las velocidades operativas de mayor rendimiento y menores pérdidas. Se trabajó con cinco velocidades de impacto del grano en el equipo 28,6- 30,4-34,6-38,8 y 40,5 m/s y con un contenido de humedad de 11,65 ± 0,025% base seca (bs). Los valores de eficiencia de descascarado, en términos de "groat" recuperada, resultaron significativamente mayores para las velocidades de impacto 34,6-38,8 y 40,5 m/s (72,6% ± 0,84) con respecto a las restantes, sin detectarse diferencia significativa entre ellas. Con el fin de incrementar la eficiencia se sometió a los granos a una segunda pasada por la descascaradora, reprocesando los granos parcialmente descascarados y no descascarados. Con doble pasada por el equipo descascarador se alcanzó un valor de eficiencia de 89,9% empleando una velocidad de impacto de 34,6 m/s siendo significativamente mayor que las obtenidas con velocidades de 38,8 y 40,5 m/s (87,0 y 85,1%, respectivamente). En estas condiciones operativas, el porcentaje de pérdidas, evaluado como la producción de finos (partículas menores a 0,42 mm) resulta del orden de 3,9%.

Palabras claves: alpiste para consumo humano, descascarado de granos.

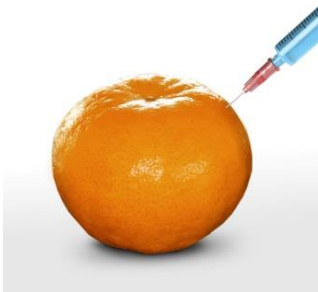
ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the behavior of a pilot scale centrifugal dehuller for husking canary seed grain for human consumption, in addition to determining the operating speed for higher performance and lower losses. It worked with five impact speed for the grain on the equipment, 28,6- 30,4-34,6-38,8 and 40,5 m/s, and a moisture content of 11,65 ± 0,025% dry basis (bs). The dehulling efficiency values in terms of groats recovered were significantly higher for impact speeds of 34,6-38,8 and 40,5 m/s (72,6% ± 0,84) with respect to the remaining, without detected significant difference between them. To Increase efficiency, the grains were subjected to a second pass through the dehuller, reprocessing the partially and not dehulled grains. The double pass on the husking equipment achieves an efficiency of 89,9% using an impact speed of 34,6, being significantly higher than those obtained with speeds of 38,8 and 40,5 m/s (87,0 and 85,1, respectively). In these operating conditions, the percentage of losses, evaluated as the production of fine (smaller particles than 0.42 mm) is on the order of 3.9%.

Keywords: canary seed grain for human consumption, grain dehulling.

INTRODUCCIÓN

El alpiste (*Phalaris canariensis* L.) es producido principalmente en Canadá, Argentina, Australia y medio oriente (FAO 2000, Irani Mahdi et al. 2016). Si bien es cultivado primariamente como fuente de alimento



para aves, hay cultivares aptos para consumo humano (glabros, sin espículas) que tienen propiedades diferenciales que ofrecen beneficios para la salud.

El alpiste se caracteriza por poseer más proteína y materia grasa y menos almidón, fibra dietética e hidratos de carbono soluble que el trigo; los altos niveles de proteínas indican su potencialidad para consumo humano.

El perfil de aminoácidos que posee este grano remarca la estructura única de sus proteínas, principalmente por su elevado contenido de triptófano (Abdel-Aal 1997a). Las proteínas del alpiste, si bien tiene un bajo contenido en lisina y treonina, son excepcionalmente ricas en triptófano, cisteína y fenilalanina, lo que la transforma en importante ingrediente para la formulación de mezclas nutritivas de proteínas. Un aspecto de gran importancia en la composición de aminoácidos de las proteínas de origen vegetal es la proporción lisina/arginina (Kritchevsky 1979), se ha aportado que la baja concentración de lisina y alta concentración de arginina tiene efecto hipocolesterolémico.

El potencial del grano de alpiste en relación a la particularidad de sus características, en especial la composición de proteína, almidón y aceite ha sido reportados por varios autores (Abdel-Aal et al. 1997a, Abdel-Aal et al. 1997b, Abdel-Aal et al. 2010, Abdel-Aal and Hucl 2005, Magnuson et al. 2014). Abdel-Aal et al. (2011) han demostrado que la microestructura de la cariópside alpiste es similar a la de otras gramíneas (trigo, avena, cebada, arroz) con una capa de salvado que rodea el endospermo amiláceo y el germen. El endosperma (núcleo central del grano) constituye la mayor proporción de la pepa y contiene gránulos de almidón y proteína. Estos autores coinciden en que el contenido de proteínas de la harina de alpiste (18-22,7%) es más alto que el reportado para otros cereales comunes, como cebada (10-17%), avena (13%) o trigo (8,5-15%), razón por la cual se potencia el interés por generar una verdadera cadena de valor para este grano, máxime considerando que posee características que lo convierten en una materia prima con posibilidades de ser utilizado no sólo en alimentación humana y animal que es donde tiene su mayor aceptación, sino también en la industria farmacéutica y cosmética.

El proceso de descascarado constituye una importante etapa del procesamiento del alpiste, obteniendo un subproducto ("groat", grano descascarado roto en fragmentos; Emmons and Peterson 1999) con potencial utilización como ingrediente alimentario. Los granos tratados y preclasificados durante la etapa de limpieza se convierten luego de esta operación, en un producto preacondicionado. Con el fin de responder a diversos tipos de cereales, se aplican diferentes procedimientos de descascarado (centrifugado, fricción o procedimientos de abrasión). El tipo de descascaradora elegida en función del tipo de grano permite maximizar el rendimiento.

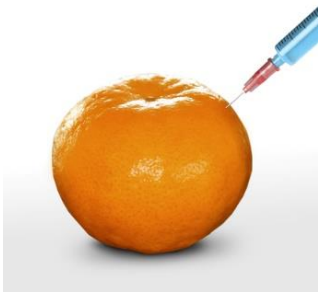
El proceso de descascarado es importante dado que la harina generada, libre de gluten, puede sustituir parcialmente la harina de trigo, sin alterar significativamente su composición física y nutricional. Sobre la base de la investigación de Abdel-Aal et al. (2011), se enfatiza que el alpiste tiene nutrientes únicos, minerales y vitaminas que potencian su aplicación alimentaria para consumo humano. Estos autores sostienen que las concentraciones relativamente altas de ácidos fenólicos presentes en el grano de alpiste, están principalmente ubicadas en el fragmento del salvado de la misma; esto permitiría realizar la obtención de extractos de estos componentes si se efectuara el descascarado del grano previo a la molienda para obtener la harina. Además, los principales compuestos carotenoides identificados en alpiste sin espículas son luteína, zeaxantina y b-caroteno, estando estos últimos en mayor proporción. Wende and Trust (2012) sostienen que el alpiste glabro con alto contenido de carotenoides se podría utilizar como ingrediente alimenticio para el desarrollo algunos alimentos funcionales novedosos.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el comportamiento de una descascaradora centrífuga a escala piloto para descascarar granos de alpiste para consumo humano, además de determinar las velocidades operativas de mayor rendimiento y menores pérdidas.

Materiales y métodos

Muestra

Los granos de alpiste (*Phalaris canariensis* L.) utilizados en el presente estudio corresponden a la variedad



CDC María, adquirido comercialmente (**Figura 1**). Se acondicionó la muestra empleando limpieza manual con el fin de separar los granos enteros de las materias extrañas y granos rotos o partidos.

Figura 1. Grano de alpiste (*Phalaris Canariensis* L.)

Se determinó el contenido de humedad empleando una estufa de aire forzado (ASAE 1999). Se pesaron 10 gramos de muestra en balanza electrónica (precisión 0,0001 g), se llevó a estufa durante 3 horas, a 130ºC. Una vez transcurrido este tiempo, las muestras se colocaron en desecador, hasta temperatura ambiente. Luego se pesaron las muestras, para obtener el peso seco. Los resultados se indican como promedios de duplicados.

Para determinar el porcentaje de groat teórico se realizó el descascarado manual de una muestra representativa y se calculó las fracciones correspondientes, mediante separación manual, a groat y cáscara.

Equipo de descascarado

Se utilizó un equipo piloto de descascarado basado en un proceso centrífugo (**Figura 2**). El grano se acelera en el rotor e impacta contra la carcasa del equipo separando el groat de la cascara. La descascaradora cuenta con una tolva de alimentación de la muestra y un variador de frecuencia para ajustar la velocidad del rotor (revoluciones por minuto, rpm) que se traduce a velocidad de impacto del grano (m/s) teniendo en cuenta dimensiones específicas del equipo.

Figura 2. Equipo de descascarado.

Separador de cáscara

Para remover la cáscara del grano luego del descascarado se diseñó y construyó un dispositivo piloto de separación por aire (**Figura 3**), constituido por una torre cilíndrica en cuyo interior se sitúa un deflector y un recipiente que almacena las cáscaras separadas. La muestra es contenida entre dos mallas normalizadas (ASTM 100) ubicadas en ambos extremos de la sección media del equipo, insuflándose aire desde la base por medio de un ventilador centrífugo. De esta manera, la cáscara, por sus características, se eleva por

encima del deflector quedando retenida en el recipiente de almacenamiento para su posterior utilización o tratamiento.

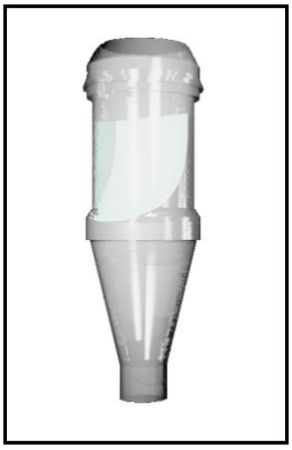


Figura 3. Separador de cáscara.

Eficiencia de descascarado

Se define la eficiencia del proceso mediante dos expresiones, eficiencia de descascarado (η_{desc}, Sokhansanj and Patil 2003) y eficiencia de groat recuperado (η_{groat}); ecuaciones (1) y (2), respectivamente.

$$\eta_{desc} = 1 - \frac{n_1}{n_2} \quad (1)$$

n_1: Peso de muestra no descascarada.
n_2: Peso total de muestra a procesar.

Esta eficiencia estima el porcentaje descascarado global, sin embargo no establece la calidad del proceso. Por este motivo se recurre a la eficiencia de groat recuperado.

$$\eta_{groat} = \frac{G}{G_{teórico}} \quad (2)$$

G: Peso de groat después de descascarar.
$G_{teórico}$: Peso de groat teórico.

Diseño experimental

La metodología de trabajo establecida se seleccionó con el fin de identificar la mejor combinación de las variables de proceso estudiadas (velocidad de impacto y número de etapas) a fin de mejorar la performance del sistema de descascarado (maximizando la eficiencia de pepa recuperada con la menor producción de finos).

El diseño experimental consistió en 5 experiencias por duplicado, para distintas velocidades de impacto (28,6 - 30,4 - 34,6 - 38,8 y 40,5 m/s), aplicando descascarado simple. Luego fueron repetidos los experimentos bajo las mismas condiciones de velocidad de impacto, pero empleando una segunda etapa para los granos que no resultaron descascarados.

El proceso de descascarado se inicia con la alimentación de la muestra tratada a la descascaradora en un tiempo aproximado de 20 segundos (velocidad de alimentación) y se fijó un tiempo de residencia de los granos en el equipo del mismo valor.

La muestra proveniente del proceso de descascarado se clasificó en cáscara, groat recuperado, granos no

descascarados y finos, utilizando un tamiz de malla normalizada ASTM 40 para separar estos últimos. La cáscara fue separada de la muestra utilizando el separador descripto anteriormente (**Figura 3**) y utilizando separación manual para las cáscaras que no fueron retenidas. Los granos no descascarados fueron separados manualmente del groat utilizando un fondo de color claro. Luego de la separación, las muestras fueron llevadas a estufa de aire forzado durante 3 horas, a 130°C, a fin de determinar el peso seco de cada una. A partir de los datos obtenidos se calcularon las eficiencias mediante las ecuaciones (1) y (2). El porcentaje de finos se obtuvo como la relación porcentual entre la masa de finos y la suma de cáscara, groat recuperado, granos no descascarados y finos producidos.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos se analizaron mediante Análisis de la Varianza empleando el programa Infostat (Universidad Nacional de Córdoba, 2004). La comparación de medias se realizó mediante test de Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido porcentual de humedad del grano de alpiste utilizado resultó ser de 11,65 ± 0,025 %(bs) y la composición teórica de groat fue de 81,75 ± 0,49% (bs).

Pasada simple (proceso en una etapa)

En la **Tabla 1** se presenta la eficiencia de groat recuperado correspondientes a cada velocidad de impacto de los granos, siendo 73,6 ± 0,5% la eficiencia más alta correspondiente a la velocidad de impacto de 34,6 m/s. No se detectaron diferencias significativas en la eficiencia de recupero de groat para las velocidades más altas: 34,6 -38,8 y 40,5 m/s (72,6% ± 0,84).

Tabla 1. Eficiencia de groat recuperado (Descascarado simple)

Velocidad de impacto (m/s)	Eficiencia de groat recuperado (%)
28,6	57,4 ± 2,5 [a]
30,4	68,3 ± 0,2 [b]
34,6	73,6 ± 0,5 [c]
38,8	72,0 ± 0,5 [c]
40,5	72,3 ± 0,8 [c]

Letras distintas indican diferencias significativas (Test de Tukey, $p \leq 0,05$).

En la **Tabla 2** se presentan los resultados obtenidos de eficiencia de descascarado para cada una de las muestras, a diferentes velocidades de impacto. En general, se puede observar un incremento en la facilidad de los granos a descascararse al aumentar su velocidad de impacto, sin embargo esta tendencia no se observó en términos de eficiencia de groat recuperado.

El análisis estadístico de la varianza (ANOVA) no permitió detectar diferencias significativas entre las muestras descascaradas a las velocidades de impacto 34,6 - 38,8 y 40,5 m/s (78,5% ± 0,67), pero éstas se diferenciaron significativamente de las eficiencias obtenidas a menores velocidades (28,6 y 30,4 m/s).

Tabla 2. Eficiencia de descascarado simple.

Velocidad de impacto (m/s)	Eficiencia de descascarado(%)
28,6	59,29 ± 2,17[a]
30,4	70,81 ± 0,66[b]
34,6	78,48 ± 0,05[c]
38,8	77,91 ± 0,34[c]
40,5	79,64 ± 0,99[c]

Letras distintas indican diferencias significativas (Test de Tukey, $p \leq 0,05$).

Como los resultados de eficiencia alcanzados son bajos desde el punto de vista del procesamiento industrial, se evaluó para las tres velocidades mayores, el efecto de una segunda pasada por el equipo de descascarado, reprocesando los granos no descascarados (enteros o parcialmente descascarados).

Doble pasada (proceso en dos etapas)

Con doble pasada por el equipo descascarador se alcanzó una eficiencia de groat recuperado de 89,8% ± 0,09 (**Tabla 3**) empleando una velocidad de impacto de 34,5 m/s, siendo ésta eficiencia

significativamente mayor que las obtenidas con superiores velocidades; 38,8 y 40,5 m/s (87,0 ± 0,69 y 85,1% ± 0,75, respectivamente).

Tabla 3. Eficiencia de groat recuperado (doble pasada).

Velocidad de impacto (m/s)	Eficiencia de groat recuperado (%)
34,6	89,8 ± 0,09 [a]
38,8	87,0 ± 0,69 [b]
40,5	85,1 ± 0,75 [b]

Letras distintas indican diferencias significativas (Test de Tukey, p≤0,05).

Respecto a la eficiencia al descascarado, en forma similar a lo detectado en el proceso de una etapa, el análisis de la variancia (ANOVA) no detectó diferencias significativas entre las tres velocidades de impacto analizadas para este último ensayo. (**Tabla 4**.).

Tabla 4. Eficiencia del proceso de descascarado (Doble pasada).

Velocidad de impacto (m/s)	Eficiencia de descascarado (%)	Finos (%)
34,6	97,7 ± 0,37 [a]	3,89% [a]
38,8	97,4 ± 0,7 [a]	5,98% [b]
40,5	98,3 ± 0,44 [a]	8,73% [c]

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (Test de Tukey, p≤0,05).

Del análisis realizado resulta que el descascarado de granos de alpiste empleando una descascaradora centrífuga, permite alcanzar valores de eficiencia del orden de aproximadamente un 90% de "groat" recuperada, si se los descascaran a una velocidad de impacto de 34,6 m/s con una doble pasada de los mismos por el equipo. En estas condiciones operativas, el porcentaje de pérdidas, evaluado como la producción de finos (partículas menores a 0,42 mm) resulta del orden de 3,9%, mientras que para velocidades superiores esta pérdida se incrementa significativamente (**Tabla 4**). La mayor producción de finos a las mayores velocidades de impacto de los granos influiría en la eficacia de groat recuperados, con la consecuente de pérdida de material de interés.

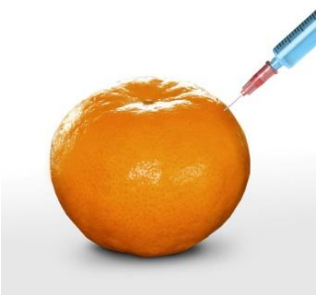
CONCLUSIONES

A partir de los datos obtenidos se puede concluir que la mejor alternativa para el descascarado de alpiste es utilizar una doble pasada por el equipo descascarador a una velocidad de 34,6 m/s. En este caso se obtiene una eficiencia de groat recuperado de 89,8 ± 0,09%, obteniendo un porcentaje de pérdida de 3,89%, para una humedad del grano de 11,65% bs. Cabe resaltar que es importante evaluar el contenido de humedad de la muestra ya que las eficiencias de descascarado y groat recuperado dependerán de esta variable, como así también la fracción de finos producidos. En este sentido, futuras investigaciones deberían evaluar el efecto combinado de las variables: contenido de humedad de los granos y velocidad de impacto en el equipo descascarador, sobre la eficiencia del proceso de descascarado y el porcentaje de finos generados durante el mismo.

Si bien utilizando una segunda etapa la eficiencia de groat recuperado se incrementa aproximadamente un 20% respecto a la eficiencia lograda al emplear un proceso de una sola etapa, debe considerarse la dificultad de separación entre groat y grano a la salida de la descascaradora.

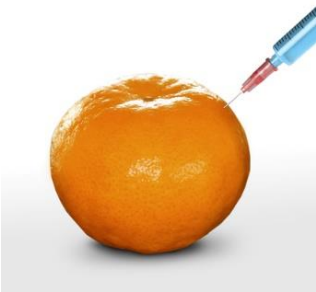
BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Aal, El-Sayed M, Hucl P, Mille SS, Patterson CA, Gray D. 2011. Microstructure and nutrient composition of hairless canary seed and its potential as a blending flour for food use. Food Chemistry, 125: 410-416.



Abdel-Aal, El-Sayed M, Hucl P, Patterson CA, Gray D. 2010. Fractionation of hairless canary seed (Phalaris canariensis) into starch, protein, and oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 7046–7050.
Abdel-Aal, El-Sayed M, Hucl P. 2005. Hairless canary seed: a potential food crop. En: Specialty grains for food and feed, 1st ed.; Abdel-Aal, E-SM., Wood P, Eds.; AACC: St. Paul, MN. pag. 203-221.
Abdel-Aal, El-Sayed M, Hucl PJ, Sosulski FW. 1997a. Structural and Compositional Characteristics of Canaryseed (*Phalaris canariensis* L.). Journal of Agricultural Food Chemistry, 45(8): 3049-3055.
Abdel-Aal, El-Sayed M, Hucl P, Sosulski FW. 1997b. Characteristics of canary seed (*Phalaris canariensis* L.*)* starch. Starch, 9: 475-480.
ASAE. 1999. Standard Engineering Practices data, 46 th edn. Publ by American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, USA.
Sokhansanj S, Patil RT. 2003. Dehulling and Splitting Pulses. En: Chakraverty A, Mujumdar AS, Vijaya Raghavan GS, Ramaswamy HS editors. Handbook of Postharvest Technology. Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices. Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A. pag 397-426.
Emmons CL and Peterson DM. 1999. Antioxidant Activity and Phenolic Contents of Oat Groats and Hulls. Cereal Chemistry,76(6): 902-906.
FAO. 2000. Food and agriculture organization. Rome, Italy: Production Year Boo.Infostat. 2004. Grupo Infostat. Universidad Nacional de Córdoba: Facultad de Ciencias Agropecuarias.
Iraní M, Razavi Seyed MA, Abdel- Aal, El-Sayed M, Hucl P, Patterson CA. 2016. Dilute solution properties of canary seed (*Phalaris canariensis*) starch in comparison to wheat starch. International Journal of Biological Macromeleculares, 87: 123-129.
Kritchevsky D. 1979. Vegetable protein and atherosclerosis. Journal of the American Oil Chemists' Society, 56: 135-140.
Magnuson BA, Patterson CA, Hucl P, Newkirk RW, Rame JI, Classen HL. 2014. Safety assessment of consumption of glabrous canary seed (*Phalaris canariensis* L) in rats. Food and Chemical Toxicology, 63: 91-103.
Wende L and Trust B. 2012. An evaluation of carotenoid levels and composition of glabrous canaryseed. Food Chemistry, 133: 782-786.

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen el financiamiento a la Facultad de Ingeniería (Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires) y en especial a la empresa Molino Olavarría S.A. (Argentina) por proporcionar el alpiste utilizado para el desarrollo de este trabajo.



Determinación de temperaturas de transición vítrea de variedades argentinas de arroz

Bertotto M.M. [1], Gastón A.[2,3], Rodríguez Batiller M.J.[4], Sánchez Sarmiento, G.[1,3].

[1]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ingeniería, Av. Paseo Colón 850. C1063ACV, Buenos Aires, Argentina.
[2] Fac. de Cs. Exactas Ingeniería y Agrimensura. UNR. IFIR (CONICET/UNR) Av. Pellegrini 250. (2000) Rosario. Argentina.
[3]Universidad del Salvador, Facultad de Ciencia y Tecnología, Av. Callao y Córdoba (C1023AAB), Buenos Aires, Argentina.
[4] Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología (ITPN), Facultad de Ingeniería, Buenos Aires, Argentina.
mbertotto@hotmail.com

RESUMEN

En el presente estudio se determinaron las temperaturas de transición vítrea *(Tg)* de variedades argentinas de arroz. Se utilizaron las variedades IRGA 424, arroz tipo largo fino, y GURI INTA CL, (arroz tipo medio). Las transiciones de fase en las muestras de harina de arroz fueron determinadas mediante un Analizador Dinámico Mecánico (DMA) en el rango de temperatura de 20 - 120°C. La temperatura de transición vítrea se determinó a partir del pico de *Tan (δ)*. Las muestras fueron calentadas a una velocidad de 2°C/min manteniendo una frecuencia de 1 Hz. Se encontró que los valores de *Tg* decrecieron linealmente con el incremento del contenido de humedad dentro de los rangos estudiados para cada variedad de arroz. Los hallados para IRGA 424 aumentaron desde 42,5 hasta 105,9°C, para un contenido de humedad decreciente de 20 a 10%. Para GURI, la *Tg* aumentó desde 29 hasta 103,2°C para un rango de humedad decreciente de 34 a 10 %. Los valores de *Tg* correspondientes a las condiciones de cosecha fueron 42,5°C para IRGA 424 a 20 % b.h. y 50°C para GURI a 22% b.h.

Palabras Clave: análisis mecánico dinámico, diagrama de estado, almidón, propiedades viscoelásticas.

ABSTRACT

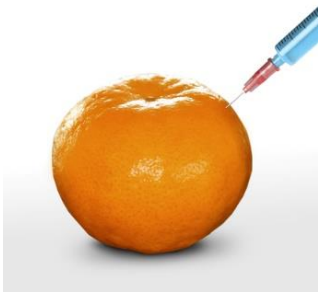
This work describes a method to study Glass transition temperature (*Tg*) based on dynamical mechanical thermal analysis using deformation tests, and was applied to two local varieties of rice flour: IRGA 424 and GURI INTA CL. To conduct temperature sweeps, samples were heated at a rate of 2 C/min from 20 to 120°C keeping frequency to 1 Hz. The glass transition temperature was measured from the peak of *Tan (δ)*. It was found that the *Tg* values decreased linearly with an increasing moisture content within the ranges studied for each variety of rice. *Tg* values for IRGA 424 increased from 42.5 to 105.9°C for a decreasing moisture content of 20 to 10%. For GURI, *Tg* increased from 29 to 103.2°C for a decreasing moisture range of 34 to 10%. *Tg* values corresponding to the harvest conditions were 42.5°C for IRGA 424 at 20% w.b. and 50°C for GURI at 22% w.b.

Keywords: dynamic mechanical analysis, state diagram, starch, viscoelastic properties.

INTRODUCCIÓN

El arroz es un cereal rico en hidratos de carbono, proteínas y vitaminas, por lo cual se encuentra en la dieta habitual de más de dos tercios de la población mundial.

Generalmente el arroz se cosecha con un contenido de humedad elevado que no es adecuado para su



almacenamiento y conservación, por lo que resulta necesario recurrir al proceso de secado.

El rendimiento en grano entero depende de varios factores, siendo los más importantes los procesos de secado y atemperado del grano posterior al secado (Steffe et al. 1980). La formación de fisuras durante estas etapas es un problema muy importante, ya que los granos fisurados son más susceptibles de quebrarse durante el pulido, resultando afectadas además las propiedades funcionales del arroz. En consecuencia, entender las causas por las cuales se producen estas fisuras es relevante para poder controlar y optimizar el proceso de secado y atemperado. Cuanto mayor son los gradientes de humedad generados durante el secado, mayores resultan los porcentajes de fisura durante el pulido y descascarado del arroz.

El impacto de los gradientes de humedad en el fisurado del arroz puede explicarse en base al concepto de temperatura de transición vítrea (Glass transition temperature *Tg*) del grano de arroz. Para un dado contenido de humedad (C_h), la temperatura de transición vítrea *Tg* se define como la temperatura a la cual el grano pasa de un estado vítreo ("*glassy*") a un estado gomoso ("*rubbery*"), y viceversa. Los granos de arroz en el estado vítreo poseen menor coeficiente de dilatación, volumen específico y difusividad másica que los granos en estado gomoso (Cnossen et al. 1999, 2002, Cnossen et al. 2000, Perdon et al. 2000, Siebenmorgen et al. 2004).

Al momento de la cosecha, los granos se encuentran en estado vítreo. Durante la etapa de secado, dependiendo de la temperatura de aire T_s, parte o todo el grano puede estar en estado vítreo o gomoso (Cnossen et al. 2000, Perdon et al. 2000, Siebenmorgen et al. 2004). Secar con una temperatura por encima o debajo de *Tg* afecta significativamente la velocidad de secado. Cuando T_s es mayor a *Tg*, el grano sufre una transición inicial al estado gomoso y la velocidad de secado se incrementa ya que el grano posee mayor difusividad. No obstante, al continuar el proceso de secado disminuye el contenido de humedad en la superficie, lo que puede provocar transición de las capas superficiales nuevamente al estado vítreo mientras que el interior, con mayor contenido de humedad, continúa en estado gomoso (Cnossen et al. 2000, Cnossen et al. 2002, Yang et al. 2004). La diferencia entre las propiedades del grano en estado vítreo y gomoso induce tensiones diferenciales que pueden provocar la figuración del grano.

Se ha comprobado que cuando el atemperado se realiza a la misma temperatura de secado T_s mayor a *Tg*, permitiendo que disminuyan los gradientes de humedad antes de que el grano se enfríe a una temperatura por debajo de *Tg*, el grano de arroz en conjunto puede transformar simultáneamente al estado vítreo. Como consecuencia, no se crean tensiones diferenciales en el grano limitándose de esta forma la fisura (Cnossen et al. 2000, Schluterman et al. 2007, Yang et al. 2003, Zhang et al. 2003).

Cabe mencionar que otros factores que inciden en la formación de fisuras son los genéticos, los que hacen que diferentes variedades no respondan de igual manera a los mismos procesos de secado (Jindal et al. 1994, Lague et al. 1991). Por este motivo, es importante conocer las temperaturas de transición vítrea de variedades de arroz típicas de Argentina. A partir de su determinación, estas temperaturas podrán relacionarse con los gradientes de humedad dentro del grano y con la formación de fisuras. Con esta información, será posible proponer mejoras y obtener un mayor rendimiento del grano (reducción del porcentaje de quebrado).

En este trabajo, se analizaron dos variedades de arroz: GURI e IRGA 424. La primera corresponde al cruzamiento de las variedades Puitá con Cambá, las más utilizadas en la Argentina. La segunda, fue presentada oficialmente en la localidad de Mercedes en Corrientes, con el fin de reemplazar a Taim. Estos nuevos cultivares son superiores a sus antecesores, en calidad molinera, potencial de rendimiento y productividad.

Sun et al. (2002) han determinado que la metodología DSC no es lo suficientemente sensible para la medición exacta de la *Tg* en granos de arroz debido a que el polímero se encuentra en estado parcialmente amorfo y parcialmente cristalino. Con el fin de obtener un diagrama de estado más exacto del arroz, en este estudio se usó la metodología DMA. En este tipo de ensayos, la *Tg d*e un polímero puede ser determinada a partir de cambios en una de tres cantidades diferentes: el módulo elástico de almacenamiento (E'), módulo elástico de pérdida (E''), o su relación $(Tan\ (\delta)=E''/E')$.

El objetivo de este trabajo es la determinación de la temperatura de transición vítrea de dos variedades de arroz argentinas mediante análisis dinámico mecánico (DMA). El rango empleado de humedad comprendió

los valores típicos del contenido de humedad del arroz durante la cosecha y se extendió hasta el 10%.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente trabajo se utilizaron dos variedades de arroz cáscara: IRGA 424, tipo largo fino y GURI INTA CL, tipo medio.

La semilla original del cultivar Guri INTA CL fue producida por la Fundación Proarroz en el marco del convenio mantenido con INTA. La misma provino de una selección genealógica del cruzamiento de CAMBA INTA PROARROZ x PUITA INTA CL realizado en 2004. Perteneció a la subespecie "indica".

Se separaron manualmente, tanto los granos defectuosos como los rotos y los descascarados y se tamizó la muestra para eliminar tierra y restos de la planta.

Los granos de arroz cáscara (100 g) se procesaron en un molino arrocero de laboratorio Suzuki MT-95 (Suzuki S.A., San pablo, Brasil).

Este equipo realiza tres operaciones: el descascarado por molturación, el pulido del grano y la separación de las fracciones de granos pulidos enteros y quebrados.

Se realizó solamente la etapa de descascarado por molturación, evitándose la etapa posterior de pulido del grano. El arroz cáscara fluyó y se comprimió entre dos discos de caucho que giraron en sentido opuesto, pudiéndose ajustar la distancia entre los discos de caucho de acuerdo a las dimensiones del grano. Una presión excesiva causa un bajo rendimiento de grano entero, por lo cual fue preferible obtener un descascarado incompleto y un mínimo número de granos quebrados.

La fracción de cáscara desprendida se separó mediante un ciclón incorporado al molino. Los granos defectuosos o rotos se separaron manualmente, obteniéndose la fracción de grano descascarado también conocida como arroz integral (no pulido).

Ambas variedades de arroz fueron hidratadas de diferente manera, debido a que la variedad IRGA presentó una mayor tendencia a la fractura.

El proceso de hidratación de la muestra de variedad GURI, se describe a continuación.

Las muestras de arroz integral de aproximadamente 300 g, se sumergieron en 900 ml de agua destilada previamente termostatizada. La relación agua:arroz utilizada correspondió a hidratación en condiciones de exceso de agua. Las muestras fueron colocadas en un baño con agitación a temperatura controlada de 50 ± 0.5ºC. Para determinar el contenido de humedad de las muestras, éstas se retiraron del baño a diferentes intervalos de tiempo, se separaron del exceso de agua y se dejaron escurrir sobre papel absorbente para eliminar el agua superficial. Dicho contenido de humedad se determinó por gravimetría. Se obtuvo un 32% de humedad para la muestra, luego de transcurridos 50 minutos en el baño térmico.

Como resultado del proceso de hidrotratamiento, la muestra de arroz GURI alcanzó un nivel de humedad muy alto, 0.32 g agua/ g sólido seco, por lo que el grano debió ser sometido a un proceso de secado de manera inmediata.

Con tal fin, se dividió la muestra en 6 fracciones, cada una de las cuales fue secada en la estufa antes mencionada a 60ºC, por diferentes tiempos según el contenido de humedad final deseado.

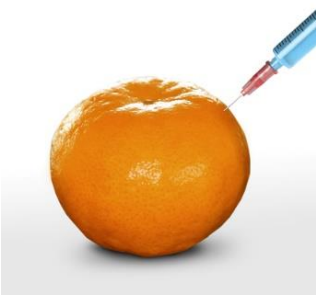
Como resultado de este proceso de secado, las muestras presentaron los siguientes % de humedad: 10, 12, 13, 14, 22, 29 y 34%.

La muestra de arroz de la variedad IRGA, fue acondicionada de la siguiente manera.

Se prepararon 8 frascos de muestras de arroz hidratado. En cada uno, se pesaron 50 g de arroz y se le adicionó la cantidad de agua requerida para lograr el porcentaje de humedad deseado. Los frascos se agitaron y se almacenaron en la heladera a una temperatura de aproximadamente 5°C por 7 días. Durante este tiempo, el agua incorporada es absorbida por la masa de granos y se obtiene una distribución uniforme de la humedad. Cabe mencionar que durante el periodo necesario para alcanzar el equilibrio no se observó crecimiento de hongos.

Como resultado de este proceso de hidratación, las muestras de arroz IRGA presentaron los siguientes % de humedad: 10, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20 y 22%.

Las muestras de harina de arroz de ambas variedades se obtuvieron por molienda de las muestras de arroz



hidratadas obtenidas previamente. Los granos (30 g) se procesaron por minutos en un molino de cuchillas de laboratorio marca Decalab®. Posteriormente se tamizó la muestra de harina, separándose la fracción menor a 177 micras. Para ello se utilizó un tamiz ASTM N° 80 y un vibrador de tamices Zonytest EJR 2000.
La humedad de las muestras de harina de arroz obtenidas se determinó por gravimetría según el método AOAC 925.10 (2000) y fue expresada como g agua/ g sólido seco. El método consistió en secar la muestra, previamente pesada, en una estufa de convección forzada a 130ºC durante una hora para determinar su masa seca, determinándose por diferencia el contenido de agua de la misma.
Las muestras de harina de arroz hidratadas de ambas variedades fueron envasadas en frascos herméticos y rotuladas según su contenido de humedad correspondiente. Las mismas fueron llevadas al Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología para la evaluación de su temperatura de transición vítrea.
Las transiciones de las muestras de harina de arroz fueron determinadas mediante el Analizador Dinámico Mecánico 8000 marca Perkin Elmer en el rango de temperatura de 20-120°C. Las muestras fueron calentadas a una velocidad de 2°C por minuto. Se utilizó una frecuencia baja de 1 (Hz) para minimizar su efecto en la *Tg*. Los ensayos DMA fueron realizados en el modo Deformación. La geometría y modo de deformación de las muestra utilizadas fueron "single cantilever bending". El tipo de control de frecuencia fue simple (single frequency / single strain).
Debido a la naturaleza del experimento, la muestra requerida debe tener un tamaño de pocos milímetros. El porta-muestras utilizado consistió en un sobre de acero inoxidable. Este material no presenta ninguna relajación o transición de fase dentro del rango de temperatura en que opera el instrumento. La colocación de la muestra en el sobre porta-muestras se muestra en la **Figura 1**.

Figura 1. Colocación de la muestra en el sobre porta-muestra.
Paso 1: Doblar el sobre a 90º.
Paso 2: Añadir aproximadamente 250 mg de muestra en el sobre y doblar completamente.
Paso 3: Plegar y presionar los bordes del sobre usando un alicate.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aproximadamente, el 90% del arroz molido es almidón. El almidón de arroz es un polímero semicristalino que contiene moléculas de amilopectina parcialmente cristalinas y altamente ramificadas, y moléculas de amilosa en estado amorfo. A una temperatura menor a la *Tg*, las cadenas poliméricas están inmovilizadas en una conformación azarosa, resultando en un material vítreo y frágil. Si se calienta el polímero, la movilidad molecular se restablece y el material se transforma en viscoso, gomoso y flexible (Jia et al. 2009).
El cambio físico desde una conformación inmovilizada a una estructura flexible refleja un aumento en la movilidad de los segmentos mayores del polímero, y se denomina transición vítrea. La misma corresponde a una transición de segundo orden, que se presenta en materiales molecularmente amorfos.
Estudios anteriores (Sun et al. 2002) han concluido que en el caso del arroz, la transición vítrea se debe a su contenido amiláceo. Estos autores han comparado valores de *Tg* del almidón puro con valores de *Tg* de muestras de arroz integral de los mismos contenidos de humedad, y han observado que ambas series de datos eran muy cercanas.
En los materiales que presentan un comportamiento viscoelástico, como las harinas de arroz, la relación entre esfuerzo y deformación depende del tiempo, o en el dominio de la frecuencia, de la frecuencia. La pendiente del gráfico de esfuerzo en función de deformación depende de la velocidad de la deformación. Las características termomecánicas pueden ser determinadas mediante la medición del módulo de almacenamiento o del módulo elástico como función de la temperatura, del tiempo, o de la frecuencia.
Una leve pérdida de humedad fue esperada debido al aumento en la temperatura durante los ensayos. El sobre de acero inoxidable en el que fueron colocadas las muestras ayudó a limitarla.

No se observaron variaciones drásticas ni en el módulo de almacenamiento (*E´*) ni en el de pérdida (*E´´)* en los ensayos realizados. Esto significa que la relajación de la fase amorfa de las muestras de harina de arroz fue limitada. Sin embargo, *E´´/E´* (*Tan(δ)*), mostró una transición marcada para las muestras ensayadas, por lo que las curvas de *Tan(δ)*), vs. *T* fueron utilizadas para determinar la *Tg*.

La **Figura 2** presenta la curva DMA de una muestra de harina de arroz IRGA 424 con 14% de humedad en base húmeda. En este caso, la curva *Tan(δ)* mostró un pico en 80ºC aproximadamente. La transición vítrea se manisfestó, no de manera abrupta sino como un cambio gradual de la pendiente del gráfico. Esto se debe a que este fenómeno abarca diferentes tipos de movimientos: deformación y difusión molecular y rotación de grupos de átomos de la cadena polimérica en torno a enlaces covalentes. Estos mecanismos de movilidad molecular suelen ser empleados como base explicativa de fenómenos que ocurren antes, durante y después de la transición vítrea (Hoyos 2010). Cabe recordar, que el arroz es un material heterogéneo. Existen además varias temperaturas de transición correspondientes a las micro-regiones.

Se muestra en la **Figura 3**, las propiedades dinámicas de una muestra de harina de arroz IRGA 424 con un contenido de humedad del 20%, en base húmeda. En este caso, la curva *Tan Delta* mostró un primer pico en 40ºC, aproximadamente. El segundo valor de Tan Delta a 110°C se corresponde con un cambio de módulo ocurrido por la deshidratación de la muestra.

La **Figura 4** muestra la curva de DMA de una muestra de harina de arroz GURI con 10% de humedad en base húmeda. En este caso, la curva *Tan Delta* mostró un pico en 110ºC aproximadamente.

La **Figura 5** muestra la curva de DMA de muestras de harina de arroz GURI con 22% de humedad en base húmeda. En este caso, la curva Tan Delta mostró un primer pico en 50ºC, aproximadamente. Los valores siguientes de Tan Delta a 80 y 110°C se corresponden con cambios en el módulo ocurrido por la deshidratación de la muestra.

Es notorio que el último valor de Tan Delta, tanto para la variedad IRGA con 20% de humedad como para la variedad GURI con 22% de humedad, es de 110°C, pudiéndose inferir que la muestra llegó a su cambio de módulo final por deshidratación total.

La **Figura 6** muestra las curvas de *Tg* en función del contenido de humedad de las muestras de harina de arroz de ambas variedades estudiadas. A medida que disminuyó el contenido de humedad, el valor de *Tg* aumentó en ambos casos. Con niveles de humedad menores al 22%, la *Tg* ocurrió por debajo de la temperatura ambiente. Estos resultados indicaron claramente que la transición vítrea ocurrió en el almidón (Zeleznak et al. 1987).

La definición clásica de un plastificante es un "material que incorporado a un polímero, aumenta su flexibilidad, extensibilidad y manuabilidad". La *Tg* de un polímero no diluido es mucho mayor que la de un polímero diluido de bajo peso molecular. A medida que la concentración de diluyente de la solución aumenta, la *Tg* decrece, debido a que aumenta el volumen libre.

La plastificación con agua resulta en una disminución de la *Tg* de alimentos completamente amorfos y parcialmente cristalinos. Esto puede resultar favorable o desfavorable para el procesamiento industrial, las propiedades funcionales, y la estabilidad durante el almacenamiento (Levine 1944).

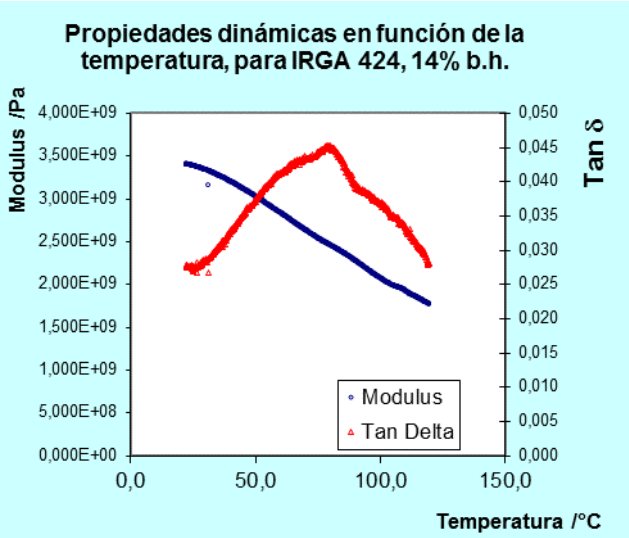
El agua actuó como un plastificante efectivo, disminuyendo la *Tg* de las muestras de harina de arroz. Los valores hallados para la variedad IRGA aumentaron desde 42,5 hasta 105,9°C, para un contenido de humedad decreciente de 20 a 10%. Para GURI, el rango evaluado fue más amplio: la *Tg* aumentó desde 29 hasta 103,2°C para un rango de humedad decreciente de 34 a 10 %. Los valores de *Tg* correspondientes a las condiciones de cosecha fueron 42,5°C para IRGA 424 a 20% b.h. y 50°C para GURI a 22% b.h.

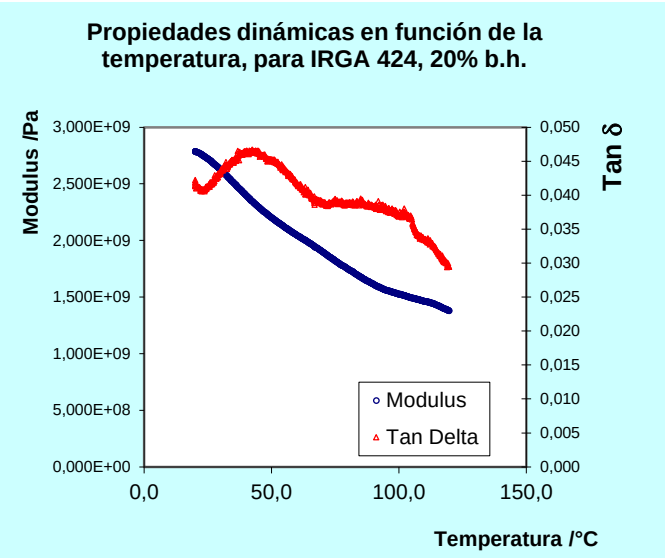
A medida que el nivel de plastificante disminuyó, la región de transición vítrea se amplió. Esto fue interpretado como un efecto de cross-linking en un sistema de polímero y diluyente (Brinke et al. 1983). La pérdida de agua de las regiones amorfas puede formar enlaces entre cadenas y enlaces puente de hidrógeno intracatenarios (French 1984). Estos enlaces restringen la movilidad de las cadenas y por lo tanto aumentan la *Tg*.

Las *Tg* de las variedades argentinas estudiadas en este trabajo, fueron comparadas con la *Tg* de la variedad Bengal (grano medio) y con la variedad Cypress (grano largo) medidas por Perdon et al. (2000) con la

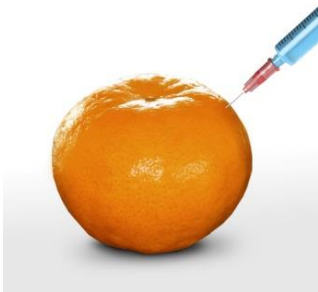
metodología de análisis termomecánico (TMA). Mediante una inspección visual, las temperaturas de transición vítrea de IRGA 424 y de GURI resultaron significativamente mayores, excepto en el rango de humedades de 17,5 a 20%, donde los valores obtenidos por Perdon et al. (2000) fueron comparables a aquellos de la variedad IRGA 424.

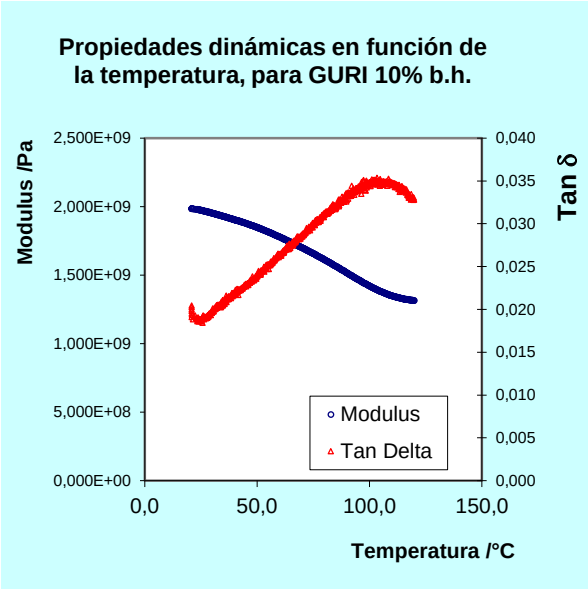
Siebenmorgen et al. (2004) determinaron las temperaturas de transición vítrea de las variedades Drew (grano largo) y Bengal mediante DMA, y compararon sus resultados con datos bibliográficos de *Tg* de las mismas variedades, obtenidos mediante TMA. Estos autores reportaron diferencias en los resultados obtenidos por ambos métodos, especialmente cuando el contenido de humedad de las muestras es menor al 15%.

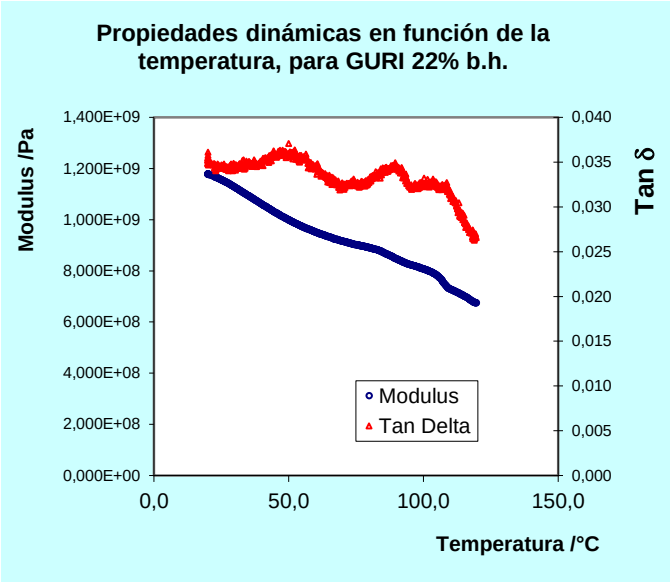




Figuras 2 y **3**. Curvas DMA de muestras de harina de arroz IRGA 424 con 14% y 20% de humedad en base húmeda, respectivamente. Comparando ambos resultados, se observa que el valor de Tan Delta disminuye conforme aumenta la humedad contenida en la muestra de almidón de la variedad IRGA. El segundo valor de Tan Delta se corresponde con un cambio de módulo ocurrido por la deshidratación de la muestra.







Figuras 4 y **5**. Curvas DMA de muestras de harina de arroz GURI con 10% y 22% de humedad en base húmeda, respectivamente.

Comparando ambos resultados, se observa que el valor de Tan Delta disminuye conforme aumenta la humedad contenida en la muestra de almidón de la variedad GURI. Los valores siguientes de Tan Delta se corresponden con un cambio de módulo ocurrido por la deshidratación de la muestra.

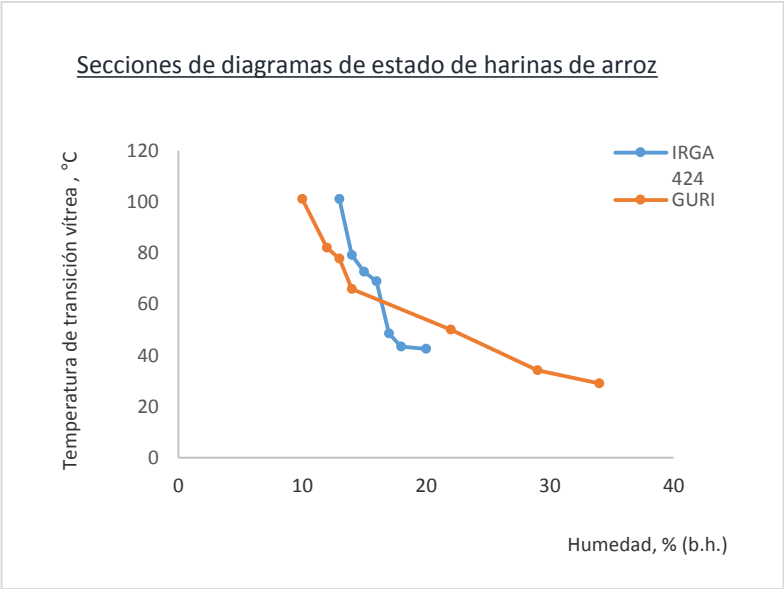


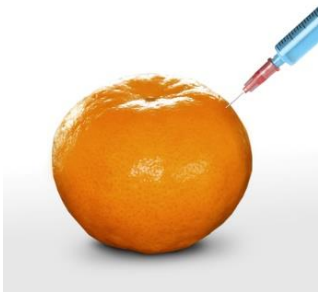
Figura 6. Diagramas de estado de harinas de arroz.

CONCLUSIONES

Las *Tg* de muestras de harina de arroz de las variedades argentinas IRGA 424 y GURI, de diferentes contenidos de humedad, fueron determinadas satisfactoriamente mediante un analizador mecánico dinámico.
Se observó claramente que el valor de la transición vítrea dependió del contenido acuoso de las muestras, que actuó como un plastificante del sistema almidón/agua. Los valores de *Tg* hallados para la variedad IRGA aumentaron desde 42,5 hasta 105,9 °C, para un contenido de humedad decreciente de 20 a 10 %. Para GURI, la *Tg* aumentó desde 29 hasta 103,2°C para un rango de humedad decreciente de 34 a 10%. Los valores de *Tg* correspondientes a las condiciones de cosecha fueron 42,5°C para IRGA 424 a 20% b.h. y 50°C para GURI a 22% b.h.
Las diferencias entre los valores de *Tg* de ambas variedades de arroz argentinas no fueron significativas. Sin embargo, estos valores resultaron significativamente mayores que los obtenidos por Perdon et al. (2000) para las variedades *Cypress* y *Bengal*. Esto puede deberse a que los resultados fueron obtenidos mediante diferentes métodos de medición y a la variabilidad en el contenido de amilosa de cada variedad de arroz.

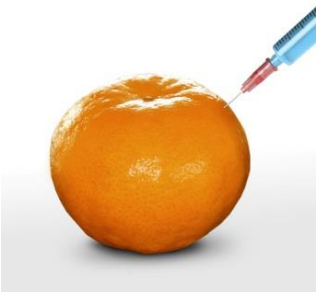
BIBLIOGRAFÍA

Brinke GT, Karasz FE, Ellis TS. 1983. Depression of glass transition temperatures of polymer networks by diluents. Macromolecules 16: 244-249.
Cnossen AG, Siebenmorgen TJ. 1999. Determining minimum tempering durations while maintaining head rice yield. In: Norman, R.J., Meullenet, J.-F., Moldenhauer, K.A.K. (Eds.), B.R. Wells Rice Research Studies 1999: Research Series 476, pp. 331–339.
Cnossen AG, Siebenmorgen TJ. 2000. The glass transition temperature in rice drying and tempering: Effect on milling quality. *Trans. ASAE* 23(6): 1661–1667.
Cnossen AG, Siebenmorgen TJ, Yang W. 2002. The glass transition temperature concept in rice drying and tempering: effect on drying rate. Transactions of the Asae 45 (3), 759–766.
French D. 1984. Organization of starch granules. In R.L. Whistler, J.N. Bemiller and E.F. Paschall, Starch chemistry and technology (pp. 183-247). New York: Academic Press.
Hoyos. 2010. Caracterización térmica, mecánica y de sorción de sistemas de almidón de yucca y aceite de maíz. Trabajo de grado presentado en la Universidad Simón Bolivar. 27-29.
Jia Hai-yan Jia, Li D, Yubin Lan, Bhandari B, Shi J. 2009. Thermomechanical Property of Rice Kernels Studied by DMA. International Journal of Food Engineering
Volume 5, Issue 2 Article 2
Jindal VK, Siebenmorgen TJ. 1994. Effects of rice kernel thickness on head rice yield reduction due to moisture adsorption. Transactions of American Society of Agricultural Engineers. Vol 37(2). p 487-490.
Lague C, Jenkins BM. 1991. Modeling pre–harvest stress–cracking of rice kernels (Part 1, Part 2). *Trans. ASAE* 34(4): 1798–1823.
Levine H, Slade L. 1944. A food polymer science approach to structure property relantionships aqueous food systems: Non-equilibrium behavior of carbohydrate- wáter systems. Nabisco Brands, Inc., Fundamental Science Group, P.O. Box 1944 East Hanover, New Jersey 07936-1944 USA.
Perdon AA, Siebenmorgen TJ, Mauromoustakos A. 2000. Glassy state transition and rice drying: Development of a brown rice state diagram. *Cereal Chemistry* 77(6): 708–713.
PerkinElmer 2007. Application Note. Use of Material Pockets for Mechanical Analysis of Powders.
Schluterman DA, Siebenmorgen TJ. 2007. Relating rough rice moisture content reduction and tempering duration to head rice yield reduction. Transactions of the Asabe 50 (1), 137–142.
Siebenmorgen TJ, Yang W, Sun Z. 2004. Glass transition temperature of rice kernels determined by dynamic mechanical thermal analysis. Transactions of the Asae 47 (3), 835–839.
Steffe JF, Singh RP. 1980. Theoretical and practical aspects of rough rice tempering. *Trans. ASAE* 23(3): 775–782.



Sun Z, Yang W, Siebenmorgen TJ, Stelwagen AM, Cnossen AG. 2002. Thermomechanicaltransitions of rice kernels. Cereal Chem. 79: 349−353.
Yang W, Jia CC, Siebenmorgen TJ, Pan Z, Cnossen AG. 2003. Relationship of kernel moisture content gradients and glass transition temperatures to head rice yield. Biosystems Engineering 85 (4), 467–476.
Yang W, Jia C. 2004. Glass transition mapping inside a rice kernel. Transactions of the Asae 47 (6), 2009–2015.
Zeleznak KJ, Hoseney RC. 1987. The Glass Transition in Starch Cereal Chem. 64(2):121. Vol. 64, No. 2.
Zhang Q, Yang W, Jia C. 2003. Preservation of head rice yield under high temperature tempering as explained by the glass transition of rice kernels. Cereal Chemistry 80 (6), 684–688
http://proarroz.com.ar/informacion-de-interes/variedades-de-arroz/guri-inta-cl

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecemos a Ramón Hidalgo y a Gustavo Favre por la provisión de las muestras de arroz para realizar los ensayos.



Effect of drying conditions on the quality of rice

Bertotto M.M.[1], Gastón A.[2,3], Sánchez Sarmiento, G.[1,3]

[1]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ingeniería, Av. Paseo Colón 850. C1063ACV, Buenos Aires, Argentina.
[2]Fac. de Cs. Exactas Ingeniería y Agrimensura. UNR. IFIR (CONICET/UNR) Av. Pellegrini 250. (2000) Rosario. Argentina.
[3]Universidad del Salvador, Facultad de Ciencia y Tecnología, Av. Callao y Córdoba (C1023AAB), Buenos Aires, Argentina.
mbertotto@hotmail.com

RESUMEN
El objeto de este estudio fue investigar, aplicando la metodología de las superficies de respuesta, los efectos de la temperatura del aire (40, 50 y 60°C), del tiempo de atemperado (40, 80 y 120 minutos) y de la humedad inicial del atemperado (15, 17 y 19% en base seca) sobre el rendimiento total, el rendimiento en grano entero y el tiempo total del proceso. Se realizó el secado en dos etapas, con un atemperado intermedio. Se establecieron trece condiciones de secado de acuerdo al diseño experimental de Box-Behnken. Se encontró que la temperatura de secado y la interacción entre ésta y la humedad inicial del atemperado fueron los factores más significativos. El efecto de los factores mencionados sobre las respuestas estudiadas se simuló satisfactoriamente mediante un polinomio de segundo grado. Las condiciones óptimas predichas para alcanzar el mayor rendimiento total (74,12%) incluyeron: secado a 46,63°C, tiempo de atemperado de 49 minutos, y humedad inicial de atemperado de 19%. Para alcanzar el valor máximo del rendimiento en grano entero (52,9%): secado a 40°C, 40 minutos de atemperado y 19 % de humedad inicial de atemperado. En estas condiciones óptimas, el grano alcanzó una humedad del 13% en 105 minutos.

Palabras Clave: Deshidratación, atemperado, superficies de respuesta, rendimiento en grano entero.

ABSTRACT
A factorial design was used to determine the effects of drying process conditions on the quality of rice. Tests were carried out in experimental tunnel dryer using paddy rice from Argentina variety IRGA 424. The objective was to research into the effect of drying temperature (40, 50 and 60°C), tempering time (40, 80 and 120 minutes) and initial tempering moisture (15, 17 and 19% dry basis) on head rice yield (HRY), milled rice yield (MRY) and total processing time (TP) of paddy rice. Two-stage drying with an intermediate tempering period was carried out. Thirteen drying conditions were established according to Box-Behnken design. It was found that the drying temperature and the interaction between this and the initial moisture tempering were the most significant factors. The optimum conditions to reach the highest total yield (74.12%) included: drying at 46.63°C, 49 minutes of tempering time, and an initial moisture tempering content of 19%.To achieve the maximum value of whole grain yield (52.9%) : drying at 40°C, 40 minutes of tempering and an initial moisture tempering content of 19%. Under these optimal conditions, the grain reached a moisture content of 13% in 105 minutes.

Keywords: Dehydration, tempering, response surface methodology, intermittent drying, head rice yield.

INTRODUCTION

Among cereals, rice (Oryza Sativa L.) is considered to be a staple food for nearly one-half of the world's

population (Payman et al. 2014). It provides twenty percent of the energy consumed by them. It is also the most cultivated cereal in the world after corn. This important food has been part of mankind's diet for thousands of years. This has been so because rice is an abundant cereal, it has high nutritional value and it is affordable.

Rice should be harvested when grains have moisture content lower than 28%. However, if the rice is harvested with a moisture content between 26% and 16 % wb, its milling quality can be superior (Aguerre 1984). To avoid microbial growth, rice should be stored after reducing its moisture content to 13%.

In order to achieve appropriate grain moisture contents for storage, the harvested grains are dried using a current of hot air. During this process, the surface of the grain reaches equilibrium very quickly. However, the moisture content in the center varies slowly, developing moisture gradients.

Moisture content gradients within the kernel produce stress that can cause fissures when the stress exceeds the tensile strength of the rice kernel (Kunze 1979). This poses a major problem to the industry because most of the rice is consumed as whole polished grains. Head rice yield is particularly important because broken rice usually has a much lower marketing value. Therefore, the main goal of the rice processors is to obtain the highest possible head rice yield (HRY) so as to maximize economic return (Siebenmorgen et al. 1992). It is generally accepted as a norm of quality assessment (Kunze et al. 1978).

Intermittent drying is a process in which the drying and tempering stages are performed sequentially. Previous research has shown that this process reduces the number of fissured grains (Li et al. 1999, Iguaz et al. 2006). In other words, intermittent drying produces a higher Head Rice Yield (HRY). During tempering, the moisture content inside the grain tends to equalize, increasing on the surface and decreasing at the center.

The aim of this study was to investigate, using Response Surface Methodology (RSM), the effects of drying temperature, tempering time as well as rice initial moisture content at tempering on milling yield and on total process time. To that end, different drying runs have been carried out on paddy rice under controlled conditions according to Box-Behnken design. For each drying condition, moisture content was recorded as function of time and head rice yield of the milling process was calculated.

As genetic factors also affect the whole grain percentage, causing that different varieties respond differently to the same drying processes (Jindal et al. 1994, Lague et al. 1991), it was important to perform the proposed analysis for a typical Argentinian variety, called IRGA 424.

MATERIALS AND METHODS

Material

A local variety of long rice paddy, IRGA 424, provided by the Faculty of Agricultural Science of the North-East National University was used in this study. Initial moisture content (MC) was about 9% d.b. (dry basis). The defective, unshelled or broken grains were manually separated and discarded. The sample was sieved to remove dust and remains of plants. Grain moisture was determined gravimetrically according to the AOAC 925.10 method (AOAC, 2000), and it was expressed as g water / g dry solid.

Grain conditioning for drying testing

To condition paddy rice, 15 sample flasks of hydrated rice were prepared. In each one, 100 g of rice were weighed, and the amount of water needed to reach 22% d.b MC was added. The flasks were shaken and stored in the refrigerator for 7 days at a temperature of about 5°C. It is noteworthy that during the required period to reach equilibrium no fungal growth was observed.

Description of the drying equipment

The tests were carried out in a drying tunnel consisting of a centrifugal fan, with a maximum flow of 5500 l min^{-1} and a discharge pressure of 600 mm water. The device has a valve in series with the heating chamber that regulates the air flow, and an electronic controller to regulate the temperature. Speed (5 m s^{-1}) and the relative humidity (from 11.1 to 20.9%) were determined by means of a digital anemometer Testo 412-2 (Testo Argentina S.A., Buenos Aires, Argentina). The air temperature was regulated at 40, 50 or 60 ± 0.5 °C using a mercury thermometer with an error of ± 0.1°C.

Paddy rice treatment in a rice miller

The dehydrated paddy rice grains were stored at room temperature for 7 days and then processed in a rice laboratory mill Suzuki MT-95 (Suzuki S.A., San Pablo, Brasil). This equipment performs three operations, shelling by grinding, abrasive polishing and separation of whole polished grains from the broken ones by means of a notched drum (Bello 2014).

Rice Milling Yields

Rice milling yield refers to the amount of polished white rice obtained from unhusked rough rice. Head Rice Yield (HRY) is one of the most important parameters in determining the economic and processing value of a rice crop. It is defined as the mass percentage of rough rice kernels that are at least three quarters their original kernel length after milling.

After the period of post-drying conditioning, the initial mass of paddy rice was recorded and the Milled Rice Yield (MRY) and Head Grain Yield (HRY) were determined according to the following expressions:

$$\text{HRY (\%)} = \frac{\text{Mass Head Rice}}{\text{Mass Rough Rice}} x100 \qquad (1)$$

Where: Head Rice = all kernels that are at least three quarters of their original length after milling; Rough Rice = all kernels in sample, prior to dehulling.

$$\text{MRY (\%)} = \frac{\text{Mass Milled Rice}}{\text{Mass Rough Rice}} x100 \qquad (2)$$

Where: Milled Rice = all kernels in a sample, including head rice and broken, after milling (removal of bran); Rough Rice = all kernels in sample, prior to dehulling.

Drying tests - experimental design

In order to establish the process variables and the experimental region that will provide a wide range of performance in whole grain yield, two series of tests were conducted: Isothermal drying in a single stage (Control 1) and two-stage drying with 24 hours of tempering and an initial moisture tempering of 17% (Control 2). The drying conditions of the preliminary tests are shown in **Table 1**. The paddy conditioned (22% moisture, dry basis) was dewatered to a final moisture content of 13% (dry basis). Preliminary drying tests were conducted in triplicate.

The experimental design is shown in **Table 1**, it can be seen that the drying conditions were established in terms of three factors: air temperature (40, 50, 60°C), initial moisture tempering step (15, 17, 19% d.b) and tempering time (40, 80, 120 minutes). The test corresponding to the central point of the design was triplicated.

The loss of mass corresponding to the evolution of the drying process, was controlled by weighing the system at intervals of two minutes, using a precision balance (± 0.0001g). The samples were removed at different times and the rice grains were weighed so as to determine the drying curve (MC "vs" time). In all tests drying air velocities of 5 ms^{-1} were used, in order to ensure the process of mass transfer was internally controlled.

At the end of the first drying stage, the rice grains were quickly transferred to an airtight container (thermo) which was stored in a stove at the same temperature as the one used in the drying stage. When the tempering time was over, paddy rice was transferred again to the dryer to complete the second drying stage. Finally, the dried rice was stored in hermetic canisters at room temperature for at least 7 days. Then it was processed in the rice mill so as to obtain the fraction of whole grain polished rice.

Table 1. Experimental conditions of drying tests.

	Nº	Coded factors(1)			Drying temperature (°C).	Tempering time (min).	Initial Tempering Moisture (%)
		Drying temperature (°C)	Tempering time (min).	Initial Tempering Moisture			
Box-Behnken design	1	0	1	1	50	120	19
	2*	0	0	0	50	80	17
	3	1	1	0	60	120	17
	4	1	0	-1	60	80	15
	5	0	1	-1	50	120	15
	6	-1	0	-1	40	80	15
	7	-1	0	1	40	80	19
	8	0	-1	-1	50	40	15
	9	0	-1	1	50	40	19
	10	1	0	1	60	80	19
	11	-1	-1	0	40	40	17
	12	1	-1	0	60	40	17
	13	-1	1	0	40	120	17
Control 1: Single-Stage Drying					40	no	no
					50	no	no
					60	no	no
Control 2: Drying with 24 hs of tempering					40	24 h	17
					50	24 h	17
					60	24 h	17

(1) Linear Coding. *Design Central Point

Response surface method (RSM)

The effect of drying conditions used to characterize the quality of the grain and the drying kinetics were analyzed using the methodology of response surface (RSM).

A RSM was applied to analyse the effect of working variables (factors) on quality variables and time (responses). A second degree polynomial associated with the experimental design (Khuri et al. 1987) was used to model the quality variables:

$$R_i = a_0 + a_1X_1 + a_{11}X_1^2 + a_2X_2 + a_{22}X_2^2 + a_{12}X_1X_2 + a_3X_3 + a_{33}X_3^2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 \qquad (3)$$

Equation (3) analytically represents the response surface for each response R. The coefficients a_0, a_1 and a_{11}, represent the constant, linear and quadratic effects respectively, while the coefficients a_{12}, $a_{13}$and a_{23} represent the interaction effect between factors X_1, X_2 and X_3.

The coded values are listed below:

Drying temperature: (X_1), Tempering time: (X_2) and Initial tempering moisture: (X_3). Responses studied (R1 = Milling Yield), (R2 = Time Process). At the same time R1 is characterized by two parameters: Head Rice Yield (HRY) and Milled Rice Yield (MRY).

STATGRAPHICS ® software (Statistical graphics Corporation, USA) was used to obtain the coefficients of the equation (3) and to analyze the response surfaces.

RESULTS AND DISCUSSION

Preliminary drying tests

The development of this work was only justified in case there was an experimental region that provided a wide range of whole grain yield. So as to check the existence of this region, two series of preliminary tests have been carried out: single stage drying (Control 1) and two stages drying with 24 hours tempering and an initial moisture tempering of 17% (Control 2). It could be noted that single stage drying required a longer time to achieve storage moisture compared with the two-stage drying. The tempering period helped to reduce the total processing time. The results of Controls 1 and 2, are shown in **Table 2**.

It could be appreciated that the experimental region studied provided a wide range of head rice yield for all drying and tempering temperatures tested. For example, at 60°C, HRY was 20.84% for single -stage drying and HRY was 44.35% for two – stage drying with 24 hours of tempering. This difference guaranteed the existence of a margin of HRY within which yields achieved with other drying conditions tested were obtained. The margins got for MTY were lower than for HRY.

Preliminary drying tests were performed in triplicate. The observed values lay in the range of 95% confidence interval.

Table 2. Results of Controls 1 y 2.

Control	T °C	Tempering time	Initial moisture tempering	Milled Rice Yield	Head Rice Yield
1	40	no	no	62.6	27.2
	50	no	no	66.5	30.4
	60	no	no	57.1	20.8
2	40	24 h	16.9	73.1	50.2
	50	24 h	17	68.8	33.1
	60	24 h	17.6	72.4	44.6

Drying curves

Single stage drying

The weight variation of the sample was recorded during the drying run and the moisture content based on the initial moisture content of rice (U_0) was calculated. Figure 1 shows the dimensionless MC (U / U_0) vs. time, for the different drying temperatures used.

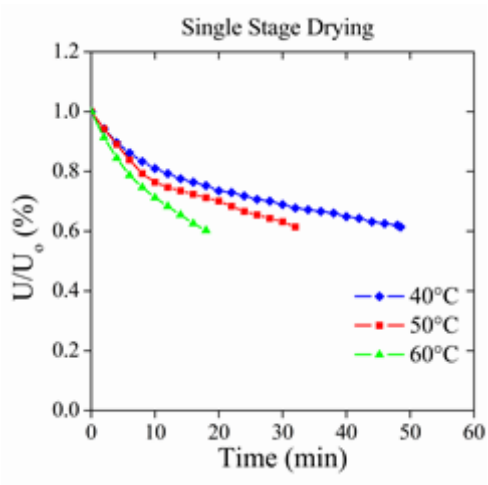


Figure 1. Evolution of dimensionless MC during single stage drying for different drying temperatures.

Grain MC ranged from the initial content (approximately 22%) and 13%, which is considered safe for the subsequent storage of rice. The advantage of plotting dimensionless MC is that it allows a comparison between drying curves in case of a difference (<10%) in the initial moisture content.
It is also noted in **Figure 1** that the drying rate (slope of the curve) increases with temperature.

Two-stage grain drying

A two-stage grain drying method has been adopted as a simplified model study. However, in the industry paddy rice drying in airstream is practiced in at least five or six stages.
First, the effect of tempering time on the drying kinetics (MC "versus" total time) was analyzed. **Figures 2** and **3** show the effect mentioned above at 40°C and 60°C respectively. In the abscissa the total drying time (sum of the drying and the tempering time) was recorded.

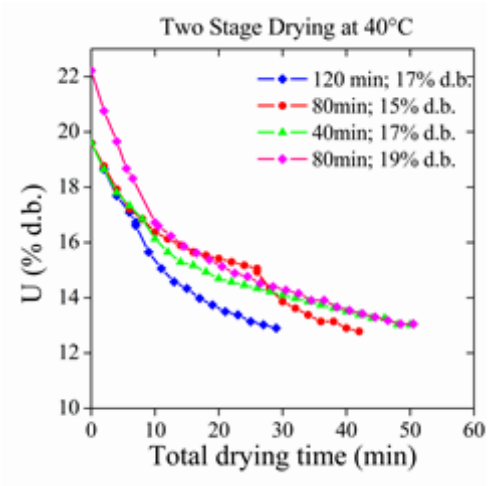


Figure 2. Evolution of grain MC according to the tempering time for two stage drying at 40°C.

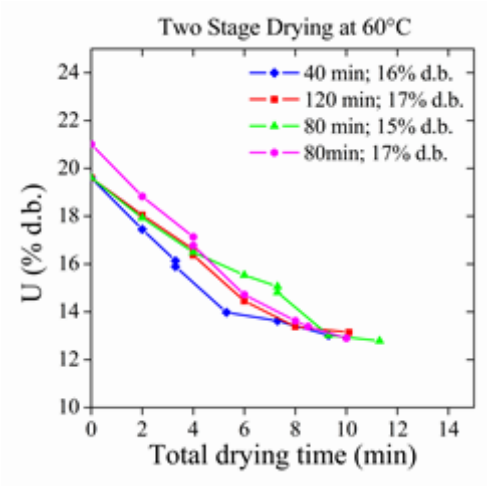


Figure 3. Evolution of grain MC according to the tempering time for two stage drying at 60°C.

In **Figure 2** it can be seen that during the first drying stage at 40°C for samples with the same initial moisture content, the points were coincident, which shows good replicability of experimental trials.
The run corresponding to 80 min of tempering time differed from the rest due to its higher initial moisture content (23%). It can also be appreciated that the dehydration rate in the second drying stage increased by augmenting the tempering time. At 60°C, the lowest total drying time period corresponded with the lowest

evaluated tempering time (**Figure 3**). In the three cases, it can be observed that the drying rate (slope of the curve) is greater in the first drying stage and that it increases with temperature.

Analysis by Response Surface Method

A Box-Behnken design (Khuri et al. 1987) is a type of response surface design that does not contain an embedded factorial or fractional factorial design. Box-Behnken designs have combinations of treatment that lie at the midpoint of the edges of the experimental space and require at least three continuous factors.

The quality variables to be optimized were Milled Rice Yield (MTY), Head Rice Yield (HRY) and total processing time (TP). For this work, optimizing meant to minimize the latter and maximize both yields. The (coded) factors that affected the responses studied were the drying temperature (X_1), the tempering time (X_2) and the initial moisture tempering (X_3).

A second degree polynomial model associated with the experimental design was selected according to the following equation:

$$R_i = a_0 + a_1X_1 + a_{11}X_1^2 + a_2X_2 + a_{22}X_2^2 + a_{12}X_1X_2 + a_3X_3 + a_{33}X_3^2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 \qquad (3)$$

The coefficients a_0, a_1 and a_{11}, represented the constant, linear and quadratic effects, respectively, while the coefficients a_{12}, a_{13} and a_{23} represented the effect of interaction between each pair of encoded factors x_1, x_2 and x_3.

The effect of drying conditions on milling yields and on total time of processing was then analyzed using the methodology of response surface. The studied responses were adjusted using Eq. (3) determining the coefficients by nonlinear regression. **Table 3** shows the coefficients of that equation, obtained by STATGRAPHICS® software (Statistical Graphics Corporation, USA), for the different responses studied. Note that some insignificant coefficients were included in the Table because they contribute to the adjustment of the proposed model.

Table 3 shows the statistical significance of each effect. It was obtained by comparing its mean square against an estimate of the experimental error. The R^2 statistic indicated that this model, explained 91.5% of the variability in MRY, 98.2% in HRY and 98.3% in TP.

Table 3. Effect of drying conditions on studied responses: coefficients of Eq. (4), level of significance and determination of the regression coefficient.

Coefficient	MRY	HRY	Total Drying Time (min)
Constant a_0	72.96	40.07	95.95
Linear a_1	0.97 ***	-4.17 ***	-16.65 ***
a_2	-0.045 NS	-0.17 NS	37.88 ***
a_3	0.73*	-2.90 ***	3.85 NS
Quadratic $a_{1.1}$	-2.67 ***	4.68 ***	---------
$a_{2.2}$	-0.47 NS	--------	9.12 ***
$a_{3.3}$	-------	-2.62 ***	13.27 ***
Interaction $a_{1.2}$	0.57 NS	1.68 ***	5.0 NS
$a_{1.3}$	-2.32 ***	-2.93 ***	----------
$a_{2.3}$	-0.49 NS	-4.72 ***	4.75 NS
Correlation R^2	0.9153	0.9821	0.9829

***, **, *: significant coefficients for confidence interval of 99%, 95% y 90% respectively; NS: no significant; ---------- excluded coefficient.

Milled Rice Yield

After the post-drying conditioning period, the initial mass of dried paddy rice was recorded (PI). After that, the dehulling and abrasive polishing were carried out in the rice mill. The mass of total polished rice (whole

and broken grains) was recorded and finally the Milled Rice Yield (MRY) of each of the drying runs performed was determined.

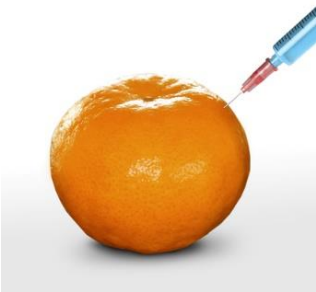
Pareto Analysis showed that the quadratic effect of initial tempering MC (CC) was not significant, and therefore it was excluded from the analysis. As a result, it was observed that linear and quadratic coefficients of the drying temperature and the interaction between this and the initial tempering MC have been the most significant factors. This analysis also showed that the tempering time had little influence on MRY.

Finally, the predicted response surface for MRY as function of X_1 and X_3 has been obtained by Eq. (3); it is shown in **Figure 4a**. The tempering time (X_2) was kept constant because it did not have a significant influence on MRY. The coded value corresponding to 40 minutes of tempering was chosen (X_2 = -1) to minimize the processing time.

Head Rice Yield (HRY)

After the determination of the Milled Rice Yield, fractions of whole polished grains and broken grains have been separated according to size using rotating notching drum.

The mass of the whole polished grain (not broken) was recorded and Head Rice Yield (HRY) was calculated. By use of Pareto Analysis, it was observed that the quadratic effect of the tempering time was not a significant factor on HRY, reason why this coefficient was removed from the equation (3).



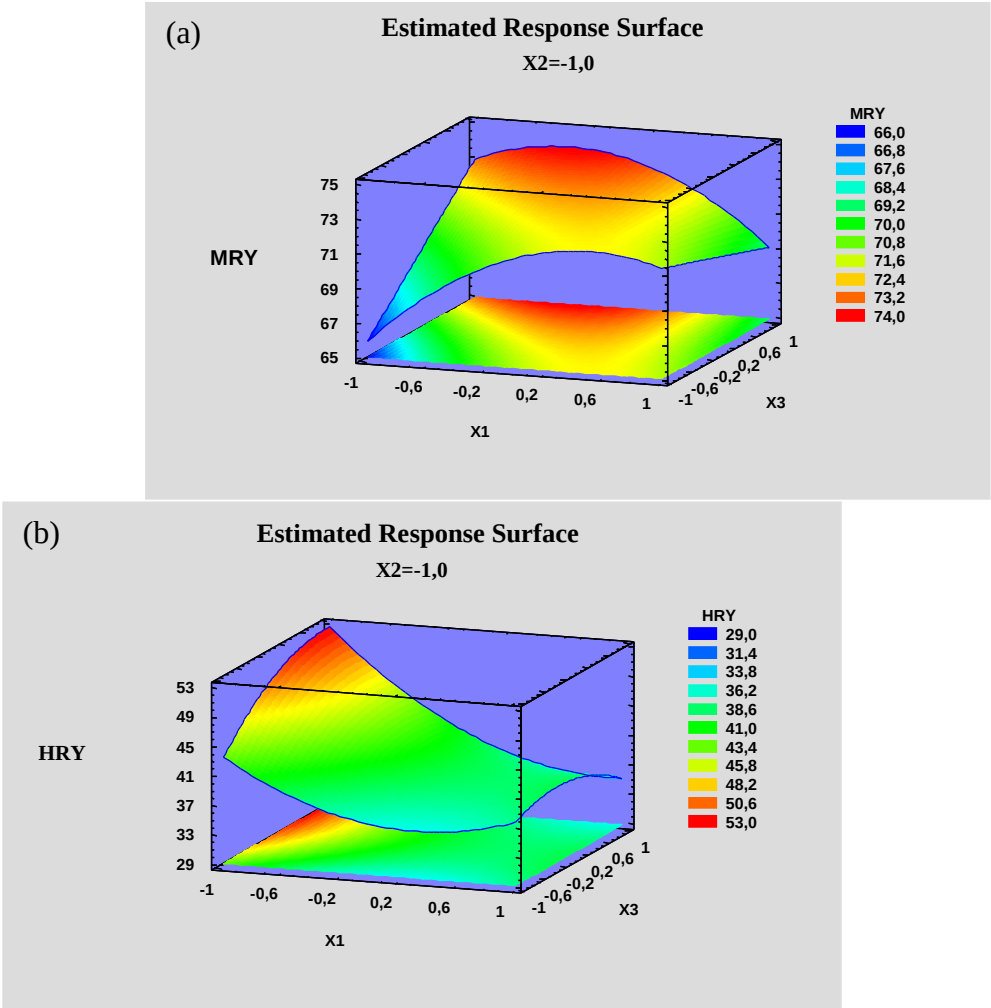


Figure 4. Estimated Response Surfaces depending on x_1 y x_3 for MRY (a) and HRY (b).

Head Rice Yield ranged between 20.84 and 52.06%. The lowest value was obtained for a single stage drying run at 60°C. Increasing the drying temperature caused a remarkable decrease in the value of HRY. Moreover, increasing the initial tempering MC caused a pronounced decrease in HRY. The tempering time within the experimental range set (40 - 120 min) had no effect on the milling yields studied. The response surface for HRY predicted by Eq. (3) based on X_1 and X_3 (for X_2 = -1) is shown in **Figure 4b**, where the effects of the above factors can be clearly observed.

Total Processing Time (TP)

In the standardized Pareto chart for TP, it could be seen the quadratic effect of drying time (AA), as well as the interaction between the initial tempering moisture and the drying time (AC) were not significant. It was found that the linear coefficients of X_1 and X_2 were the most significant.

Optimization of responses

The ultimate goal of RSM is to determine the optimum operating conditions of the system; this means identifying a region of the factor space in which the requirements set for the various responses studied are met.

The maximization of MRY in the indicated region was obtained in 74.12%. The optimal performance can be

achieved at a drying temperature of 46.63 °C (X_1= -0337), Tempering time 49 minutes (X_2 = -0777) and an initial MC tempering of 19% (X_3= 1).
Maximizing HRY in the indicated region is obtained in 52.92%. This value can be achieved with a drying temperature of 40.00°C (X_1 = -1), Tempering time of 40 minutes (X_2 = -1) and initial moisture tempering of 18.82% (X_3 = 0,91).
Minimizing the overall process time on the indicated region was obtained in 45.52 minutes. This time corresponds to a drying temperature of 60.00°C (X_1= 1), a Tempering Time of 40 minutes (X_2= -1) and initial moisture tempering of 17.07% (X_3= 0.034).
According to expectations, the required operating conditions to maximize rice milling yields were similar to each other but differed from the conditions required to minimize operating time. The biggest discrepancy was presented in the case of the temperature. Since, as a rule, the quality of rice is often prioritized, optimizing yields is more relevant.

CONCLUSIONS

The aim of this study was to evaluate the effects of drying conditions on milling yield and on total processing time. The optimal conditions were drying temperature 40°C, 40 minutes tempering and initial moisture tempering of 19%. For these conditions predicted by the program, the total processing time for the grain to reach 13% of moisture content is 105 minutes.
As noted that the drying rate is greater in the first stage, it is conceivable that it is mainly in this first stage where the moisture gradients are created. Therefore, it is advisable that this stage be as short as possible, reaching the grain of rice a moisture content of about 19%.
The tempering period has facilitated moisture gradients reduction, however, there were no significant differences in yields between different times evaluated. In order to optimize the total processing time, it is recommended to choose the shortest tempering time tested (40 minutes).

REFERENCES

Aguerre, RJ. 1984. Secado de arroz : Estudio de la cinética y de las variables que afectan la calidad del grano en la deshidratación. PhD Thesis. Buenos Aires, Argentina: Departamento de Industrias, Universidad de Buenos Aires.
Bello M, Loubes M, Aguerre R, Tolaba M. 2014. Hydrothermal treatment of rough rice, effect of processing on products attributes. Journal of Food Science and Technology, 52: 5156–5163.
Iguaz A, Rodriguez M, Virseda P. 2006. Influence of handling and processing of rough rice on fissures and head rice yields. Journal of Food Engineering, 77: 803–809.
Jindal VK, Siebenmorgen TJ. 1994. Effects of rice kernel thickness on head rice yield reduction due to moisture adsorption. Transactions of American Society of Agricultural Engineers, 37: 487-490.
Khuri AI, Cornell JA, Dekker M. 1987. Response Surfaces: Designs and Analyses. Quality and Reliability Engineering, 6:69-79.
Kunze R, Prasad S. 1978. Grain fissuring potentials in harvesting and drying of rice. Transactions of the ASAE, 21:361-366.
Lague C, Jenkins BM. 1991. Modeling pre–harvest stress–cracking of rice kernels (Part 1, Part 2). Transactions of the Asae, 34: 1798–1823.
Li YB, Cao CW, Yu QL, Zhong QX. 1999. Study on rough rice fissuring during intermittent drying. Drying Technology, 17: 1779–1793.
Payman SH, Bagheri I, Zareiforoush H. 2014. Milling characteristics of rice grains as affected by paddy mixture ratio and moisture content. International Journal of Biosciences, 4: 87-97.
Sharma AD, Kunze OR. 1982. Post-drying fissure developments in rough rice. Transactions of the Asae, 25: 465–468.
Siebenmorgen TJ, Lu R, Dilday RH, Costello TA. 1992. Modeling long grain rice milling quality and yield

during the harvest season. American Society of Agricultural Engineers, 35: 1905-1913.
Statgraphics Centurion XVII. Version 17.1.06. User's Guide.
Topolansky E. 1975. El arroz. Su cultivo y su producción. Editorial Hemisferio Sur. Cáp. VII. 181-196.

ACKNOWLEDGMENTS
The authors are grateful to Ing. Agr. Ramon Hidalgo for the provision of the rice with which these tests were conducted.

Desarrollo de bocaditos a base de amaranto aptos para personas con enfermedad celíaca

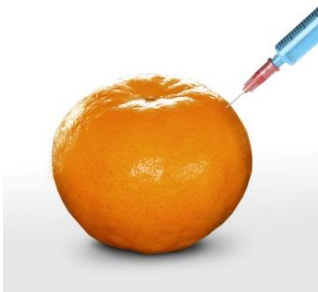
Bomben R.M., Zaniolo S.M., Rivarola J., Della Vedova J.P., Blanco M., Fernández O.N., Malka M.T.

Universidad Nacional de San Luis, FICA. Autopista 55 S/N (5730), Villa Mercedes, San Luís, Argentina
teresamalka@gmail.com

RESUMEN
El objetivo de este trabajo es desarrollar una formulación de bocaditos dulces a base de cereales mediante procedimientos de secado controlados aptos para personas con enfermedad celíaca, con propiedades organolépticas atractivas y empleando amaranto como principal ingrediente. Para la fase seca se usa amaranto popeado, chía, duraznos secos, soja texturizada, *flakes* de maíz y sésamo integral. Como aglutinante se usa jarabe de glucosa, miel, y lecitina de soja, mezclados y calentados a 75ºC. Ambas fases se mezclan y moldean para formar los bocaditos. La formulación se seca a 60ºC para lograr buena conservación, crocancia y cohesión, en un secadero con circulación de aire, sobre bandejas de malla de acero inoxidable. Para determinar el tiempo de secado, se realiza una evaluación de aceptabilidad mediante un test de ordenamiento de preferencia. Finalmente se envasa en bolsas de polipropileno selladas y almacenados en condiciones ambientales. Para determinar el corte de vida útil se fijan tres indicadores medidos quincenalmente: índice de peróxidos (IP), dureza medida con texturómetro TexturePro CT y actividad acuosa mediante un equipo AquaLab Serie 3TE. Todas las determinaciones se realizan por triplicado. Se seleccionan los bocaditos secados a 60ºC durante 8 min. La formulación obtenida presenta un contenido proteico superior a la mayoría de los productos similares del mercado, buen aspecto, color ámbar claro, brillo, aroma agradable característico del amaranto tostado, textura crocante y poco desgranamiento. La actividad acuosa del producto fresco es 0,386 lo que garantiza ausencia de hongos, levaduras y bacterias. El valor de dureza resulta de 2982 gf, IP de 5,03 meq/ Kg. El Balance nutricional de los bocaditos por 100 g de producto es: carbohidratos totales 48,57 g; proteínas 13,79 g; grasas totales 22,02 g; fibra bruta 3,99 g; cenizas 3,29 g y humedad 8,3 g. Los análisis nutricionales y los tres indicadores de corte establecidos varían levemente en el período de diez semanas estudiado, momento en el que se observa desgranamiento del producto con la consecuente pérdida de aceptación sensorial, este nuevo indicador no previsto determina el corte de vida útil.

Palabras Clave: bocaditos, amaranto, formulación, enfermedad celíaca, vida útil.

ABSTRACT
The objective of this work is to develop a formulation of sweet snacks from cereals by controlled drying procedures, suitable for people with celiac disease, with attractive organoleptic properties and using amaranth as a main ingredient. For dry phase is used: popped amaranth, chia, dried peaches, soybean texturized, corn flakes and sesame integral. Glucose syrup, honey, and soy lecithin are uses as binder, mixed and heated to 75°C. Both phases are mixed and molded to form the snacks. The formulation was dried on trays of stainless steel mesh in a circulating air dryer at 60°C, in order to achieve good conservation, crispness and cohesion. For determining drying time, an assessment of acceptability is performed by an order of preference test. Finally, packaged in polypropylene sealed bags and stored at environment conditions. The



shelf life is performed measuring three indicators, every two weeks: peroxide index (IP), hardness measured with CT TexturePro texturemeter and water activity by AquaLab 3TE Series. All determinations are performed by triplicate. The snacks dried at 60°C during 8 min are selected; the formulation obtained has a superior protein content than similar products on the market, good looking, light amber color, brightness, aroma pleasant characteristic of toasted amaranth, crispy texture and good cohesion between ingredients. The water activity of the fresh product is 0.386 which ensures absence of fungi, yeasts and bacteria. The hardness value is 2982 gf, 5.03 IP meq / Kg. Nutritional balance of snacks per 100 g of product is: total carbohydrates 48.57 g; proteins 13.79 g; total fat 22.02 g; crude fiber 3.99 g; ashes 3.29 g and moisture 8.3 g. The nutritional analysis and the three indicators of court established vary slightly in the period studied, however to the tenth week of storage there is breakdown of the product with the consequent loss of sensory acceptance, this new unplanned indicator determines shelf life cutting.

Keywords: snacks, amaranth, formulation, celiac disease, shelf life

INTRODUCCIÓN

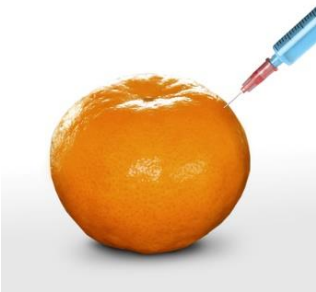
En los últimos años, uno de los productos alimenticios que ha registrado mayor crecimiento en el consumo de la población son las barras de cereales. Existen diversas formulaciones en el mercado, sin embargo son escasas las que presentan aptitud para el consumo de celíacos y los costos de estas son elevados. La mayoría de las barras comerciales presentan pobre calidad nutricional, su desarrollo se focalizó fundamentalmente en la obtención de productos de buenas características tecnológicas y organolépticas, prolongada vida útil a temperatura ambiente y formulación en base a ingredientes de bajo costo (Olivera C et al. 2012).

El elevado incremento de la población mundial, los numerosos casos de enfermedad celíaca que se diagnostican a diario y la deficiencia proteica de alta calidad en la dieta de los argentinos de los últimos tiempos, crean la necesidad del desarrollo de alimentos sustitutos. Según reporte del Ministerio de Salud de la Nación Argentina, a pesar que aún en la actualidad no hay registros, estudios preliminares en nuestro país indican una prevalencia de aproximadam1:200. Sin embargo actualmente se calcula que 1 de cada 100 personas es celíaca (INDEC2010). La celiaquía es la intolerancia permanente al gluten, conjunto de proteínas presentes en el trigo, avena, cebada y centeno (TACC) y productos derivados de estos cuatro cereales (Osella 2013).

Los productos libres de gluten se basan principalmente en harinas y féculas de distintos orígenes: maíz, mandioca, arroz, soja, entre otros y se caracterizan por un valor nutricional menor a sus contrapartes con gluten, al ser deficitarios en componentes como vitaminas, minerales y fibra dietaria.

Para el desarrollo de este producto se propone utilizar amaranto como principal ingrediente considerando que este pseudocereal contiene, además de nutrientes, factores promotores de la salud. El amaranto, es una de las fuentes más importante de proteínas (15 al 18%), vitaminas (A, B, C, B1, B2, B3); además de ácido fólico, niacina, calcio, hierro, fósforo y magnesio. Es considerado “el mejor alimento de origen vegetal para el consumo humano”, designación otorgada por la Academia Nacional de Ciencias de los EE.UU. y por la FAO en 1979. Esta categorización se debe a la alta calidad de sus proteínas, por su perfil de aminoácidos esenciales y por su excelente relación de costo-beneficio, en términos nutricionales (Manrique de Lara 2006). El amaranto contiene más lisina, triptófano y aminoácidos azufrados que los cereales (Bressani 2006). Las proteínas de amaranto son consideradas una excelente alternativa o complemento de los cereales y legumbres debido a su composición bien balanceada de aminoácidos esenciales. El patrón de aminoácidos de la proteína de amaranto es similar al del patrón propuesto por la FAO/OMS lo que sugiere que es una proteína de alto valor nutritivo (Becker 1989, Marcone y Yada 1991). Una de las características importantes de las proteínas de amaranto es que carecen de gluten, siendo aptas para ser utilizadas en dietas para personas con enfermedad celíaca. En cuanto a las grasas, el amaranto contiene entre un 5 y 8% de lípidos saludables, destacándose la presencia de escualeno. También contiene entre 3.9-17.8% de fibra bruta, posee entre 50-66% de almidón almacenado principalmente en el perisperma. En cuanto a vitaminas y minerales, contiene cantidades importantes de niacina y tiamina pero en menor cantidad que en granos de cereales, en

cambio, las cantidades de riboflavina y el ácido ascórbico son mayores.
Si bien el amaranto está poco difundido en el mercado consumidor argentino, se están desarrollando diversas investigaciones orientadas a desarrollar nuevos productos a base del mismo. Actualmente no se encuentran en el mercado nacional productos elaborados a base de amaranto aptos para celíacos.
El secado es un proceso de importancia en la producción de alimentos; el propósito es reducir la actividad acuosa a fines de lograr largos períodos de almacenamiento conservando la calidad sensorial y nutricional e inocuidad del producto. Los cambios físicos y químicos durante una operación de secado pueden mejorar ciertas características de los productos esperados, pero también disminuir la cantidad de nutrientes y propiedades organolépticas (Barbosa Cánovas y Vega Mercado 1996). Se considera que la textura es crítica en alimentos sometidos a secado, este proceso puede provocar endurecimiento de los mismos. También es importante destacar que en alimentos de baja actividad acuosa puede propiciarse rancidez oxidativa. Sin embargo, con un adecuado manejo, estas reacciones y cambios físicos pueden asegurar un alimento con un alto contenido en nutrientes, desarrollar color, aroma, textura, crocancia y cohesión y aumentar significativamente su vida media comercial o vida útil, período de tiempo durante el cual un alimento conserva su calidad aceptable para su consumo. Además, el envasado tiene una estrecha relación con las últimas etapas de fabricación y también depende de los requisitos de distribución. En este sentido, en el marco de este proyecto, se realizaron estudios previos para determinar que materiales y tipos de envase son adecuados para el producto, permitiendo conservarlo por un período de tiempo razonable apto para fines comerciales. Se opta por polipropileno teniendo en cuenta el muy bajo contenido de humedad del producto, se busca un material que ofrezca una buena barrera al vapor de agua como característica de mayor relevancia. El polipropileno es un termoplástico obtenido por la polimerización del propileno subproducto gaseoso de la refinación del petróleo, presenta entre sus propiedades físicas, una buena resistencia a la humedad (Matz1984).
La mayoría de los procesos de elaboración de barras de cereales comprenden una etapa de mezclado de los ingredientes secos, aglutinación con grasas y azúcares, y posterior secado. Las condiciones para realizar esta última etapa son diferentes, variando los rangos de tiempos y temperaturas desde 50 minutos a 60°C hasta 45 minutos a 120°C (Cheuquepan Villarroel Biolley 2004).
Los granos de amaranto se exponen a tratamiento térmico mediante calor seco para su popeado. Este proceso conlleva varios propósitos: obtener sabor, color y aromas agradables, mejorar la relación de eficiencia proteínica (PER) y la destrucción de factores antinutricionales, lo que hace más nutritiva a la semilla (Bressani 2006). También se produce la rotura de la capa fibrosa del pericarpio que recubre el grano, un incremento en la digestibilidad del producto y adquiere un sabor agradable a tostado lo cual hace que aumente su palatabilidad (Lema 2006). Además el amaranto popeado o reventado adquiere mayor área superficial y porosidad lo que permite mejor adherencia al ligante en la preparación de las barras. Con el objetivo de mejorar el perfil nutricional de la formulación, el amaranto se complementa con copos de maíz, semillas de chía, semillas de sésamo integral, duraznos deshidratados y soja extruida que constituyen la fase seca y son aglutinados por un ligante constituido por jarabe de glucosa, miel y lecitina de soja.
Los Copos de maíz son ricos en magnesio, antioxidantes como el betacaroteno, y vitaminas del grupo B (B1, B3 y B9), contribuyendo a la crocancia, color y volumen del producto final (Prieto 2005).
Las semillas de sésamo se caracterizan por ser ricas en minerales como magnesio, fósforo, cinc, cobre y calcio siendo este último el más relevante del grupo. Las de tipo integral presentan mayor cantidad de fibra. También son fuente de vitaminas del complejo B y E. De su contenido lipídico el 80% pertenece a las grasas poliinsaturadas fundamentalmente ácido linoléico y en menor cantidad alfalinoléico. Aportan lecitina, ácido graso que facilita la disolución de las grasas en medio acuoso. Poseen una cantidad elevada de proteínas (20% de su peso).En su contenido aminoacídico se destaca la metionina aunque es carente de lisina (Hernandez-Monzon 2014).
Las semillas de chía representan la fuente vegetal con más alta concentración de ácidos grasos Omega 3. Poseen un 33% de aceite, del cual el 62% es ácido linolénico y el 20% linoleico (Jimenez 2013).
El jarabe de maíz, llamado también sirope de glucosa o simplemente glucosa, es una sustancia prácticamente incolora, viscosa y ligeramente dulce. En línea general contiene dextrosa (glucosa), maltosa, dextrinas y



agua.
La lecitina de soja es una mezcla de fosfolípidos y aceite de soja. La característica química más relevante de la lecitina es su poder emulsionante dado que las moléculas de fosfolípidos poseen una parte polar hidrofílica y otra apolar lipofílica, responsables de la reducción de la tensión superficial entre dos fases inmiscibles.
La miel es un producto natural complejo producido por las abejas a partir del néctar de flores, convirtiéndolo en miel de néctar. La composición de la miel depende del tipo de plantas visitadas por las abejas y por las condiciones ambientales. La fuerte capacidad endulzante de la miel es debida a la presencia de los monosacáridos fructosa y glucosa como principales componentes (60-85%) y contiene además, compuestos fenólicos, minerales, proteínas, aminoácidos libres, enzimas y vitaminas como compuestos minoritarios (Pérez et al 2007). El objetivo de este trabajo es desarrollar una formulación de bocaditos dulces, de alto valor nutricional, a base de cereales, mediante procedimientos de secado controlado, aptos para personas con enfermedad celíaca, con propiedades organolépticas atractivas empleando amaranto como principal ingrediente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulación de los bocaditos

Para formular se realiza un balance de los macronutrientes que componen los ingredientes propuestos, a fin de obtener un producto alimenticio sin trigo, avena, cebada o centeno (TACC), con importante aporte de calcio y proteína a la dieta.
La formulación está integrada por un 68,5% de materiales secos y un 31,5% de fase húmeda o ligante. La fase seca está compuesta por un 33% de Amaranto popeado. Para la preparación del ligante se utiliza 54,3% de miel, 43,4% de glucosa y 2,3% de lecitina de soja.

Materias primas

Se utilizan los siguientes ingredientes secos: semillas de *Amaranthus cruentus* variedad Candil de cultivares de la Universidad Nacional de Rio IV popeadas, flakes de maíz, semillas de sésamo integral, semillas de chía, duraznos deshidratados y soja texturizada. Para aglutinar estos ingredientes se utiliza una mezcla de glucosa, miel y lecitina de soja, adquiridos en el mercado local de productos con marcas registradas.

Elaboración del popeado de amaranto

La semillas de amaranto se popean utilizando técnica por contacto directo, en placa calefactora de acero inoxidable de doble pared, a temperaturas entre 180-190ºC, medidas con termómetro infrarrojo digital marca TES-1327 Electrical Electronic Corp., durante 4 segundos aproximadamente.

Preparación de los bocaditos

Se pesan, en una balanza analítica marca OHAUS-modeloAR140, el jarabe de glucosa, la miel y la lecitina de soja, que mezclados forman el ligante. Esta mezcla se calienta a 75°C, simultáneamente se pesan los ingredientes secos y se mezclan con el aglutinante. La nueva mezcla se coloca inmediatamente en moldes de plástico circulares de 4 cm de diámetro y 1,1 cm de alto. De cada lote se obtienen 60 bocaditos y cada experiencia se realiza por triplicado.

Secado de la formulación

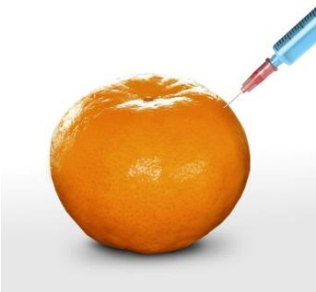
Los bocaditos moldeados se llevan a un secadero con circulación forzada de aire a 1,4 m/s, sobre bandejas de malla de acero inoxidable, para garantizar buena conservación y desarrollar los siguientes atributos: color pardo, aroma característico a amaranto tostado, textura crocante y bajo desgranamiento en la barra. Las experiencias de secado se realizan a 60°C por 8 min, 60°C por 10 min y 70°C por 8 min.

Envasado de los bocaditos

Al retirar los bocaditos se los deja enfriar hasta que su temperatura llegue a 24°C aproximadamente, medida mediante un termómetro infrarrojo de superficie. Finalmente se envasan individualmente en bolsas de polipropileno de 40 micrones de espesor, se sellan y se almacenan en condiciones ambientales para los estudios posteriores.

Análisis de la composición del producto desarrollado

Se realizan las siguientes determinaciones:



-Nitrógeno total por método de Kjeldahl, AOAC 24.027 (AOAC 1984).
-Materia grasa total por el método de AOAC 10166/67 (AOAC 1984).
-Cenizas por calcinación a 550ºC, por el método AOAC 14.006 (AOAC 1984).
-Contenido de humedad por diferencia de peso en estufa a 105ºC a presión atmosférica normal, hasta constancia de peso (Método 24.002, AOAC 1984).
-Fibra bruta por el método de AOAC 985.29 (AOAC 1984).
-Carbohidratos totales por diferencia.
Se estima el contenido de calcio por cálculo en base a la formulación del producto.

Análisis de textura

Se determina los perfiles de textura en el producto terminado y los parámetros correspondientes (dureza) a través de ensayos de corte realizados con un texturómetro Brookfield CT3. El análisis de este descriptor se realiza sobre tres bocaditos cilíndricos de 40 mm de diámetro y 10 mm de espesor, bajo las siguientes condiciones: sonda TA7, velocidad de cabezal 0,8 mm/s, deformación máxima 50%, el parámetro textural de fuerza máxima de penetración se relaciona directamente con la dureza de las barras, que se expresará como la fuerza en g necesaria para el corte de la muestra.

Análisis de actividad acuosa

Se determina la actividad acuosa del producto terminado como parámetro de inocuidad, con equipo AquaLab Serie 3TE.

Análisis Sensorial

Se realizan ensayos de aceptabilidad con paneles no entrenados de 60 panelistas que evalúan textura, color, sabor y apariencia global de las formulaciones secadas a distintas temperaturas y tiempos, utilizando una prueba del tipo de escala Hedónica de 9 puntos con extremos 1 = me disgusta mucho y 9 = me gusta mucho, y donde el puntaje intermedio 5 correspondía a la descripción “me es indiferente” (Meilgaard et al 1991).

Estudios de vida útil

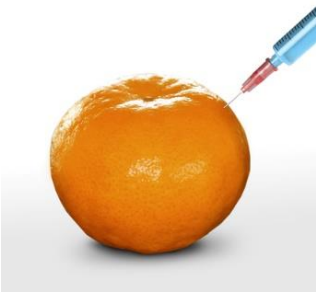
Los bocaditos de mayor aceptabilidad seleccionados por el panel no entrenado se almacenan en condiciones ambientales en envases de polipropileno termosellados. Se evalúa periódicamente el efecto del almacenamiento sobre sabor, color, textura determinados por análisis sensorial y las determinaciones de textura se constataron con las técnicas instrumentales, actividad acuosa, humedad, índice de peróxidos, composición nutricional (proteínas, grasas totales, fibra, carbohidratos totales). Se realizan análisis completos mensual y quincenalmente: se determina índice de peróxido, considerando como límite máximo admisible 15 meq O_2/Kg (indicador de rancidez), actividad de agua cuyo límite máximo fijado es de 0,6 (indicador de inocuidad) y textura (indicador de dureza). Todas las determinaciones se realizan por triplicado.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos experimentalmente fueron analizados estadísticamente por ANOVA utilizando el programa R Projet versión libre 2.12.2

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtiene un producto alimenticio con características organolépticas atractivas, con buena cohesión de ingredientes, adecuada textura, que aporta una fracción importante de los requerimientos nutricionales diarios y aptos para personas con enfermedad celíaca. Además, presenta un contenido proteico, superior a la mayoría de los productos similares como puede observarse del resultado del análisis químico, la composición de los bocaditos por 100 g de producto presenta: carbohidratos totales 48,57 g; proteínas 13,79 g; grasas totales 22,02 g; fibra bruta 3,99 g; cenizas 3,29 g y humedad 8,3g. Trabajos publicados muestran que en la mayoría de los productos comerciales similares el promedio del contenido de proteínas es de tan sólo 5,5%, y su calidad proteica resulta menor en la medida que provienen principalmente de cereales (arroz, avena, maíz) (Cheuquepan Villarroel y Biolley 2004, Medina Herrera 2006, Olivera Carrión et al 2009, INTI 2011). Los bocaditos poseen buen aspecto, color ámbar claro, brillo, aroma agradable característico del amaranto tostado, textura crocante y poco desgranamiento. A partir del balance nutricional se encontró que



el producto presenta un contenido estimado de calcio de 141,2 mg. por porción de 100 g, considerando que este mineral no es afectado en las condiciones experimentales en que se ha realizado el secado. Los valores de calcio presentes en los bocaditos no cubren el requerimiento diario recomendado (DDR: 1000 a 1200 mg) por si solos, pero resultan de un aporte significativo como complemento para una dieta saludable. El procedimiento de secado realizado permitió disminuir la humedad inicial en un 50%, obteniéndose valores finales de humedad en base seca de 8,33 g.

Los valores promedios obtenidos para las características de aceptabilidad global, sabor y los descriptores dureza y cohesión para cada una de las muestras se presentan en la **Tabla 1**, resultando con mayor aceptabilidad los bocaditos secados a 60ºC durante 8 min con aceptabilidad global de 8,1, valor superior a 6, límite comercial en una escala Hedónica de 9 puntos. Se logra alta aceptación de los bocaditos con el 80% de los evaluadores.

Tabla 1. Análisis sensorial, puntaje global obtenido para cada una de las características medidas en las barras secadas a 60 y 70º

Muestra	Aceptabilidad global	Sabor	Dureza	Cohesión
60ºC – 8 min	8,1	8,2	8	8,6
60ºC- 10 min	6,9	7,7	6	7
70ºC- 8 min	6,4	8	7	6,6

El análisis estadístico de los datos representados en la **Tabla 1** confirma la disminución de la dureza y cohesión con el aumento de la temperatura (T) y tiempo de secado (t_s) arrojando p-valores menores de 0,05.

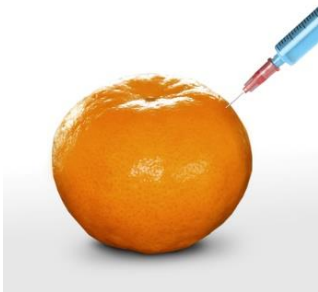
La actividad acuosa (aw) del producto fresco es 0,386, este resultado propicia la estabilidad del producto. Para estos valores de aw, el agua presente esta unida a grupos polares, no disponible para reacciones químicas ni microbiológicas, lo que garantiza ausencia de hongos, levaduras y bacterias, el IP para la muestra fresca es de 5,03 meq/ Kg. El valor de dureza resulto de 2982 gf., como otros alimentos crujientes, estos bocaditos, son productos donde la textura puede ser un factor crítico en la calidad global (De Hombre Morgado y Díaz Abreu, 2001).

Las mediciones de las propiedades físico- químicas de las muestras se realizaron por triplicado para cada tiempo. Del análisis estadístico se observa que los p valores para cada condición son mayores que 0,05, por lo que se verifica que no hay variación significativa entre los datos por triplicado para un nivel de significación del 95%.

Con respecto a los estudios de vida útil, los análisis nutricionales demostraron que los porcentajes de proteínas, grasas, humedad, cenizas, fibra cruda e hidratos de carbono tuvieron solo pequeñas variaciones en el tiempo, estos no afectaron la calidad del bocadito, como puede observarse en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Registros promedios de ensayos realizados a los bocaditos

Semana	IP meq/mg	Aw	Humedad g%	Cenizas g%	Grasas totales g%	Proteínas totales g%	Fibra cruda g%	Textura (TPA) gf	Hidratos de carbono g%
0	5,03	0,386	8,33	3,29	22,02	13,79	3,99	2923	48,57
2	5,54	0,422	----	----	22,17	----	----	1018	----
4	4,99	0,428	8,80	6,39	16,58	15,56	4,08	664,7	48,58
6	5,01	0,494			21,99	----	----	409,8	----
8	7,28	0,489	8,99	2,61	18,95	14,73	4,39	203,5	50,32
10	8,83	0,49	----	----	19,94	----	----	189,5	----



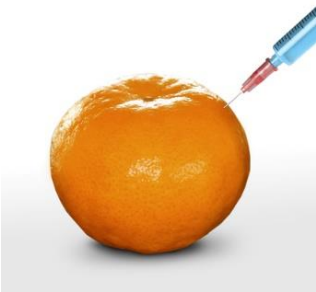
El análisis estadístico correspondiente a la variación de la aw con el tiempo de almacenamiento (t) arrojó un p-valor = 1,071E-07 < 0.05; arrojando una diferencia significativa. La actividad acuosa se incrementa levemente principalmente a partir de la 6ta semana, llegando a un valor de 0,49, manteniéndose por debajo del valor límite fijado en 0,6 para este parámetro, lo que indicaría el corte de vida útil. Probablemente esta variación se debe a que la temperatura de secado es próxima a la temperatura óptima de conversión de agua ligada en agua libre (70ºC) (Demonte 1995). Dicho resultado condice con un producto cuya proteína se ha desnaturalizado produciendo un decrecimiento en la capacidad de retención de agua, indicador de cambios en la estructura de las proteínas (Betschart et al. 1981). Algunos investigadores estudiaron el efecto de la aw sobre la dureza de cereales para el desayuno, encontrando una leve disminución para éste descriptor medido sensorialmente para una aw comprendida aproximadamente entre 0 y 0,50, a valores mayores se observó rápido descenso de dureza (Sauvageot y Blond 1991), estos estudios son coincidentes con los resultados obtenidos en el presente trabajo en el análisis de textura, durante el tiempo de almacenamiento, arrojando un p-valor de 2,753E-05 indicando una diferencia muy significativa con un 95% de confianza

Del análisis estadístico se observa que para el IP el p-valor es 0.7548 (p> 0,05), lo que indica que no hay diferencia significativa entre las variables tiempo e IP para un $\alpha = 0.05$. Si bien el índice de peróxidos aumenta en el periodo estudiado, llegando a un valor máximo de 8,839 meqO_2/Kg de muestra, este no fue el indicador del corte de vida útil ya que no sobrepasa el valor límite prefijado (15 meq O_2/Kg). Probablemente este aumento en el IP se debe al inicio de la oxidación de las grasas insaturadas aportadas por los ingredientes de la formulación.

Del análisis estadístico de humedad (p-valor= 0,1643), cenizas (p-valor= 0,6862), grasas totales (p-valor= 0,3174), proteínas totales (p-valor= 0,5771), fibra cruda (p-valor= 0,4242), carbohidratos (p-valor= 0,3302), se observa que la incidencia de estos parámetros no es significativa con el tiempo de almacenamiento para un nivel de significancia del 95%.

CONCLUSIONES

Se concluye que, a pesar de que los análisis químicos y los dos indicadores físico-químicos predeterminados para fijar el corte de vida útil no llegaron a su valor límite, éste queda determinado por el resultado del análisis de textura, ya que la muestra se desgranó perdiendo la aceptabilidad sensorial a la décima semana. Dado que el producto alcanza una alta aceptación por parte de los catadores y una excelente calidad nutricional, habiéndose utilizado un ligante sin el agregado de grasa, se aconseja repetir los estudios variando las condiciones de secado en vista a aumentar la vida útil por un período de tiempo razonable apto para fines comerciales.



BIBLIOGRAFÍA

AOAC (1984). Official Methods of Analysis 14 th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C.

Barbosa Cánovas, G. y Vega Mercado, H. (1996), Dehydration of Foods, Aspen Publishers Inc.

Becker, R. (1989). Preparation, composition, and nutritional implications of amaranth seed oil, Cereal Foods World, 34, 11, 950-953.

Betschart, A.A., Irving, D.W., Shepherd, A.D. and Saunders, R.M. 1981. Amaranthus cruentus: milling characteristics, distribution of nutrients within seed components and effect of temperature on nutritional quality. J. Food Sci, 46:1181-1187

Bressani, R. (2006), Estudios sobre la industrialización del grano de amaranto: caracterización química y nutricional de productos intermedios y finales del procesamiento, Proyecto FODECYT Nº 23-2002 Universidad del Valle de Guatemala.

Cheuquepan A., Villarroel M., Biolley E. (2004), Elaboración y optimización de una barra funcional de avellana chilena, Proyecto Cyted 11.19, Aplicación de ingredientes funcionales en alimentación infantil y para adultos; 153-65.

Demonte, P. 1995. Evaluación sensorial de la textura y búsqueda de correlaciones con medidas instrumentales. En: Seminario de Textura y Reología de los Alimentos. Cali, Colombia. Memorias. Cali: Universidad del Valle. pp. 8-20

Duizer, L. 2001. A review of acoustic research for studying the sensory perception of crisp, crunchy and crackly textures. Trends Food Sci Tech, 12: 17-24.

Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC). Censo Nacional de Población, Hogares y Vivienda 2001.

INTI, Instituto Nacional de Tecnología Industrial (2011). Informe Nº15 Barritas de cereal.

Jiménez P, , Masson S, L., & Quitral R, V.. (2013). Composición química de semillas de chía, linaza y rosa mosqueta y su aporte en ácidos grasos omega-3. *Revista chilena de nutrición*, *40*(2), 155-160. https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182013000200010

Lema A., Piccoli W., Martinello M., Peiretti G., Galimberti P. (2006). Desarrollo tecnológico para el reventado de granos de amaranto. Actas del V Congreso Argentino de Ingeniería química y XXII Congreso Interamericano De Ingeniería Química. ISSN 1850 3519 – ISSN 1850 3535

Manrique de Lara B. (2006), FAO, Explotación estratégica del recurso Amaranto en México.

Marcone, M. y Yada, R. (1991), Isolation, Purification, and Characterization of the Oligomeric Seed Globulin from Amaranthus hypochondriacus. Agricultural and Biology Chemistry, 55, 9, 2281-2289.

Matz SA 1984. Snack food technology. 2nd. ed. Ed. A VI Publishing Co., Inc Westport; Connecticut.;p415.

Medina Herrera M. (2006), Desarrollo de una barra nutricional a base de granola y frijol rojo (Phaseolus vulgaris), Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera Agro industrialen el Grado de Licenciatura, Honduras.

Meilgaard, M., Civille, G.V. and Carr, B.T. (1991). Sensory evaluation techniques. Cap. CRC Press, Florida USA10

Olivera C, M., Ferreyra D, V., Giacomino M, S., Curia C, A., Pellegrino G, N., Fournier U, M., & Apro C, N. (2012). Desarrollo de barras de cereales nutritivas y efecto del procesado en la calidad proteica. Revista chilena de nutrición, *39*(3), 18-25. https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182012000300003

Olivera Carrión M., Giacomino S., Pellegrino N., Sambucetti M.(2009), Composición y Perfil Nutricional de Barras de Cereales Comerciales, Actualización Nutr.; 10(4): 275-84.

Osella C. (2013), Premezcla sin gluten: desarrollo y transferencia, CyTAL 2013.

Pérez R.; Iglesias M.; Pueyo E.; González M. y de Lorenzo C. (2007). "Amino Acid Composition and Antioxidant Capacity of Spanish Honeys". J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 360-365

Prieto M, Judith, Méndez M, María A, Román G, Alma D, & Prieto G, Francisco. (2005). ESTUDIO COMPARATIVO DE CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE CEREALES KELLOGG'S. *Revista chilena de nutrición*, *32*(1), 48-59. https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182005000100006

Sauvageot, F. and Blond, G. 1991. Effect of water activity on crispiness on breakfast cereals. J Texture Stud.

22:423-442.

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen al Ing. Guillermo Peiretti de la Universidad Nacional de Río IV por proveer las semillas de amaranto.

Rehidratación de Frutas de Kaki con diferentes tratamientos de deshidratación

Borsini A.A.[1,2], Albani O.A.[1,2], Ramallo L.A.[1,2]

[1] IMAM (CONICET-UNaM), [2]FCEQyN, UNaM, Félix de Azara 1552, Posadas, Misiones, Argentina.
arielborsini@gmail.com

RESUMEN
El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de diferentes condiciones de deshidratación en la rehidratación a 25 y 35ºC de frutas de *Diospyros kaki* var. Fuyu. Los tratamientos de secado fueron: i) secado en corriente de aire a 45 y 60ºC (SEC45 y SEC60); ii) tratamientos combinados de deshidratación/impregnación osmótica en solución de sacarosa y xilitol de 50 ºBrix y secado en las mismas condiciones que i) (DOxil+SEC45, DOxil+SEC60, DOsac+SEC45, DOsac+SEC60). La rehidratación se llevó a cabo en agua, a temperatura (25 y 35ºC) y agitación constante. Se utilizaron la Relación de Rehidratación (RR) y el Coeficiente de Rehidratación (CR) para evaluar la capacidad de rehidratación. La ecuación de Page se aplicó para describir la cinética de absorción de agua. No es claro el efecto de la temperatura de secado en los valores de RR y CR en la primera hora de rehidratación. Las muestras pre-tratada con xilitol presentaron valores de RR y CR por debajo de aquellas pretratadas con solución de sacarosa. Los valores *n* de la ecuación Page, no presentaron diferencias significativas ($p<0,05$) para todas las condiciones ($n = 0,96 \pm 0,01$). Los valores del parámetro *k* se incrementaron con la temperatura de rehidratación y disminuyeron con la temperatura de secado.

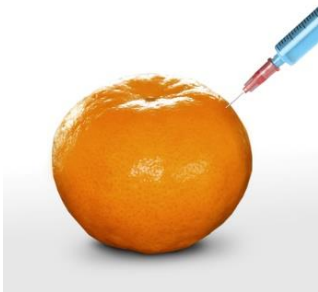
Palabras claves: Rehidratación, Kaki, Cinética.

ABSTRACT
The aim of this study was to evaluate the effect of different dehydration conditions on rehydration at 25 and 35°C of *Diospyros kaki* var. Fuyu fruits. Drying treatments were: i) drying with air flow at 45 and 60°C (SEC60 and SEC45); ii) combined treatments of osmotic dehydration/impregnation in sucrose and xylitol solutions at 50 °Brix and drying under the same conditions i) (DOxil + SEC45, DOxil + SEC60, DOsac + SEC45, DOsac+ SEC60). Rehydration operation was carried out in water at constant temperature (25 and 35°C) and stirring. Rehydration Ratio (RR) and Rehydration Coefficient (CR) were used to evaluate the capacity of fruit rehydration. In order to describe the water uptake kinetics during rehydration, the Page equation was used. It is not clear the effect of drying temperature on the values of CR and RR in the first hour of rehydration. The pretreated samples with xylitol showed RR and RC values below those pretreated with sucrose solution. Values of *n* parameter were not significantly different ($p> 0.05$) for all conditions ($n = 0,96 \pm 0,01$). Values of k parameter increased with rehydration temperature and decreased with drying temperature.

Keywords: Rehydration, Persimmon, Kinetic.

INTRODUCCIÓN

El *Diospyros kaki L*. es conocido por poseer muchos compuestos bioactivos como polifenoles, carotenos, fibra dietaria y minerales (Jang et al. 2010). Esta fruta se divide en dos tipos: astringente y no astringente, las astringentes no pueden ser ingeridas cuando están firmes debido a su alto contenido en taninos solubles. Las



no astringentes no son libres en taninos, pero son mucho menos astringentes antes de la maduración; éstos pueden ser consumidos cuando están firmes (Jang et al. 2011). La variedad Fuyu, del tipo no astringente, es conocido también como kaki dulce.

La deshidratación Osmótica se lleva a cabo por inmersión de las frutas enteras o en trozos en soluciones acuosas de azúcares o sales con alta presión osmótica; esto da lugar a dos flujos en contra-corriente que ocurren simultáneamente: un flujo de agua del alimento a la solución y una transferencia simultánea de soluto, de la solución, al alimento (Torregiani y Bertolo 2001, Torregiani 1993). Investigaciones hechas en los recientes años demostraron que la aplicación de la deshidratación osmótica como pre tratamiento de muchos procesos convencionales como la congelación y secado de frutas y vegetales ha dado buenos resultados en el descenso del contenido de agua, preservación de características fisicoquímicas, reducción de los costos de procesamiento o desarrollo de nuevos productos (Kowalska y Lenart 2008).

El secado es el método más común para extender la vida útil de productos agrícolas (Kaur et al. 2006). El secado en corriente de aire es un método tecnológicamente sencillo y relativamente económico cuyo principio básico es el de reducir el contenido de agua del alimento por evaporación superficial, aumentando así el tiempo de conservación y la vida de anaquel del producto, facilitando su transporte y almacenamiento (Park et al. 2001). Este proceso afecta notablemente la estructura física de las frutas (Ramos et al. 2003)

Los productos deshidratados suelen ser rehidratados antes de ser consumidos. La rehidratación de materiales deshidratados está compuesta de tres procesos simultáneos: imbibición de agua e hinchamiento del sólido y lixiviación de compuestos hidrosolubles. Las propiedades físico-químicas, mecánicas (microestructurales), sensoriales y nutricionales del producto deshidratado dependen del proceso de deshidratación aplicado y de la naturaleza del alimento fresco, de tal manera que estos factores determinan el comportamiento de los alimentos durante el proceso de rehidratación (Marinos-Kroudis 2003, Marín et al. 2006).

Aunque existen muchos antecedentes sobre el proceso de secado, aún persiste una necesidad por ampliar los conocimientos del proceso de rehidratación (Marabi et al. 2004). Krokida y Marinos-Kroudis (2003) estudiaron la cinética de rehidratación de numerosas frutas y vegetales deshidratados, en los cuales la ganancia de agua sigue una cinética de primer orden. Otros autores han propuesto modelos empíricos para describir estos procesos (García-Pascual et al. 2006).

En el presente trabajo se pretende evaluar el efecto de distintos procesos de deshidratación en la rehidratación de frutas de *Dyospiros kaki* var Fuyu, evaluando la cinética de ganancia de agua y distintos parámetros que caracterizan el proceso de rehidratación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Frutas de *Diospyros kaki var. Fuyu*, cultivadas en la provincia de Misiones, fueron utilizadas seleccionándolas de acuerdo a su estado de maduración que se ve reflejado en el contenido de solidos solubles y el color de las frutas (15±1,5°Brix, *hue*=56±4°). Dos lotes de fruta seleccionados por el INTA Montecarlo (Montecarlo, Misiones, Argentina) fueron utilizados en el desarrollo de los ensayos experiementales.

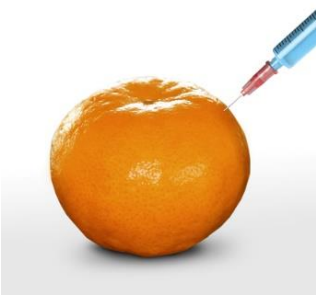
Deshidratación y secado

Las frutas seleccionadas fueron lavadas, escurridas y cortadas transversalmente a su eje en placas semicirculares de 6 ± 0,5 mm de espesor y 70±4 mm de diámetro medido con calibre digital.

Las muestras se trataron en las siguientes condiciones de secado:

- Secado con flujo de aire caliente a 45 y 60ºC durante 5 horas (SEC45 y SEC60).
- Tratamientos combinados de deshidratación/impregnación osmótica en solución de sacarosa y de xilitol durante 6 horas y secado a 45 y 60ºC durante 5 horas (DOxil+SEC45, DOxil+SEC60, DOsac+SEC45, DOsac+SEC60).

La deshidratación osmótica de kaki se efectuó empleando solución de sacarosa y de xilitol de 50 ºBrix, en baño termostático (Dubnoff, Vicking, Argentina) a 40 ºC, con agitación continua (60 ciclos/minuto) durante



6 h. La relación masa del sólido/masa solución hipertónica fue mayor de 1:10 (p/p) para garantizar constancia en la concentración del jarabe durante el tratamiento. Estas muestras parcialmente deshidratadas/impregnadas posteriormente fueron secadas a 45 y 60 ºC durante 5 horas. Se utilizó sacarosa comercial (Alto Uruguay, Argentina) y xilitol (Gelfix, Argentina) para los ensayos de Deshidratación Osmótica. El secado se realizó colocando las muestras de fruta, ubicadas sobre bandejas perforadas, en una estufa de circulación forzada de aire (Dalvo, modelo Si343, Argentina), a velocidad (1,1 m/s) y temperaturas constantes (45 y 60ºC). Los ensayos se realizaron por duplicado. Se cuantificó la humedad de la fruta al inicio (fruta fresca) y al finalizar el proceso de secado por el método gravimétrico (aproximadamente 48 h en estufa a 75°C, hasta pesada constante). Los resultados se registraron en g de agua por 100 g de materia seca (g/100 g ms). Los resultados fueron analizados a partir de ANOVA, utilizando el método LSD (mínimas diferencias significativas) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de confianza del 95% (α=0,05). El análisis de varianza fue realizado con el paquete estadístico Statgraphics (Statgraphics 2009).

Rehidratación

Las muestras para la rehidratación fueron aquellas resultantes del proceso de secado. La rehidratación se llevó a cabo por inmersión de las muestras (rodajas de kaki deshidratado) en vasos de precipitado de 250 ml conteniendo agua destilada en una relación masa de agua/masa de fruta 30:1, con agitación (70 rpm) y temperatura constante en baño termostático (Dubnoff, Vicking, Argentina). Las muestras tratadas con los procesos SEC45 y SEC60 fueron rehidratadas a 25 y 35ºC y aquellas muestras tratadas con DOxil+SEC45, DOxil+SEC60, DOsac+SEC45 y DOsac+SEC60 fueron rehidratadas a 25ºC. A intervalos predeterminados se retiraron 3 muestras, el agua superficial fue removida por medio de papel absorbente, se registró el peso y se regresaron las mismas al recipiente de rehidratación para continuar con el proceso durante 2 horas, todos los ensayos fueron realizados por triplicado. Se utilizaron dos coeficientes para evaluar la capacidad de rehidratación de las muestras deshidratadas: la Relación de Rehidratación (RR) y el Coeficiente de Rehidratación (CR). La relación de rehidratación (RR) se define como la relación de masa entre la muestra rehidratada y la muestra deshidratada (Cunningham *et al. 2008*).

$$RR = \frac{m_{rh}}{m_{dh}} \quad (1)$$

Donde m_{rh} es la masa de la muestra rehidratada y m_{dh} es la masa de la muestra deshidratada (g).

El coeficiente de rehidratación, indica el grado de recuperación de peso con respecto a la muestra de fruta fresca y se calcula de acuerdo a la siguiente expresión:

$$CR = \frac{m_{rh}(100 - X_0)}{m_{dh}(100 - X_{dh})} \quad (2)$$

Donde m_{rh} es la masa de la muestra rehidratada (g), m_{dh} es la masa de la muestra deshidratada (g), X_0 la humedad inicial de la fruta fresca y X_{dh} es la humedad de la muestra deshidratada (g agua/100 g masa seca).

Cinética de rehidratación

El modelo de Page fue utilizado para describir la ganancia de agua de las muestras de kaki deshidratadas durante el proceso de rehidratación. Este modelo asume que la temperatura del agua es constante durante todo el proceso y el contenido de agua inicial es uniforme.

La ecuación de page (Page 1949) para describir la ganancia de agua durante la rehidratación es:

$$MR = \frac{X - X_f}{X_{dh} - X_f} = \exp(-Kt^n) \quad (3)$$

Donde X es el contenido de agua (g agua/100 g masa seca) al tiempo t (min) de rehidratación, X_f es el contenido de agua al final del proceso de rehidratación (g agua/100 g masa seca), K y *n* son las constantes del modelo de Page.

La humedad de equilibrio de la ecuación de Page para la cinética de secado (X_e) puede ser aproximada como el contenido de humedad al final del proceso (X_f). Esta modificación fue propuesta por Ramesh y Rao (1996) para el secado de arroz.

El grafico ln(MR) vs tiempo de inmersión t se construye con los datos experimentales, y los valores de K y *n* se obtienen mediante regresión lineal:

$$\ln MR = -Kt^{n} \qquad (4)$$

La bondad de ajuste de las ecuaciones fue evaluada a través del error relativo promedio porcentual, calculado como:

$$EPP = \frac{100}{N} * \Sigma \frac{\left| X_{cal} - X_{\exp} \right|}{X_{\exp}} \quad (5)$$

Donde N es el número de datos experimentales; X_{exp} y X_{cal} son valores de humedad experimental y predicho respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

Características de secado

El valor medio de humedad de la fruta fresca fue de 382,2 ± 32 g / 100 g ms, los valores de humedad para las muestras después del secado a 45 y 60ºC fueron: 28 ± 2,5 y 23 ± 6,2 g / 100 g ms, respectivamente. La **Figura 1** muestra las curvas de secado de kaki durante el secado continuo a las dos temperaturas estudiadas. En esta figura se observa que, como era de esperar, el proceso de secado es afectado por la temperatura aumentando la velocidad del proceso con la temperatura.

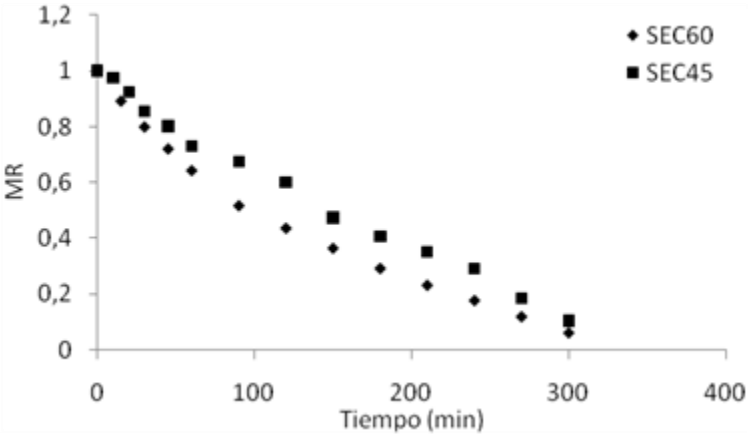


Figura 1. Curvas de secado a 45 y 60ºC (SEC45 y SEC60).

Las **Figuras 2** y **3** muestran las curvas de secado de kaki durante el secado continuo a 45 y 60ºC respectivamente, de muestras previamente deshidratadas osmóticamente utilizando dos tipos de azucares (sacarosa y xilitol). No se observaron diferencias significativas entre las curvas de secado de muestras previamente deshidratadas/impregnadas con xilitol y aquellas deshidratadas/impregnadas con sacarosa a ambas temperaturas de secado durante los primeros 200 minutos, en la etapa final se observan diferencias en las curvas, registrándose mayor reducción de humedad en aquellas muestras pre-tratadas con sacarosa.

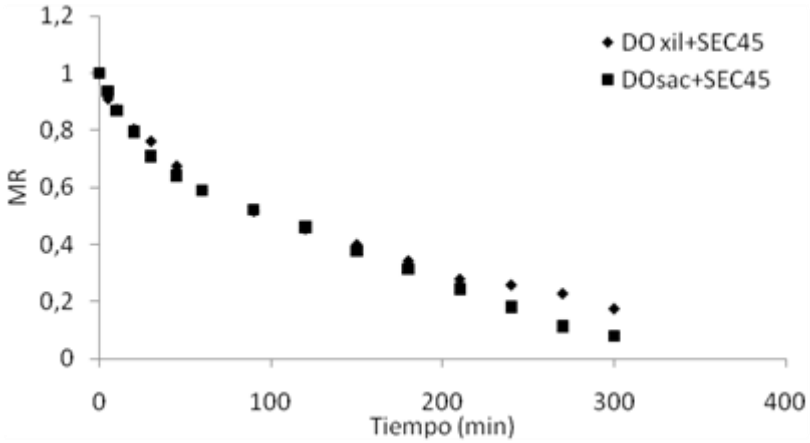


Figura 2. Curvas de secado a 45ºC de muestras previamente tratadas con sacarosa y xilitol.

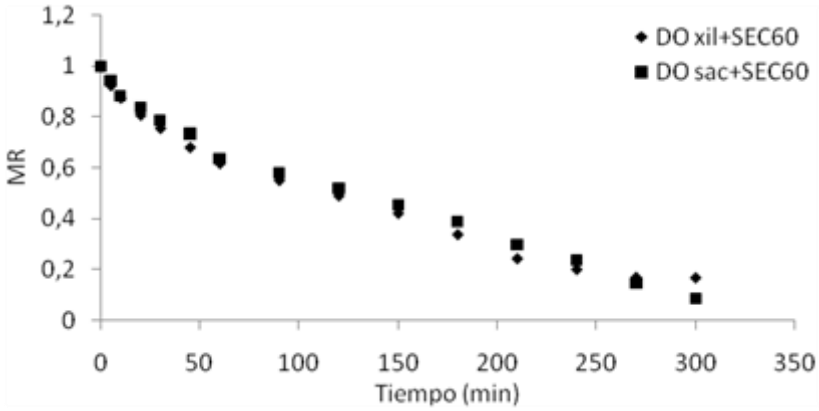


Figura 3. Curvas de secado a 45ºC de muestras previamente tratadas con sacarosa y xilitol.

Rehidratación

La remoción de agua del tejido vegetal durante el secado, induce a cambios en las propiedades físico-químicas y estructurales del sistema. El comportamiento de la relación de rehidratación (RR) se puede ver en la **Figura 4** para muestras secadas a 45 y 60ºC (SEC45 y SEC60), y rehidratadas a 25 y 35ºC respectivamente. No se observaron diferencias significativas en los valores de RR de muestras secas a 45 y 60°C, ni se evidencia efecto de la temperatura de rehidratación.

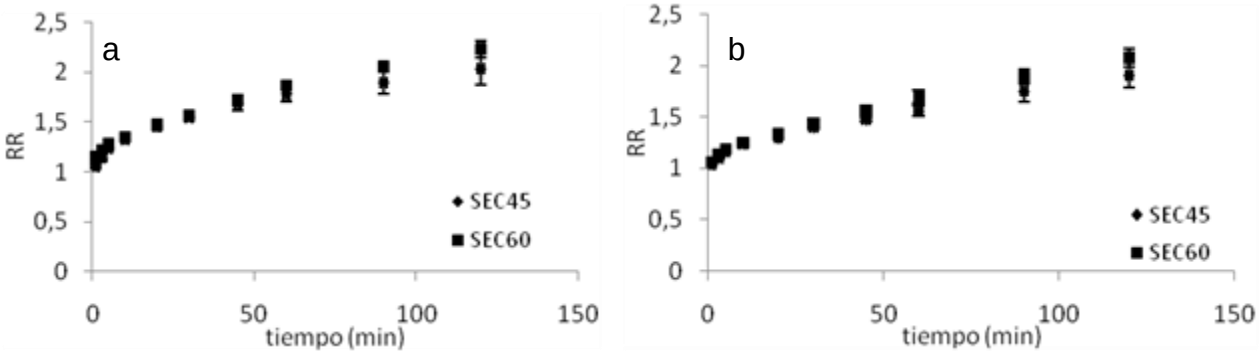


Figura 4. Rehidratación de muestras de kaki secadas a 45 y 60ºC a) a 25ºC y, b) a 35ºC.

La rehidratación de frutas secas, previamente osmodeshidratadas es un proceso complejo, en la primera etapa de rehidratación la capa de azúcar superficial debe disolverse, lo cual dificulta la absorción de agua por los capilares porosos de la fruta. Como resultado de esto, el agua se mantiene en la superficie principalmente por fuerzas de adsorción. Estas fuerzas son menores para muestras sin pretratamiento osmótico (Lenart 1991). En la **Figura 5** se muestra el comportamiento de la relación de rehidratación (RR) para muestras DOxil+SEC45, DOsac+SEC45, DOxil+SEC60 y DOsac+SEC60, durante la rehidratación a 25ºC. Se observa que no hay diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de RR para las muestras con diferentes temperaturas de secado. Se observa que las muestras deshidratadas con xilitol presentan una menor velocidad de rehidratación. Comparando los resultados de la **Fig. 4a** y la **Fig. 5** se observa que el pretratamiento osmótico reduce la velocidad de rehidratación. Agnieszka y Andrzej (2010) encontraron resultados similares con frutillas liofilizadas pre tratadas osmóticamente.

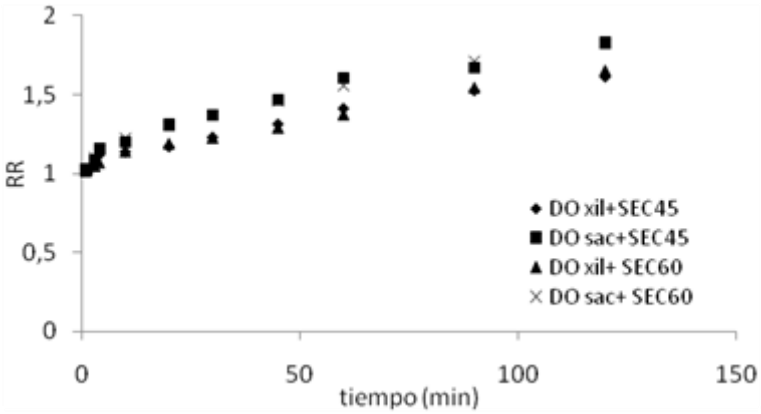


Figura 5. Comportamiento de la Relación de Rehidratación de muestras de kaki tratadas con DOxil+SEC45, DOsac+SEC45, DOxil+SEC60 y DOsac+SEC60 a 25ºC.

La fruta recuperó un promedio del 50% del contenido de agua de la fruta fresca, para ambas temperaturas de secado y de rehidratación, con un valor final de 187,3±10,01 g agua/100 g masa seca. Resultados similares obtuvieron Krokida y Philippopoulos (2005) y Krokida y Marinos-Kouris (2003) durante la rehidratación de frutas y vegetales deshidratados. En cuanto a las muestras previamente osmodeshidratadas el porcentaje de recuperación fue de 43% y 38% con valores finales de 130,5 ± 2 y 149,5 ± 4 g agua / 100 g ms, para fruta deshidratada con sacarosa y xilitol respectivamente. Se observó para todos los casos que en la primera hora de rehidratación se absorbió el 70% del agua. En la **Tabla 1** se muestran los valores del Coeficiente de rehidratación (CR) para todas las condiciones estudiadas, no se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de CR de las muestras con diferentes tratamientos de secado, registrándose una mayor capacidad de absorción de agua en muestras de fruta secada a 60ºC.

Tabla 1. Valores de CR para todos los tratamientos y condiciones de rehidratación.

	CR*	
Tratamientos	Rehidratación a 25ºC	Rehidratación a 35ºC
SEC45	0,536±0,08	0,513±0,06
SEC60	0,545±0,06	0,539±0,1
DOxil+SEC45	0,454±0,03	----
DOsac+SEC45	0,476±0,04	----
DOxil+SEC60	0,459±0,04	----
DOsac+SEC60	0,483±0,04	----

*valor medio ± la Desviación Estándar de los resultados obtenidos

Cinética de Rehidratación

Se utilizó la ecuación de Page para describir la ganancia de agua de láminas de fruta de kaki en función del tiempo de rehidratación. En la **Tabla 2** se muestran los valores de los parámetros del modelo de Page, resultantes del ajuste de los datos experimentales. En todos los casos se obtuvieron valores de R^2 superiores a 92%, lo que indica que el modelo de Page es adecuado para describir la ganancia de agua de kaki durante la rehidratación. Los valores del parámetro *n* de la ecuación de Page no presentaron diferencias significativas ($p<0,05$) para todas las condiciones con un valor medio de 0,96±0,01 (**Tabla 2**).El parámetro *k* puede ser considerado como una medida de la velocidad de ganancia de humedad cuando se comparan experiencias con idénticos valores de *n*. Así, los valores del parámetro *k* se incrementaron con la temperatura de rehidratación y disminuyeron con el aumento de la temperatura de secado, como se muestra en la **Tabla 2**. Respecto al efecto del tratamiento osmótico, las muestras deshidratadas/impregnadas con sacarosa presentaron valores de *k* mayores que aquellas procesadas en solución de xilitol durante la rehidratación a 25°C. Los valores del Error Promedio Porcentual (EPP) de la estimación variaron desde 5,5 hasta 12,3.

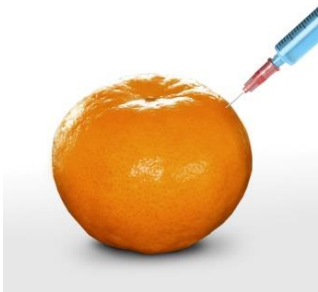
Tabla 2. Parámetros de la ecuación de Page y parámetros estadísticos.

T (ºC)	Tratamiento	k*	n	EPP
25ºC	SEC45	0,028±0,001	0,96	8,4
	SEC60	0,022±0,005	0,96	12,3
	DOxil+SEC45	0,021±0,005	0,96	9,8
	DOsac+SEC45	0,028±0,009	0,96	6,9
	DOxil+SEC60	0,019±0,002	0,96	7,0
	DOsac+SEC60	0,024±0,003	0,96	9,0
35ºC	SEC45	0,031±0,002	0,96	5,5
	SEC60	0,025±0,008	0,96	8,5

*Valor medio ± la Desviación Estándar de los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

Se observó similitud en las curvas de secado de muestras previamente tratadas con xilitol y con sacarosa. No se observaron diferencias significativas en los valores de RR de muestras de fruta secada a 45 y 60°C, ni se evidencia efecto de la temperatura de rehidratación. El pre-tratamiento osmótico afectó de manera notoria los valores de RR. Las muestras deshidratadas/impregnadas con xilitol presentaron una menor velocidad de rehidratación y, por lo tanto, menores valores de RR. No se encontraron diferencias significativas en los valores de CR de las muestras con diferentes tratamientos de secado, aunque mostraron mayor capacidad de absorción de agua las muestras secadas a 60ºC. El modelo de Page describió satisfactoriamente la cinética de rehidratación de frutas de *Diospyros kaki* var. Fuyu, no hubo diferencias significativas en los valores de *n* para todas las condiciones. Los valores de *k* se incrementaron con la temperatura de rehidratación y disminuyeron con el aumento de la temperatura de secado.



BIBLIOGRAFÍA

Agnieszka C, Andrzej L. 2010. Rehydration and sorption properties of osmotically pretreated freeze-dried. Journal of Food Engineering, 97: 267-274.

Cunningham SE, Mcminn WAM, Magee TRA, Richardson PS. 2008. Experimental study of rehydration kinetics of potato cylinders. Food and bioproducts processing, 86: 15-24.

Garcia-Pascual P, Sanjuán N, Melis R, Mulet A. 2006. Morchella esculenta (morel) rehydration process modelling. Journal of Food Engineering, 72:346-353.

Jang I-C, Jo E-K, Bae M-S, Lee H-J, Jeon G-I, Park E, Yuk H-G, Ahn G-H, Lee S-C. 2010. Antioxidant and antigenotoxic activities of different parts of persimmon (Diospyros kaki cv. Fuyu) fruit. Journal of Medicinal Plants Research. 4(2): 155-160.

Jang I-C, Oh W-G, Ahn G-H, Lee J-H, Lee S-C. 2011. Antioxidant Activity of 4 Cultivars of Persimmon Fruit. Food Sci. Biotechnol. 20(1): 71-77.

Kaur P, Kumar A, Arora S, Ghuman BS. 2006. Quality of dried coriander leaves as affected by pretreatments and method of drying. Eur Food Res Technol, 223:189-194.

Kowalska H. Lenart A, Leszczyk D.2008. The effect of blanching and freezing on osmotic dehydration of pumpkin. Journal of Food Engineering, 86:30-38.

Krokida MK y Marinos-Kouris D. 2003. Rehydration kinetics of dehydrated products. Journal of Food Engineering, 57:1-7.

Krokida MK y Philippopoulos C. 2005. Rehydration of Dehydrated Foods. Drying Technology, 23(4):799-830.

Lenart, A., 1991. Effect of saccharose on water sorption and rehydration of dried carrot. In: Mujumdar, A.S., Filkova, I. (Eds.), Drying'91. Elsevier, Amsterdam, pp. 489–498.

Marabi A, Jacobson M, Livings SJ, Saguy IS. 2004. Effect of mixing and viscosity on rehydration of dry food particulates. Eur Food Res Techno, 218:339-344.

Marin E, Lemus R, Flores V, Vega A. 2006. La rehidratación de alimentos deshidratados. Rev Chil Nutr, 57.

Page GE. 1949. Factors influencing the maximum rates of air drying shelled corn in thin layers. M.Sc. thesis, Purdue University.

Park KJ, Yado MKM, Brod F. P. 2001. Estudo de secagem de pêra barlett (Pyrus sp.) em fatias. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 21:288-292.

Ramesh MN y Rao PNS. 1996. Drying Studies of Cooked Rice in a Vibrofluidised Bed Drier. Journal of Food Engineering, 27: 389-396.

Ramos IN, Brandao TRS, Silva CLM. 2003. Structural changes during air drying of fruits and vegetables. *Food Science and Technology International*, *9*(3): 201-206.

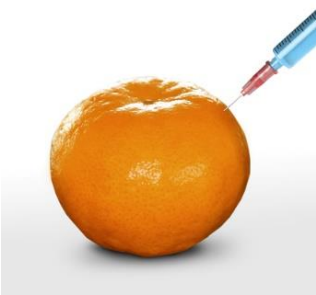
Statgraphics Centurion XV, 2009. Statpoint Technologies, Inc. Warrenton VA, USA.

Torreggiani D y Bertolo G. 2001. Osmotic pre-treatments in fruit processing: chemical, physical and structural effects. Journal of Food Engineering, 49:247-253.

Torreggiani D.1993. Osmotic dehydration in fruit and vegetable processing. Food Research International, 26:59-68.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración del INTA Montecarlo por el aporte de frutas de *Diospyros kaki* var. Fuyu.



Diseño de un queso procesado untable de cabra

Burgos L. [1,3], Pece N. [2], Maldonado S. [1]

[1] Ingeniería para el Desarrollo de la Agroindustria Regional (IDeAR) Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos (CITA) Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Jujuy. e-mail: smaldonado@fi.unju.edu.ar
[2] Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICyTA). Facultad de Agronomía y Agroindustrias. Universidad Nacional de Santiago del Estero. e-mail: norapece@unse.edu.ar
[3] CONICET.
laura.burgos@conicet.gov.ar

RESUMEN

Los objetivos abordados fueron: 1) Establecer el grado de madurez de los quesos de cabra a utilizar como materia prima, 2) formular un queso procesado untable de consistencia cremosa y 3) determinar los niveles de cada variable del proceso. Para la formulación se seleccionaron quesos de distintos tiempos de maduración a través del análisis de conglomerado, cada uno de ellos caracterizados por la información de 23 variables. Se ensayaron distintos contenidos de humedad final, utilizando igual proporción de quesos frescos y madurados. Se probaron tres temperaturas de fundido. Del análisis estadístico realizado se eligieron los quesos de 10, 20 y 40 días para la formulación del queso procesado untable. Se estableció para el producto final una humedad del 63%, 20% de grasa y un pH: 5,8-6, con lo que se logró una untabilidad similar a la referencia comercial seleccionada. Se encontró que un par (tiempo, temperatura) de (9min, 85ºC) resultó adecuado para alcanzar el fundido y homogenización de la masa. Se validó el nivel establecido de las variables utilizando 4 formulaciones de queso procesado, obtenidas por variación de las proporciones de quesos materia prima manteniendo las características del producto final en cuanto a consistencia y similitud con la referencia comercial.

Palabras Clave: conglomerado, proceso, fundido, temperatura, tiempo.

ABSTRACT

The aims of this study were: 1) establish the degree of maturity of goat cheese used as raw material, 2) formulate a spreadable processed cheese with creamy consistency and 3) determine the levels of each process variable. Cheeses of various ripening times were selected for the formulation through cluster analysis. The cheeses were characterized by information of 23 variables. We studied the effect of the final moisture of cheeses, using the same proportion of fresh and matured cheeses in the formulation and three melt temperatures were tested. Cheeses of 10, 20 and 40 days were chosen for the formulation of spreadable processed cheese. The chosen characteristics for the final product were: moisture content 63%, fat 20% and pH 5.8 - 6. We used a commercial reference to compare texture parameters. We found that heating at 85ºC for 9 minutes was suitable to achieve the melt and homogenize the mass. We validate the level of the variables using another four formulations of processed cheese. These formulations were obtained by varying the proportions of raw cheese. It was possible to maintain the characteristics of the final product with respect to consistency and similarity to the commercial reference.

Keywords: cluster, process, melt, temperature, time.

INTRODUCCIÓN

La manufactura de queso fundido o queso procesado surge como una alternativa para dar valor comercial a los excedentes de la industria quesera como así también a los quesos que se retiran de las góndolas al

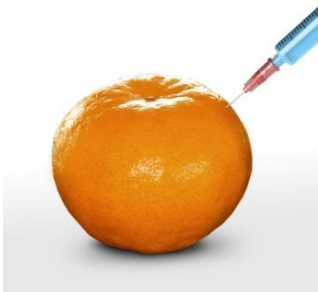
finalizar su vida útil.Un queso fundido necesariamente debe incluir entre sus ingredientes una alta proporción de quesos elaborados para ser utilizados como materia prima para fundir; los que pueden incorporarse como una mezcla de quesos de distintos estados de madurez (frescos y madurados). Cada tipo de estos quesos impartirá características sensoriales y funcionales específicas al producto. Así, los quesos frescos, con proteína poco degradada, proporcionarán consistencia y resistencia al corte; los muy madurados, en cambio, por tener caseína hidrolizada debido a la proteólisis durante la maduración, influirán menos en la textura y en cambio aportarán al sabor (Kapoor et al., 2007). De acuerdo al tipo de queso procesado, la proporción de quesos (materia prima) puede variar entre 51% a 85% del queso procesado final, el resto de los ingredientes pueden ser: crema, agua, emulsionantes y estabilizantes. Por tanto durante la formulación de quesos procesados untables pueden obtenerse diferentes productos con variadas características, utilizando distintos quesos como materias primas, variando ingredientes y aditivos y ajustando, de diferente forma, las variables de proceso (Ayad et al., 2010; Castro Barra et al., 2012; Cunha et al., 2013; Gliguem et al., 2011; Vallejos et al., 2012). La selección de los quesos es muy importante para obtener el producto final deseado, ya que éstos influyen sobre el pH y el contenido total de calcio del queso procesado final (Chandan et al., 2011) y su grado de madurez influye significativamente en los parámetros de textura del producto final, así como en su capacidad de fusión (Piska y Štetina, 2004; Brickley *et al*, 2007; Bunka *et al*, 2014). Esta selección se realiza generalmente por tipo de queso, sabor, tiempo de maduración (edad), textura y pH. En síntesis tanto el tipo de queso como su grado de maduración influyen en los parámetros específicos del proceso de fusión y sobre todo en la calidad del queso fundido. Mihaela et al. (2013) informaron que al aumentar la proporción de quesos madurados en las formulaciones de quesos procesados, obtuvieron una disminución en la cantidad de sales emulsificantes requerida para lograr un proceso de fusión óptimo, reduciendo el tiempo requerido para este proceso, lo que implica una ventaja para evitar defectos en el producto final. No se ha encontrado bibliografía específica respecto a quesos fundidos untables elaborados únicamente con quesos de leche de cabra. El queso de cabra que se vende y consume en Jujuy no se madura, debido a la tradición de consumo local, asociada a la costumbre del poblador rural. Por esta razón en estudios previos se evaluaron las variables asociadas a la etapa de maduración de quesos, a través de la evolución de la lipólisis, la proteólisis y el comportamiento de la matriz de proteína, en función del tiempo de maduración. A partir de esos resultados se propone, en este trabajo, determinar el grado de madurez de los quesos de cabra a utilizar como materia prima del queso procesado untable. En base a lo mencionado los objetivos del siguiente trabajo fueron: 1) seleccionar los quesos de cabra a utilizar como materia prima, por grado de maduración 2) determinar los niveles de cada variable del proceso de elaboración del queso procesado untable y 3) formular un queso procesado untable de consistencia cremosa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se elaboraron quesos de cabra en la planta quesera IDeAR de la Facultad de Ingeniería, siguiendo el protocolo: se pasteurizó la leche cruda (65ºC, 30 min); se enfrió luego hasta 38ºC y se agregó fermento láctico CHR HANSEN RST 743. Simultáneamente se agregó 0,02% (p/v) de $CaCl_2$. Se adicionó cuajo comercial líquido CHYMAX (100% quimosina) a razón de 50 ml cada 100 litros de leche. Luego se cortó la cuajada con una lira hasta un tamaño de 1,5 cm. Se dejó reposar la cuajada y se desueró. Se realizó salado en seco y en capas, por agregado de NaCl directamente sobre la cuajada y durante el moldeo. Se prensaron los quesos en prensa hidráulica, sometiéndolos a una presión de 4 Bar durante 3 horas. Luego del prensado el producto salado se almacenó en cámara frigorífica a 10 ± 2°C y 90% de humedad relativa. Se extrajeron un mínimo de tres muestras del lote en maduración en los tiempos: t_1: 5 horas, t_2: 10 días, t_3: 20 días, t_4: 30 días, t_5: 40 días, t_6: 60 días y t_7: 80 días.

Diseño del producto

La selección del grado de madurez de los quesos de cabra, a utilizar como materia prima, se realizó a través de análisis multivariado. Se consideraron las siguientes variables de composición (base seca) de los distintos tiempos de maduración: humedad, proteína, para-κ-caseína, α-caseína, β-caseína, Nitrógeno Soluble a pH 4,6, Nitrógeno Soluble en ácido tricloroacético (TCA), Nitrógeno Soluble en ácido fosfotúngstico (PTA),



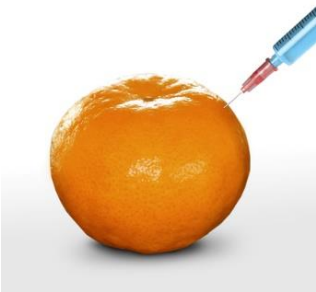
grasa total, ácidos grasos (AG) de cadena media y larga, AG mono y poliinsaturados, cenizas, calcio, fósforo y sodio. También se tuvieron en cuenta los parámetros de textura: dureza, gomosidad, adhesividad, cohesividad, masticabilidad y elasticidad. La metodología aplicada en cada caso se resume a continuación. La caracterización fisicoquímica se llevó a cabo a través de los métodos AOAC (16th Ed., 1995):

- Proteínas totales: por el método de Kjeldahl, método A.O.A.C. 955.04 c.
- Cenizas: método A.O.A.C. 968.08.
- Grasas: método de Hidrólisis Ácida A.O.A.C., 922.06.
- Humedad (AOAC 935.29) en estufa de vacío (Shel lab, modelo 1410) a 60±1°C y 25 pulg Hg de vacío.

Se determinaron los siguientes minerales: Fosforo (A.O.A.C. 995.11), Sodio (A.O.A.C. 985.35) y Calcio (FIL-36: 1966). El perfil de ácidos grasos totales por cromatografía gaseosa según la norma UNE 55-037-73 (Aenor, 1991). Las fracciones nitrogenadas: Nitrógeno Soluble a pH 4,6 (NpH 4,6), Nitrógeno Soluble en ácido tricloroacético 12% (NTCA) y Nitrógeno Soluble en ácido fosfotúngstico al 5% (NPTA) se analizaron de acuerdo a la metodología descripta por Bernal et al., (2001). Las fracciones mayoritarias de α, β y κ-caseína se determinaron mediante cromatografía HPLC de intercambio iónico, siguiendo la metodología descripta por Veloso et al. (2002). Se utilizó el análisis de cluster (método estadístico multivariado) para la selección de los quesos, siendo ésta una metodología que permite agrupar un conjunto de observaciones en un número dado de clusters o grupos. Este agrupamiento se basa en la idea de distancia o similitud entre las observaciones y consiste en un proceso de agregación jerárquica que permite la obtención de grupos tipológicos homogéneos en distintos niveles. Se trabajó con un conjunto de 8 muestras de quesos para cada uno de los 7 tiempos de maduración estudiados, resultando un número total de 56 observaciones (N=56). Cada uno de ellos caracterizados por la información de 23 variables. A la matriz de datos se la sometió al análisis de clusters usando el programa estadístico Minitab 16.0, estandarizando las variables y usando la técnica del vecino más cercano para la selección de 3 grupos que tuvieran la mayor similitud estadística, con diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Se estandarizaron las variables para eliminar el efecto de la escala de medida a fin de aplicar el análisis sobre variables con valores medios y desviaciones estándar similares, lo cual facilita la interpretación. Para la formulación del queso procesado untable se utilizó un 20% de grasa, al igual que las formulaciones utilizadas por Weiserová et al. (2011) y Salek et al. (2015) de quesos procesados untables. Además se fijó el pH en el rango de 5,8-6, valores permitidos y establecidos en el Código Alimentario Argentino (Cáp. VIII Art. 641). Se ensayaron distintos contenidos de humedad para el producto elaborado: 60%, 62%, 63% y 65% (valores inferiores al máximo permitido en la legislación del 70%) y se comparó la untabilidad con una referencia comercial. Para ello se utilizó un panel de 20 consumidores habituales de queso untable, a quienes se realizaron preguntas abiertas respecto a la consistencia y untabilidad de los quesos formulados y respecto a la referencia. Seleccionados los quesos materia prima, se calculó, por balance de masa, la proporción necesaria de cada uno para obtener el queso procesado untable.

Diseño de proceso

Para la elaboración del queso procesado se siguió el proceso utilizado por Kapoor y Metzger (2008), el que se muestra en la **Figura 1**.



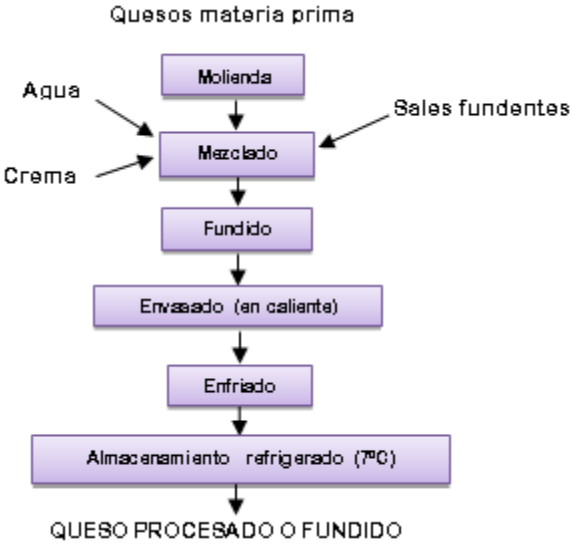


Figura 1. Diagrama general del proceso de elaboración de queso procesado.

Se utilizaron en esta etapa igual proporción de quesos frescos y madurados, incorporando agua y crema. Además se usaron las sales fundentes marca JOHA en un 2,8% de la masa total del queso fundido, en las proporciones recomendadas por el proveedor. Las sales fundentes utilizadas fueron: S10 (2,5%) y HBS (0,3%), esta última con efecto bacteriostático. Se utilizó una fundidora eléctrica de 1 l de capacidad y un Onmi Mixer con velocidad variable (500-4500 rpm. Se probaron tres temperaturas de fundido: 80ºC, 85ºC y 90ºC. Se graduó la fundidora eléctrica para alcanzar esas temperaturas en 8 minutos. Una vez que la masa alcanzó la temperatura deseada se mantuvo por un minuto para completar el fundido y lograr una masa homogénea, haciendo un tiempo total de 9 min.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diseño del producto

En la **Figura 2** se muestra el dendograma obtenido a través del análisis de cluster, en el que se observa la formación de los conglomerados, así como las distancias entre ellos.

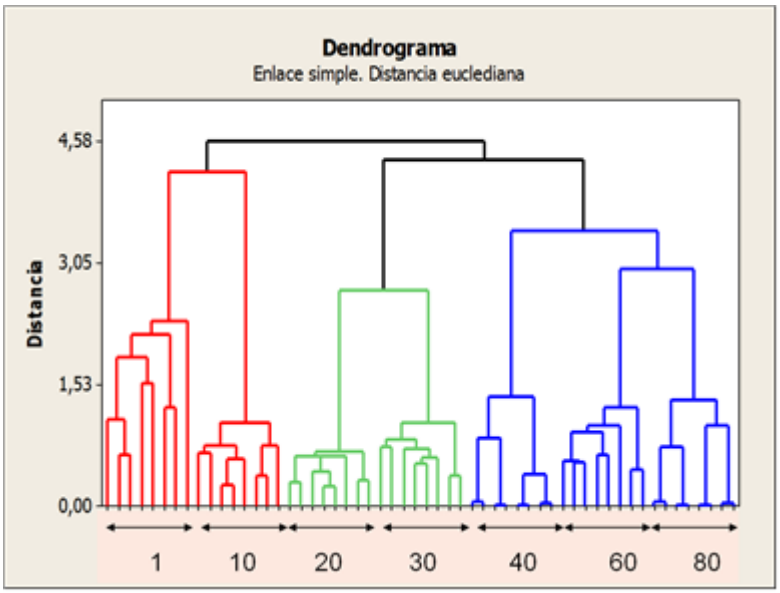


Figura 2. Dendograma obtenido a partir del análisis multivariado de las variables de composición y textura de los quesos de cabra de los distintos tiempos de maduración.

Según se observa en la **Figura 2** se pueden agrupar los resultados en los siguientes tres grupos:

1. Conglomerado 1: queso inicial y de 10 días de maduración.
2. Conglomerado 2: queso de 20 y 30 días de maduración.
3. Conglomerado 3: queso de 40, 60 y 80 días de maduración.

Las observaciones más similares entre sí, representadas por las que menor distancia, serían las correspondientes a los quesos de 20 y 30 días de maduración (incluidos en el Conglomerado 2), con una similitud del 81,61%.

El Conglomerado más distinto al resto es claramente el 1, ya que es el último que se incorpora al Conglomerado total de las observaciones, siendo su distancia a él la mayor y su similitud de 64,97%.

Teniendo en cuenta las distancias y el criterio de similitud, resulta importante señalar que en el Conglomerado 3 (similitud 73,51%) los quesos de 40 días de maduración presentan mayor diferencia que los de 60 y 80 días de maduración, últimos en incorporarse al conglomerado. En base a este análisis se seleccionaron los quesos de cabra de los tiempos de 10, 20 y 40 días para la formulación del queso procesado untable. Se eligieron los quesos de 20 y 40 días debido a que son los de menor tiempo de maduración en cada conglomerado, implicando menores costos de proceso y operación. Respecto al conglomerado 1, se optó por quesos de 10 días de maduración ya que el tiempo de elaboración (queso inicial) requiere de una jornada completa de trabajo y no sería operativamente posible la obtención del queso procesado untable en forma secuencial. El contenido de humedad del queso procesado y almacenado por 24 horas a temperatura de refrigeración (7ºC) tuvo influencia sobre la consistencia final en comparación con la referencia comercial usada (consistencia cremosa). Los resultados de la evaluación sensorial indicaron que los quesos con el 60% de humedad, valor utilizado en la industria y sugerido por Kapoor y Metzger (2008), Weiserová et al. (2011) y Salek et al. (2015), presentaron una textura demasiado compacta, carente de untabilidad y con elevada resistencia al corte, no deseable para un queso untable; los quesos con 62% de humedad final resultaron con una textura compacta, sin untabilidad y con una resistencia al corte similar al producto obtenido con 60% de humedad; los quesos con 63% presentaron una consistencia similar al producto comercial, mientras que los quesos con 65% de humedad tuvieron una fluidez excesiva. De acuerdo a estos resultados se seleccionó una humedad final del 63% para los quesos procesados untables, logrando la untabilidad deseable. Según Ha et al. (2013) los quesos procesados untables debieran tener una humedad del 60% o más para favorecer la untabilidad y presentar comportamiento de crema viscosa.

Diseño de proceso

Para la selección del nivel de las variables de proceso se utilizaron quesos de cabra comerciales de iguales características a los grupos seleccionados: Quesos de pasta blanda sin madurar con una humedad de 50,9±0,4 [g/100g de queso] y de pasta semidura madurados cuya humedad fue de 37,4±0,3 [g/100g de queso], en iguales proporciones. Las temperaturas de fundido ensayadas produjeron cambios en la textura del queso procesado durante su enfriamiento, a temperatura de refrigeración (7ºC). Los quesos fundidos a 80ºC presentaron grumos, en cambio los fundidos a 85ºC resultaron homogéneos. A los 90ºC se presentaron defectos de cocción con los bordes gratinados, por lo que se eligió trabajar con el par (tiempo, temperatura) de (9min, 85ºC). Las temperaturas de fusión a las que fue sometido el queso tuvieron efecto significativo sobre la textura del queso fundido, resultados similares informó Erazo Carapaz (2012), quien obtuvo una textura variable en queso fundido untable tipo cheddar sometido a diferentes temperaturas de fusión (75ºC, 85ºC y 95ºC) y estableció como mejor tratamiento el fundido a 85°C, temperatura con la que obtuvo una textura sensorialmente aceptable. Las velocidades de molienda y de agitación fueron medidas a través de la velocidad de rotación de la cuchilla. Ambas velocidades se determinaron como la máxima a la cual no se produjeron pérdidas de queso, en el caso de la molienda, como derrames de la masa fundente. En la **Tabla 2** se presentan los niveles para cada una de las variables del proceso de elaboración del queso procesado untable de cabra diseñado y en la **Figura 3** se muestran las etapas del proceso.

Tabla 2. Nivel de cada variable del proceso de elaboración del queso procesado untable.

Variables	Nivel
Velocidad de molienda	600 rpm
Velocidad agitación durante el fundido	4500 rpm
Temperatura de fundido	85ºC
Tiempo fundido/unidad de masa y unidad de área	9 minutos

Figura 3. A) Mezcla de quesos de cabra molidos y sales fundentes. B) Masa homogénea de queso fundido. C) Envasado del queso procesado. D) Queso procesado de cabra.

En la siguiente etapa de la investigación se validó el nivel de las variables para cambios en la formulación, variando las proporciones de quesos materia prima. Para ello se utilizaron los quesos de cabra elaborados en la planta quesera IDeAR, como se muestran en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Validación de las variables de proceso. Formulaciones ensayadas.

	Proporción de quesos madurados		
Formulación	**10 días**	**20 días**	**40 días**
1	1	1	1
2	2	1	1
3	1	2	1
4	1	1	2

Se determinaron analíticamente los contenidos de humedad y grasa de los quesos de cabra elaborados y madurados. Se calculó por balance de masa el peso de cada queso, crema y agua a incorporar para obtener un producto final de 63% de humedad y 20% de grasa. En la **Tabla 4** se presentan los contenidos de humedad y

grasa de los quesos materia prima de los distintos tiempos de maduración.

Tabla 4. Contenido de humedad y grasa (g/100g) de los quesos de cabra madurados.

Quesos	Humedad	Grasa
10 días	42,3±0,7	26,8±0,7
20 días	38,1±0,7	29,6±0,7
40 días	30,2±0,8	34,9±0,6

Las cuatro formulaciones ensayadas permitieron obtener quesos procesados de consistencia cremosa, aunque variable, con una untabilidad similar a la referencia comercial, validando el par (tiempo: temperatura) usado, la velocidad de agitación durante el fundido y la velocidad de la cuchilla durante la molienda. La variabilidad detectada en la textura permitirá seleccionar al menos una de las formulaciones comparando el perfil de cada muestra (dureza, cohesividad, adhesividad) con la control, de manera de inferir su aceptación comercial, siendo ésta el fin último de la investigación, orientada al desarrollo de quesos con características diferenciadas, como los quesos procesados untables, como una contribución al agregado de valor de la leche de cabra de producción local.

CONCLUSIONES

El análisis de conglomerados permitió seleccionar los quesos de cabra de 10, 20 y 40 días de maduración, como materia prima para formular queso procesado untable.

Se estableció una humedad del 63%, un contenido de grasa del 20% y un pH: 5,8-6, para lograr un queso fundido con características similares a los comerciales.

El mejor fundido de la mezcla se logra con un par (tiempo, temperatura) de 9minutos, 85ºC.

El proceso desarrollado se logró validar con cuatro formulaciones distintas, en las que se varió la proporción queso fresco: queso de maduración intermedia: queso madurado.

BIBLIOGRAFÍA

Aenor. Asociación española de normalización. Norma UNE 55-037.73 Materias grasas, determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa. (1991). Catálogo de normas UNE, Madrid.

A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist.

Ayad, E. H. E., Heraz, H. A. A., Awad, S. A., Darwish, S. M. (2010). Effect of cheese wheyand soybean flour on characteristics of processed cheese spread. *Egyptian Journal of Dairy Science*, *38*(2), 243-251.

Bernal SM; Palma S, Hynes ER, Perotti MC. (2001). Determinación de fracciones nitrogenadas para el seguimiento de la maduración de quesos. Revista Argentina de Lactología, 20: 10-18.

Buňka, F., Doudová, L., Weiserová, E., Černíková, M., Kuchař, D., Slavíková, Š., Nagyová. G., Ponízil P., Gruber T. Michálek, J. (2014). The effect of concentration and composition of ternary emulsifying salts on the textural properties of processed cheese spreads. *LWT-Food Science and Technology*, *58*(1), 247-255.

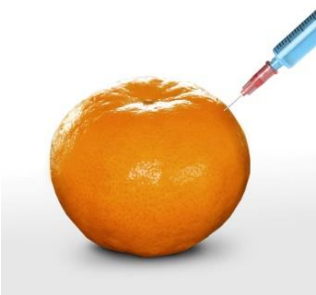
Brickley C.A., M.A.E. Auty, P. Piraino, P.L.H. Mcsweeney. (2007). The Effect of Natural Cheddar Cheese Ripening on the Functional and Textural Properties of the Processed CheeseManufactured Therefrom. Journal of Food Science 72(9): 483-490.

Castro Barra, P. M., Barra, M. M., Azevedo, M. S., Fett, R., Micke, G. A., Costa, A. C. O., de Oliveira, M. A. L. (2012). A rapid method for monitoring total trans fatty acids (TTFA) during industrial manufacturing of Brazilian spreadable processed cheese by capillary zone electrophoresis. *Food Control*, *23*(2), 456-461.

Erazo Carapaz, P. L. (2012). Elaboración de queso fundido untable tipo cheddar en Industria Lechera Carchi SA. Tesis de Ingeniera en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato. Dsiponible online: http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/3059

Cunha, C. R., Grimaldi, R., Alcantara, M. R., Viotto, W. H. (2013). Effect of the type of fat on rheology,

functional properties and sensory acceptance of spreadable cheese analogue. *International Journal of Dairy Technology*, *66*(1), 54-62.
Chandan, R. C., Kapoor, R. (2011). Manufacturing outlines and applications of selected cheese varieties. Dairy ingredients for food processing, 267-316.
Gliguem, H., Lopez, C., Michon, C., Lesieur, P., Ollivon, M. (2011). The viscoelastic properties of processed cheeses depend on their thermal history and fat polymorphism. *Journal of agricultural and food chemistry*, *59*(7), 3125-3134.
Ha, H. K., Lee, M. R., Noh, C. W., Kim, J. W., Lee, W. J. (2013). Classification and Functional Properties of Processed Cheese. Journal of Agriculture Life Science, 47(6), 219-225.
Kapoor, R., Metzger, L. E., Biswas, A. C., Muthukummarappan, K. (2007). Effect of natural cheese characteristics on process cheese properties. Journal of dairy science, 90(4), 1625-1634.
Kapoor R., L. E. Metzger. (2008). Process Cheese: Scientific and Technological Aspects-A Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 7: 194-214.
Mihaela, T., Otto, K., Ovidiu, T., Muhammad, R. (2013). The influence of the degree of cheese maturation used as raw materials in the manufacture of processed traditional cheese on emulsifying salts consumption. Romanian Biotechnol. Lett, 18, 8521-8527.
Piska, I., Štětina, J. (2004). Influence of cheese ripening and rate of cooling of the processed cheese mixture on rheological properties of processed cheese. Journal of Food Engineering, 61(4), 551-555.
Salek, R. N., Černíková, M., Maděrová, S., Lapčík, L., Buňka, F. (2015). The effect of different composition of ternary mixtures of emulsifying salts on the consistency of processed cheese spreads manufactured from Swiss-type cheese with different degrees of maturity. Journal of dairy science, 99:1–14.
Vallejos, M. J. M., Pham, L. J., Barraquio, V. L. (2012). Biogenic amines in some natural and processed cheeses sold in Laguna Province, Philippines. Philipp J Sci, 141, 111-115.
Veloso, A. C., Teixeira, N., Ferreira, I. M. (2002). Separation and quantification of the major casein fractions by reverse-phase high-performance liquid chromatography and urea–polyacrylamide gel electrophoresis: Detection of milk adulterations. Journal of Chromatography A, 967(2), 209-218.
Weiserová, E., Doudová, L., Galiová, L., Žák, L., Michálek, J., Janiš, R., Buňka, F. (2011). The effect of combinations of sodium phosphates in binary mixtures on selected texture parameters of processed cheese spreads. International dairy journal, 21(12), 979-986.
Zehren V y Nusbaum D (2000*), Cheese Process* Cooley Madison, Wisconsin. US, 364.



Microencapsulación de antocianinas mediante liofilización

Castagnini J.M., Rasia M.C., Zapata L.M., Capodoglio D.L., Zampedri C.A., Zampedri P.

Laboratorio de Fisicoquímica. Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Entre Ríos, Argentina. rasiam@fcal.uner.edu.ar

RESUMEN

Las antocianinas son compuestos fenólicos presentes en los arándanos responsables de las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas, que se les atribuyen a estas bayas. En el presente trabajo, se ha estudiado la microencapsulación de un extracto de antocianinas mediante liofilización, utilizando como material de pared maltodextrina, concentrado de proteína de suero lácteo y una mezcla 1:1 de estos dos materiales. Los resultados obtenidos indican que la eficiencia de encapsulación de los distintos recubrimientos está por encima del 94%, en tanto que la productividad de microcápsulas fue del orden del 76% para la proteína de suero lácteo, 77% para la mezcla de proteína y maltodextrina y del 87% para la maltodextrina. En términos del color instrumental, se observaron diferencias en el color de las distintas cápsulas, debido principalmente, al cambio en la coloración de las antocianinas como consecuencia de los distintos pH de las soluciones. En conclusión, podemos afirmar que las tres matrices seleccionadas son aptas para encapsular antocianinas por medio de un proceso de liofilización ya que se han obtenido valores elevados para la eficiencia de encapsulación y la productividad de microcápsulas.

Palabras Clave: Microencapsulación, antocianinas, arándanos, liofilización.

ABSTRACT

Anthocyanins are phenolic compounds found in blueberries responsible for their antioxidant, anti-inflammatory and anti-cancer properties. In this research, microencapsulation of an anthocyanin extract through freeze-drying using as wall materials maltodextrin, whey protein concentrate (WPC 35) and a 1:1 mixture of maltodextrin and whey protein concentrate was studied. Results indicates that encapsulation efficiency of different wall materials is above 94%, while encapsulation productivity was 76% for whey protein, 77% for the mixture of protein and maltodextrin and 87% for maltodextrin. In terms of instrumental color, differences were observed mainly due to the change in the color of anthocyanins because of different pH solutions. In conclusion, we can say that the three selected matrices are suitable for encapsulating anthocyanins by freeze-drying because high values of encapsulation efficiency and productivity were obtained.

Keywords: Microencapsulation, anthocyanins, blueberries, freeze-drying.

INTRODUCCIÓN

Las antocianinas son compuestos fenólicos presentes en los arándanos (*Vaccinium corymbosum*). No solo imparten color a los alimentos sino, que son los compuestos químicos responsables de las propiedades antioxidantes, vaso protectoras, antiinflamatorias y anticancerígenas que se les atribuyen a estas bayas (Bishayee et al. 2011, Patras et al. 2010, Prior et al. 1998, Rojo et al. 2012, Seeram 2008, Shih et al. 2010, Vrhovsek et al. 2012). El consumo diario de arándanos disminuye la concentración de hidroperóxidos lipídicos (McAnulty et al. 2005). Estudios en humanos mostraron que los arándanos mejoraron la sensibilidad a la insulina y los factores de riesgo cardiovascular de participantes obesos, no diabéticos y resistentes a la insulina (Basu et al. 2010, Moghe et al. 2012, Stull et al. 2010). Extractos de arándanos preparados con metanol y liofilizados fueron utilizados en el agua de animales en estudio. Las antocianinas

purificadas resultaron ser más efectivas que los arándanos en reducir la obesidad in vivo (Prior et al. 2008, 2009, 2010). Además, algunos investigadores han propuesto que las antocianinas pueden influenciar la salud y bienestar del consumidor modulando la composición de la comunidad de microorganismos presentes en el intestino (Forester y Waterhouse 2010, Hidalgo et al. 2012). Sin embargo, las antocianinas son compuestos químicos lábiles cuya estabilidad depende de factores tales como la estructura molecular, pH, temperatura, intensidad lumínica, presencia de copigmentos, iones metálicos, enzimas, oxígeno, ácido ascórbico, azucares, entre otros (Bakowska-barczak y Kolodziejczyk 2011). Por estas razones, su incorporación en matrices alimenticias procesadas es limitada debido a que las antocianinas son drásticamente degradadas a pH superiores a 6,0 y altas temperaturas (100-121ºC) (Sui et al. 2014).

Desde el punto de vista tecnológico, resulta de gran interés disponer de estos compuestos fenólicos de una forma conveniente, para que puedan ser manipulados fácilmente tanto para usos alimenticios como medicinales. En este sentido, una metodología interesante para estabilizar las antocianinas en estado sólido, es la microencapsulación (Cavalcanti et al. 2011, Jiménez-Aguilar et al. 2011, Ma y Dolan 2011, Santos et al. 2013). El agente encapsulante actúa como una barrera física contra los efectos del oxígeno, agua, luz e inhibe la degradación química y enzimática (Wang et al. 2009). La utilización de micropartículas en vez de extractos de antocianinas puede incrementar su estabilidad en una bebida isotónica (Burin et al. 2011), helados enriquecidos (Çam et al. 2014) y galletas (Davidov-Pardo et al. 2013). Además, la microencapsulación también promueve la liberación controlada de productos bioactivos en el tracto gastrointestinal (Betz y Kulozik 2011, Frank et al. 2012).

La liofilización es una tecnología que implica un largo período de deshidratación, no obstante, es una técnica simple para la encapsulación de compuestos solubles en agua. Durante este proceso, el material del núcleo y el de pared son homogeneizados y coliofilizados para obtener el producto seco (Fang y Bhandari 2011).

En el presente trabajo, se ha estudiado la encapsulación de un extracto de antocianinas mediante liofilización, utilizando como material de pared maltodextrina (15 DE), concentrado de proteína de suero lácteo (WPC 35) y una mezcla 1:1 de maltodextrina y concentrado de proteína de suero lácteo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de extracto de antocianinas

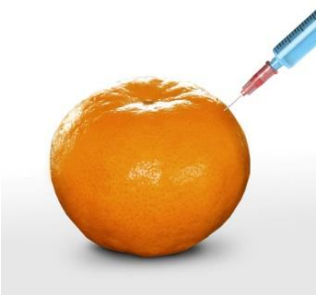
Arándanos (*Vaccinium corymbosum*) cosechados en la ciudad de Concordia fueron triturados y tratados enzimáticamente para obtener jugo de arándanos según el método descrito por Castagnini (2014). A continuación, se separaron los sólidos por medio de una tela de filtración. La torta de filtración fue sometida a una extracción sólido-líquido durante 2,5 horas con etanol acidificado con ácido cítrico al 1% (Zapata 2014). De esta manera se recuperaron antocianinas presentes en la piel y en otros restos sólidos de la baya. El extracto de antocianinas fue concentrado entre 2 y 2,5 veces en un rotavapor a 50ºC. Por último, el extracto concentrado fue almacenado en botellas color caramelo a -20ºC hasta su posterior utilización.

Preparación de las microcápsulas

Para realizar la encapsulación se utilizó como material de pared maltodextrina (15 DE), concentrado de proteína de suero lácteo (WPC 35) y una mezcla 1:1 de los materiales citados anteriormente. La formulación utilizada fue: 10mL de extracto de antocianinas más 10g de material de pared y 40mL de agua. En primer lugar, el material de pared se agitó durante 15 min en 40mL de agua para lograr su disolución, a continuación, se agregaron 10mL de extracto de antocianinas y se homogeneizó la mezcla en un Ultraturrax a 14000 r.p.m. durante 10 minutos. Por último, las preparaciones fueron colocadas en tubos falcon de 50mL, congeladas a -20ºC y liofilizadas durante 60h. El sólido obtenido se trituró en un mortero y se almacenó en un desecador.

Extracción total de antocianinas

Para realizar la disolución completa de las microcápsulas, 0,1g de estas fueron mezcladas con 5mL de metanol:agua (1:1). La dispersión fue agitada utilizando un agitador magnético durante 20 minutos y a continuación fue centrifugada a 2706xg durante 10 minutos. En el sobrenadante se determinó el contenido de antocianinas monoméricas totales.



Extracción superficial de antocianinas

La extracción superficial de antocianinas se realizó mediante el método de Robert et al. (2010) con modificaciones: 0,5g de las microcápsulas se tratan con 5mL de isopropanol. La dispersión fue agitada en un vortex a temperatura ambiente durante 1 min y a continuación fue centrifugada a 2706xg durante 10 minutos.

En el sobrenadante se determinó el contenido de antocianinas monoméricas totales.

Productividad de encapsulación (PE) y eficiencia de encapsulación (EE)

La productividad de encapsulación y la eficiencia de encapsulación se calcularon de acuerdo con las ecuaciones propuestas por Davidov-Pardo et al. (2013):

$$PE = \frac{TAC_e}{TAC_t}.100 \qquad (1)$$

$$EE = \frac{1 - SAC}{TAC_e}.100 \qquad (2)$$

TAC_e: es el contenido total de antocianinas obtenido experimentalmente (mg/g cápsula),
TAC_t: es el contenido total de antocianinas calculado teóricamente (mg/g cápsula)
SAC: es el contenido superficial de antocianinas (mg/g cápsula)

Antocianinas monoméricas totales

El contenido de antocianas se determinó por medio de la técnica de pH diferencial (Giusti y Wrolstad 2001). Se utilizó un buffer pH 1,0 (KCl 0,025 M) y otro a pH 4,5 (CH_3COONa 0,4 M). El contenido de antocianinas se cuantificó utilizando el coeficiente de extinción molar para la cianidina-3-glucósido (26900L/mol.cm). Las medidas se realizaron a 510 y 700nm en un espectrofotómetro (Hach Company, Alemania) y se utilizó como blanco una cubeta con agua destilada. Los resultados se expresaron en mg cianidina-3-glucosido/g de cápsula.

Color instrumental

El color instrumental fue medido utilizando un colorímetro (CR-300, Minolta Co. Ltd., Japón). Una cerámica blanca suministrada por el fabricante se utilizó para calibrar el equipo. Los resultados se expresaron en el espacio de color CIE L*a*b* para el iluminante D65 y un ángulo del observador de 10º.

pH

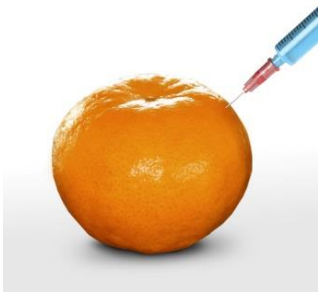
El pH fue determinado con un potenciómetro con corrección automática de temperatura (SevenEasy, METTLER TOLEDO GmbH, Suiza).

Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Los valores presentados corresponden a las medias ± la desviación estándar. Por medio del software Statgraphics Centurion v. 16.1.11. se realizaron análisis de las varianzas (ANOVA) para determinar las diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% ($p<0,5$) de los valores obtenidos para la eficiencia de encapsulación y la productividad de microcápsulas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido inicial de antocianinas en el extracto de arándanos fue de 1013,62 ± 9,63mg cianidina-3-glucosido/L, este contenido es similar al utilizado por otros autores en la encapsulación de antocianinas con almidones waxy (García-Tejeda et al. 2014) y en la encapsulación de antocianinas con maltodextrina y goma arábiga (Mahdavee Khazaei et al. 2014). Un buen método de encapsulación se basa en alcanzar un alto nivel de retención del material de núcleo en el interior de la microcápsula y una mínima concentración del mismo en la superficie de las partículas (Akhavan Mahdavi et al. 2016). En la **Tabla 1** se presentan los resultados de



las determinaciones del contenido total de antocianinas (TAC) y el contenido superficial (SAC) para cada una de las formulaciones utilizadas para obtener las cápsulas. Analizando el TAC_e se puede observar que el proceso de elaboración de las microcápsulas produjo una degradación de entre el 12 y 30% del contenido total de antocianinas. Sin embargo, el contenido de estos compuestos antioxidantes es mayor que el determinado por Tatar Turan et al. (2015) en microcápsulas de antocianinas y maltodextrina obtenidas por liofilización. Además, en cuanto al contenido superficial, se puede observar que las cápsulas obtenidas con WPC 35 son las que menor cantidad de antocianinas presentan en su superficie.

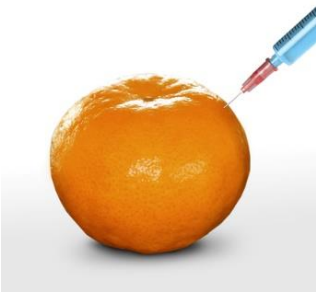


Tabla 1. Contenido total y superficial de antocianinas.

	TAC_e (mg cianidina-3-glucosido/g de cápsula)	SAC_e (mg cianidina-3-glucosido/g de cápsula)
Maltodextrina	0,89 ± 0,08	0,45 ± 0,23
WPC 35	0,73 ± 0,22	0,03 ± 0,03
Maltodextrina:WPC 35	0,78 ± 0,16	0,15 ± 0,14

La eficiencia de encapsulación es un indicador importante para las partículas microencapsuladas y está relacionado con el potencial de los materiales de pared para encapsular o retener el material de núcleo dentro de la microcápsula (Akhavan Mahdavi et al. 2016). En la **Tabla 2** se pueden observar los resultados característicos del proceso de encapsulación. Los valores mayores al 95% de la eficiencia de encapsulación (EE) indican que las tres formulaciones son adecuadas para encapsular antocianinas. Asimismo, la productividad de microcápsulas (PE) fue del orden del 76% para la proteína de suero lácteo, 77% para la mezcla de proteína y maltodextrina y del 87% para la maltodextrina. Todos estos resultados son satisfactorios para la obtención de antocianinas encapsuladas y similares a los obtenidos en la microencapsulación de extracto de antocianinas con maltodextrina, goma arábiga y gelatina (Akhavan Mahdavi et al. 2016); con goma arábiga, almidón modificado, WPC o proteína de soja (Santana et al. 2016); o con maltodextrina (Tatar Turan et al. 2015, Tonon et al. 2008).

Tabla 2. Productividad de encapsulación (PE) y eficiencia de encapsulación (EE).

	PE (%)	EE (%)
Maltodextrina	87,75 ± 7,88[a]	94,99 ± 2,24[a]
WPC 35	76,72 ± 19,24[a]	98,99 ± 0,27[b]
Maltodextrina:WPC 35	77,41 ± 15,79[a]	97,70 ± 0,96[a]

En términos del color instrumental, se observaron diferencias en el color de las distintas cápsulas. En la **Tabla 3** se puede observar que, el valor del parámetro L* es similar para las tres formulaciones. En cambio, los parámetros a* y b* sufrieron modificaciones. La tonalidad (h*) es el atributo del color percibido por el consumidor (Lee 2000) la modificación del ángulo desde un valor positivo para la formulación con maltodextrina a uno negativo para las formulaciones que contienen WPC, indican un cambio del rojo al violeta (**Figura 1**). Esto se debe principalmente a que el WPC produce un aumento del pH lo que repercute en el color de las antocianinas ya que estas sufren transformaciones estructurales reversibles en función del pH del medio en el que se encuentran (Giusti y Wrolstad 2001).

Tabla 3. Color instrumental en el espacio CIE L*a*b* y pH de los productos obtenidos.

Agente encapsulante	pH	L*	a*	b*	C*	h*
Maltodextrina	2,6 ± 0,2	41,27 ± 0,01	29,94 ± 0,04	3,61 ± 0,02	30,15 ± 0,03	0,12 ± 0,01
WPC 35	4,8 ± 0,3	38,03 ± 0,01	13,73 ± 0,01	-2,72 ± 0,01	14,00 ± 0,01	-0,20 ± 0,01
Maltodextrina: WPC 35	4,3 ± 0,2	38,33 ± 0,01	16,74 ± 0,05	-0,35 ± 0,01	16,74 ± 0,05	-0,02 ± 0,01

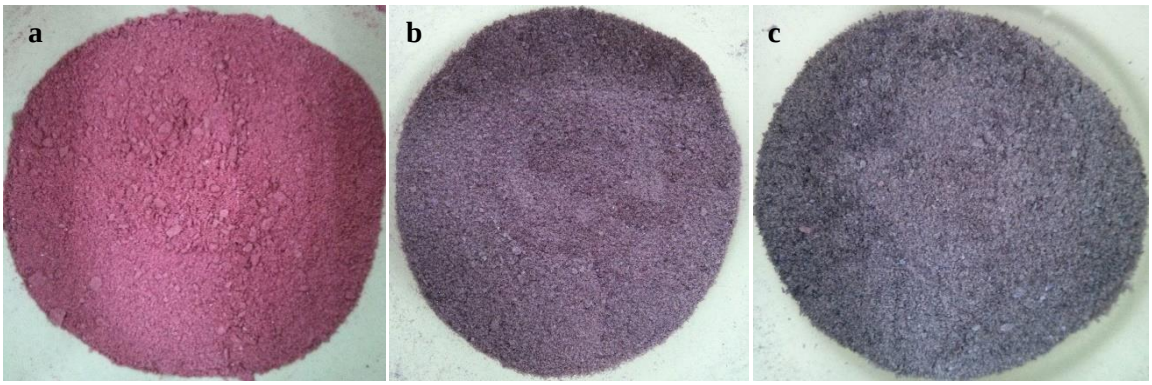


Figura 1. Fotografías de las microcápsulas. a) Maltodextrina, b) Maltodextrina:WPC35, c) WPC35.

CONCLUSIONES

En conclusión, podemos afirmar que las tres matrices seleccionadas son aptas para encapsular antocianinas por medio de un proceso de liofilización ya que se han obtenido valores elevados para la eficiencia de encapsulación y la productividad de microcápsulas y similares a los obtenidos por otros investigadores. Son necesarios más ensayos para evaluar la biodisponibilidad y la estabilidad de los productos obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA

Akhavan Mahdavi S, Jafari SM, Assadpoor E, Dehnad D. 2016. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. International Journal of Biological Macromolecules, 85, 379–385.

Bakowska-barczak AM, Kolodziejczyk PP. 2011. Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. Industrial Crops and Products, 34, 1301–1309.

Basu A, Du M, Leyva M J, Sanchez K, Betts NM, Wu M, Lyons TJ. 2010. Blueberries Decrease Cardiovascular Risk Factors in Obese Men and Women with Metabolic Syndrome123. The Journal of Nutrition, 140(9), 1582–1587.

Betz M, Kulozik U. 2011. Whey protein gels for the entrapment of bioactive anthocyanins from bilberry extract. International Dairy Journal, 21(9), 703–710.

Bishayee A, Mbimba T, Thoppil RJ, Háznagy-Radnai E, Sipos P, Darvesh AS, Hohmann J. 2011. Anthocyanin-rich black currant (Ribes nigrum L.) extract affords chemoprevention against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinogenesis in rats. Journal of Nutritional Biochemistry, 22(11), 1035–1046.

Burin VM, Rossa PN, Ferreira-Lima NE, Hillmann MCR, Boirdignon-Luiz MT. 2011. Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. International Journal of Food Science & Technology, 46(1), 186–193.

Çam M, İçyer NC, Erdoğan F. 2014. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. LWT - Food Science and Technology, 55(1), 117–123.

Castagnini JM. 2014. Estudio del proceso de obtención de zumo de arándanos y su utilización como ingrediente para la obtención de un alimento funcional por impregnación a vacío. Editorial Universitat Politècnica de València, Valencia (Spain).

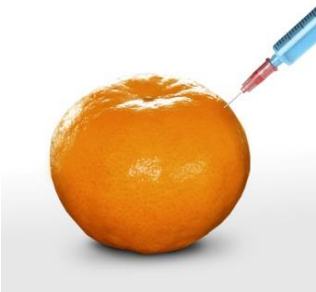
Cavalcanti RN, Santos DT, Meireles MAA. 2011. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems-An overview. Food Research International, 44(2), 499–509.

Davidov-Pardo G, Arozarena I, Marín-Arroyo MR. 2013. Optimization of a Wall Material Formulation to Microencapsulate a Grape Seed Extract Using a Mixture Design of Experiments. Food and Bioprocess

Technology, 6(4), 941–951.
Fang Z, Bhandari B. 2011. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. Food Chemistry, 129(3), 1139–1147.
Forester SC, Waterhouse AL. 2010. Gut metabolites of anthocyanins, gallic acid, 3-O-methylgallic acid, and 2,4,6-trihydroxybenzaldehyde, inhibit cell proliferation of caco-2 cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(9), 5320–5327.
Frank K, Walz E, Gräf V, Greiner R, Köhler K, Schuchmann HP. 2012. Stability of Anthocyanin-Rich W/O/W-Emulsions Designed for Intestinal Release in Gastrointestinal Environment. Journal of Food Science, 77(12), 50–57.
García-Tejeda YV, Salinas-Moreno Y, Martínez-Bustos F. 2014. Acetylation of normal and waxy maize starches as encapsulating agents for maize anthocyanins microencapsulation. Food and Bioproducts Processing, (10), 1–10.
Giusti MM, Wrolstad RE. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In Current Protocols in Food Analytical Chemistry (pp. 1–13). John Wiley & Sons, Inc.
Hidalgo M, Oruna-concha MJ, Walton GE, Kallithraka S, Spencer JPE, Gibson GR, Pascual-Teresa S De. 2012. Metabolism of Anthocyanins by Human Gut Micro fl ora and Their In fl uence on Gut Bacterial Growth. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60, 3882–3890.
Jiménez-Aguilar DM, Ortega-Regules AE, Lozada-Ramírez JD, Pérez-Pérez MCI, Vernon-Carter EJ, Welti-Chanes J. 2011. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. Journal of Food Composition and Analysis, 24(6), 889–894.
Lee HS. 2000. Objective measurement of red grapefruit juice color. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(5), 1507–1511.
Ma KLM, Dolan KD. 2011. Effects of Spray Drying on Antioxidant Capacity and Anthocyanidin Content of Blueberry By-Products. Journal of Food Science, 76(7), H156–H164.
Mahdavee Khazaei K, Jafari SM, Ghorbani M, Hemmati Kakhki A. 2014. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. Carbohydrate Polymers, 105(1), 57–62.
McAnulty SR, McAnulty LS, Morrow JD, Khardouni D, Shooter L, Monk J, Brown V. 2005. Effect of daily fruit ingestion on angiotensin converting enzyme activity, blood pressure, and oxidative stress in chronic smokers. Free Radical Research, 39(11), 1241–8.
Moghe SS, Juma S, Imrhan V, Vijayagopal P. 2012. Effect of Blueberry Polyphenols on 3T3-F442A Preadipocyte Differentiation. Journal of Medicinal Food, 15(5), 448–452.
Patras A, Brunton NP, O'Donnell C, Tiwari BK. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. Trends in Food Science & Technology, 21(1), 3–11.
Prior RL, Cao G, Martin A, Sofic E, Mcewen J, Brien CO, Mainland CM. 1998. Antioxidant Capacity As Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of Vaccinium Species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(7), 2686–2693.
Prior RL, Wilkes S, Rogers T, Khanal RC, Wu X, Howard LR. 2010. Purified blueberry anthocyanins and blueberry juice alter development of obesity in mice fed an obesogenic high-fat diet. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(7), 3970–3976.
Prior RL, Wu X, Gu L, Hager T, Hager A, Wilkes S, Howard L. 2009. Purified berry anthocyanins but not whole berries normalize lipid parameters in mice fed an obesogenic high fat diet. Molecular Nutrition and Food Research, 53(11), 1406–1418.
Prior RL, Wu X, Gu L, Hager TJ, Hager A, Howard LR. 2008. Whole berries versus berry anthocyanins: Interactions with dietary fat levels in the C57BL/6J mouse model of obesity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(3), 647–653.
Robert P, Gorena T, Romero N, Sepulveda E, Chavez J, Saenz C. 2010. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (Punica granatum) by spray drying. International Journal of Food Science and Technology, 45(7), 1386–1394.
Rojo LE, Ribnicky D, Logendra S, Poulev A, Rojas-Silva P, Kuhn P, Raskin I. 2012. In vitro and in vivo

anti-diabetic effects of anthocyanins from Maqui Berry (Aristotelia chilensis). Food Chemistry, 131(2), 387–396.
Santana AA, Cano-Higuita DM, De Oliveira RA, Telis, VRN. 2016. Influence of different combinations of wall materials on the microencapsulation of jussara pulp (Euterpe edulis) by spray drying. Food Chemistry, 212, 1–9.
Santos DT, Albarelli JQ, Beppu, MM, Meireles MAA. 2013. Stabilization of anthocyanin extract from jabuticaba skins by encapsulation using supercritical CO2 as solvent. Food Research International, 50(2), 617–624.
Seeram NP. 2008. Berry fruits for cancer prevention: Current status and future prospects. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(3), 630–635.
Shih PH, Chan YC, Liao JW, Wang MF, Yen GC. 2010. Antioxidant and cognitive promotion effects of anthocyanin-rich mulberry (Morus atropurpurea L.) on senescence-accelerated mice and prevention of Alzheimer's disease. Journal of Nutritional Biochemistry, 21(7), 598–605.
Stull AJ, Cash KC, Johnson WD, Champagne CM, Cefalu WT. 2010. Bioactives in Blueberries Improve Insulin Sensitivity in Obese, Insulin-Resistant Men and Women. Journal of Nutrition, 140(10), 1764–1768.
Sui X, Dong X, Zhou W. 2014. Combined effect of pH and high temperature on the stability and antioxidant capacity of two anthocyanins in aqueous solution. Food Chemistry, 163, 163–170.
Tatar Turan F, Cengiz A, Kahyaoglu T. 2015. Evaluation of ultrasonic nozzle with spray-drying as a novel method for the microencapsulation of blueberry's bioactive compounds. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 32, 136–145.
Tonon RV, Brabet C, Hubinger MD. 2008. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (Euterpe oleraceae Mart.) powder produced by spray drying. Journal of Food Engineering, 88(3), 411–418.
Vrhovsek U, Masuero D, Palmieri L, Mattivi F. 2012. Identification and quantification of flavonol glycosides in cultivated blueberry cultivars. Journal of Food Composition and Analysis, 25(1), 9–16.
Wang Y, Lu Z, Lv F, Bie X. 2009. Study on microencapsulation of curcumin pigments by spray drying. European Food Research and Technology, 229(3), 391–396.
Zapata LM. 2014. Obtencion de extracto de antocianinas a partir de arandanos para ser utilizado como Antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Universitat Politècnica de València.

AGRADECIMIENTOS
Los investigadores agradecen a las becarias, Carolina Zampedri y Patricia Zampedri, a la empresa Blueberries S.A. por los arándanos donados y a la Universidad Nacional de Entre Ríos por el financiamiento a través del proyecto de investigación PID-UNER 8082: Microencapsulación de compuestos bioactivos.



Optimización del proceso de extrusión para la obtención de alimentos para acuicultura utilizando un extrusor monotornillo

Cian R.E.[1], Bacchetta C.[2], Rossi, A.[2, 3], Cazenave J [2, 3], Drago S.R. [1]

[1] Instituto de Tecnología de Alimentos, CONICET, FIQ - UNL, Santa Fe, República Argentina.
[2] Instituto Nacional de Limnología, CONICET-UNL, Santa Fe, República Argentina.
[3] Facultad de Humanidades y Ciencias UNL. Santa Fe, República Argentina.
rec_704@yahoo.com.ar

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue optimizar las variables del proceso de extrusión empleando un extrusor monotornillo, a fin de obtener alimentos para peces con buenas propiedades fisicoquímicas. Los productos extrudidos fueron elaborados con sémola de maíz, harina de soja y plasma bovino, utilizando un extrusor monotornillo Brabender 10 DN a 175 rpm. Para estudiar el efecto simultáneo de la humedad (H) y temperatura de extrusión (T) sobre la expansión (E), densidad aparente (DA), absorción de agua (AA), solubilidad (S) y flotabilidad (F) se utilizó un diseño central compuesto 3^2 con triplicado en el punto central. Los niveles para T y M fueron 160, 180 y 200ºC y 14, 16 y 18g/100g, respectivamente. La optimización de las variables se llevó a cabo utilizando la deseabilidad de Derringer, haciendo máximo E y F, y mínimo DA y S. El valor de deseabilidad global alcanzado a partir de la optimización fue 0,8805, siendo la condición optima de extrusión: 181,5°C y 15,8g/100g. Estos resultados indican que es posible desarrollar alimentos para peces a base de harinas proteicas vegetales con muy buenas propiedades fisicoquímicas para piscicultura, empleando para ello un extrusor monotornillo.

Palabras clave: piscicultura, extrusión, harinas proteicas.

ABSTRACT

The aim of this work were to develop a formulation with corn meal, soybean meal, and bovine plasma protein concentrate, and to optimize extrusion conditions in order to have a product with maximum expansion and floatability, and minimum bulk density and water solubility, using a single screw extruder. In order to study the simultaneous effect of blend moisture (M) and extrusion temperature (T) on expansion (E), bulk density (BD), water absorption index (WAI), water solubility index (WSI) and floatability (F) a factorial experimental design was used. The levels of each variable were: T: 160–180–200 ºC and M: 14–16–18 g/100 g. A multiple response optimization of physical properties of experimental extruded feeds (E, F, BD and WSI) was performed using the Derringer's desirability function. The global desirability function value was 0.8805, and the obtained optimal conditions were 181.5 ºC and 15.8 g/100g of moisture content. Extrusion process using a single screw in optimal conditions could be used to obtain fish feed without fish meal and good physical properties.

Keywords: pisciculture, extrusion, protein meals.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos para peces generalmente poseen un elevado nivel proteico que depende directamente de los requerimientos nutricionales de la especie que se pretende cultivar. Para el caso del Pacú (*Piaractus mesopotamicus*), se han observado formulaciones que poseen hasta un 27% de proteínas (Bicudo et al. 2009), mientras que para el caso de Tilapia roja (*Oreochromis spp*) el requerimiento proteico ronda el 25% (Pantoja et al. 2011). Actualmente, la fuente proteica más utilizada para formular dichos alimentos es la harina de pescado (HP). Sin embargo, este insumo posee un elevado costo y alta fluctuación respecto a su

disponibilidad en el mercado (Abimorad et al. 2009). Estos factores han conducido al reemplazo parcial o total de este insumo por otras fuentes proteicas, principalmente de origen vegetal (Draganovic et al. 2011). En este sentido, diversos autores han reportado que el reemplazo parcial de la HP por proteínas de origen vegetal permite obtener productos extrudidos con muy buenas características nutricionales y fisicoquímicas para piscicultura (Bransden et al. 2001, Torstensen et al. 2008).

El proceso de extrusión se ha utilizado ampliamente para el desarrollo de alimentos para peces (Sørensen 2012). Este proceso involucra el transporte de un material, bajo ciertas condiciones controladas, forzándolo a pasar por una boquilla de una dada geometría (González et al. 2002). Durante la cocción por extrusión, los ingredientes crudos sufren numerosos cambios químicos y estructurales, tales como desnaturalización proteica, gelatinización del almidón y formación de complejos amilosa – lípidos (González et al. 2013), lo que define las propiedades fisicoquímicas de los productos obtenidos. El almidón es el componente que juega el papel más importante en la cocción por extrusión, ya que los cambios que sufre afectan la expansión y textura final del producto extrudido (González et al. 2014). Este aspecto es determinante para el desarrollo de alimentos para peces dado que la expansión del producto está en relación directa con la flotación del mismo (Sørensen 2012). Por lo tanto, dependiendo del grado de gelatinización del almidón en el extrusor, será la expansión y densidad del alimento obtenido (De Cruz et al. 2015), lo que definirá las propiedades de flotación del producto. Cabe destacar que estas propiedades pueden ser ajustadas en función de los requerimientos físicos de alimentación de las especies cultivadas (Sørensen 2012), siempre y cuando se seleccionen adecuadamente las condiciones de proceso (temperatura de extrusión, humedad de la mezcla, etc.) y se emplee una correcta formulación (Sørensen 2012).

Las propiedades fisicoquímicas de los alimentos destinados a piscicultura pueden ser evaluadas de acuerdo a su estabilidad en agua, densidad aparente, velocidad de hundimiento o flotabilidad, dureza y durabilidad (De Cruz et al. 2015). Estas propiedades dan información acerca de la calidad física del alimento y de su comportamiento en el medio acuso (Aarseth et al. 2006, Bandyopadhyay y Rout 2001).

Como se mencionó anteriormente, tanto las variables del proceso de extrusión como la formulación del alimento pueden condicionar la calidad física y nutricional del mismo (Sørensen, 2012). En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue optimizar las variables del proceso de extrusión empleando un extrusor monotornillo a fin de obtener alimentos para peces con buenas propiedades fisicoquímicas y basados en una fórmula con proteínas vegetales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materias primas

Los productos extrudidos fueron formulados con sémola de maíz, harina de soja y concentrado proteico de plasma bovino. La harina de soja y el concentrado proteico de plasma bovino fueron provistos por America Pampa Agroindustrial S.A. (America, Argentina) y Yeruvá S.A. (Esperanza, Argentina), respectivamente. Los ingredientes fueron mezclados utilizando un mezclador de mesada y se añadió agua a fin de alcanzar el contenido de humedad requerido. Para lograr la estabilización de la humedad en la muestra, las mezclas fueron colocadas en bolsas de polietileno selladas y almacenadas 1 hora antes de cada extrusión.

Proceso de extrusión

Para estudiar el efecto simultáneo de la humedad (H) y temperatura de extrusión (T) sobre la expansión (E), densidad aparente (DA), absorción de agua (AA), solubilidad (S) y flotabilidad (F) se utilizó un diseño central compuesto 3^2 con triplicado del punto central, resultando en 11 experiencias. Los niveles para T y M fueron 160, 180 y 200ºC y 14, 16 y 18g/100g, respectivamente. Para ello se usó un extrusor mono-tornillo Brabender 10 DN (Brabender®, Duisburg, Alemania) (relación largo-diámetro igual a 10), con un tornillo de relación de compresión 3:1, una velocidad del tornillo de 175 rpm, una boquilla de salida de 3 mm de diámetro y 20 mm de largo. La alimentación al extrusor se realizó de manera de llenar totalmente los canales del tornillo en la sección de alimentación (“full-capacity”). Las muestras fueron obtenidas una vez alcanzado el régimen estacionario (torque y caudal constantes). Durante el proceso, se registró el torque (en el momento de tomar la muestra para el caudal) y el caudal de salida para cada muestra. Finalmente, los

productos extruidos fueron secados en estufa a 40ºC hasta alcanzar un nivel de humedad de 8 g/100 g y posteriormente almacenados en bolsas de polietileno herméticamente cerradas hasta su evaluación.

Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los productos extrudidos

La expansión (E) se determinó de acuerdo a González et al. (2002), midiéndose el diámetro (mm) de los trozos de extrudidos con un calibre manual (Vernier 0-150 mm, Stronger Argentina) en zonas distintas escogidas al azar. Ésta fue calculada como la relación entre el diámetro medio del extrudido y el diámetro de la boquilla (3 mm). La densidad aparente (DA) se evaluó siguiendo el método propuesto por Aas et al. (2011). Para ello se colocaron trozos de extrudidos en una probeta de 1000 mL y se registró el peso correspondiente a dicho volumen. La DA se expresó como g de producto extrudido/L. La absorción de agua (AA) y la solubilidad (S) se determinaron según Honorato et al. (2010) y González et al. (2002), respectivamente. La AA fue expresada como g agua/g producto extrudido. La S se expresó como el porcentaje sólidos solubles respecto a los sólidos totales. Para determinar la flotabilidad (F) de los productos extrudidos se siguió la técnica descripta por De Cruz et al. (2015). Para tal fin, se colocaron 10 trozos de extrudidos en un vaso de precipitado con 100 mL de agua destilada a temperatura ambiente y se cuantificó el número de productos extruidos flotantes al cabo de 30 minutos. La F se calculó como el porcentaje de productos extruidos flotantes al cabo de 30 minutos respecto al número inicial vertido en el vaso.

Optimización del proceso de extrusión

La optimización de las variables se llevó a cabo utilizando la deseabilidad de Derringer (Derringer y Suich 1980), haciendo máximo E y F ($P = 2$ y $P = 5$, respectivamente) y mínimo DA y S ($P = 5$ y $P = 1$, respectivamente). Luego del proceso de optimización se procedió a validar el modelo. Para ello se obtuvo un nuevo producto extrudido bajo las condiciones óptimas de extrusión (T y H) y se le evaluó su E, F, DA y S. Los resultados experimentales obtenidos para este producto fueron comparados con los valores predichos por el modelo mediante un test-t.

Análisis estadísticos

Tanto el ANOVA como los resultados del diseño de superficie de respuesta y la optimización fueron analizados mediante el programa Statgraphics Centurion XV. El nivel de significación adoptado fue $p < 0,05$. Todas las muestras se evaluaron por triplicado.

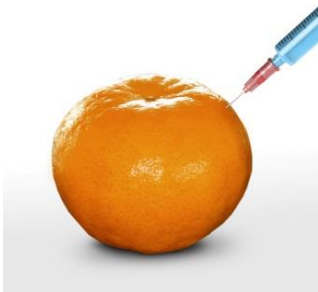
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los productos extrudidos

En la **Tabla 1** se muestran los resultados de las propiedades fisicoquímicas de los productos extrudidos obtenidos a diferentes condiciones de extrusión.

Tabla 1: Expansión (E), densidad aparente (DA), absorción de agua (AA), solubilidad (S) y flotabilidad (F) obtenidos en diferentes condiciones del proceso de extrusión.

Condiciones de extrusión		E	DA (g/L)	AA (g agua/g)	S (%)	F (%)
Temperatura (T)	**Humedad (H)**					
160 ºC	**14 g/100g**	2,33	321,40	4,74	15,26	96,32
160 ºC	**16 g/100g**	2,03	454,03	4,39	13,73	84,06
160 ºC	**18 g/100g**	1,71	611,38	2,99	6,75	70,02
180 ºC	**14 g/100g**	2,31	276,87	4,95	16,18	100,01
180 ºC	**16 g/100g**	2,22	263,16	4,53	14,59	98,02
180 ºC	**16 g/100g**	2,26	262,74	4,30	11,67	99,05
180 ºC	**16 g/100g**	2,18	286,90	4,33	12,45	100,01
180 ºC	**18 g/100g**	1,84	443,45	3,60	9,86	85,05
200 ºC	**14 g/100g**	1,93	324,19	4,40	13,69	95,06



200 ºC	**16 g/100g**	1,88	296,68	3,66	7,98	97,01
200 ºC	**18 g/100g**	1,65	530,74	2,60	8,17	76,02

En la **Tabla 2** se muestra el ANOVA para los efectos de la temperatura (T) y la humedad (H) sobre las diferentes respuestas analizadas. Para cada caso, la falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$), por lo que el modelo se consideró adecuado para explicar los efectos de las variables independientes en las diferentes respuestas evaluadas.

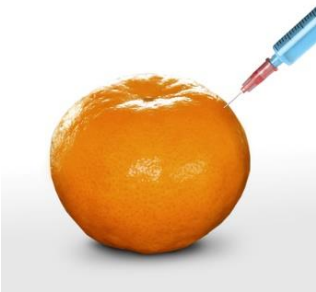


Tabla 2: Grado de significación (valor *p*) de los coeficientes del modelo de regresión polinómico: Expansión (E), densidad aparente (DA), absorción de agua (AA), solubilidad (S) y flotabilidad (F).

Respuestas / Fuente de variación	E	DA (g/L)	AA (g agua/g)	S (%)	F (%)
Temperatura (T)	**0,0228**	**0,0201**	0,2795	0,2518	**0,0180**
Humedad (H)	**0,0048**	**0,0026**	**0,0064**	**0,0315**	**0,0017**
T^2	**0,0123**	**0,0082**	**0,0492**	0,1636	**0,0056**
T x H	**0,0460**	0,0946	0,0656	0,4267	0,0728
H^2	0,0632	**0,0116**	0,3407	0,9154	**0,0096**
Falta de ajuste	0,3670	0,0757	0,1686	0,4086	0,0517

Los valores en negrita indican diferencias significativas (p <0,05). Grados de libertad: (n-1).

Para el caso de E todos los términos, excepto H^2, fueron significativos ($p < 0,05$). Se pudo apreciar una disminución de E con el aumento de H, observándose un máximo a temperaturas intermedias (179,5°C) y bajos valores de H (**Figura 1a**).

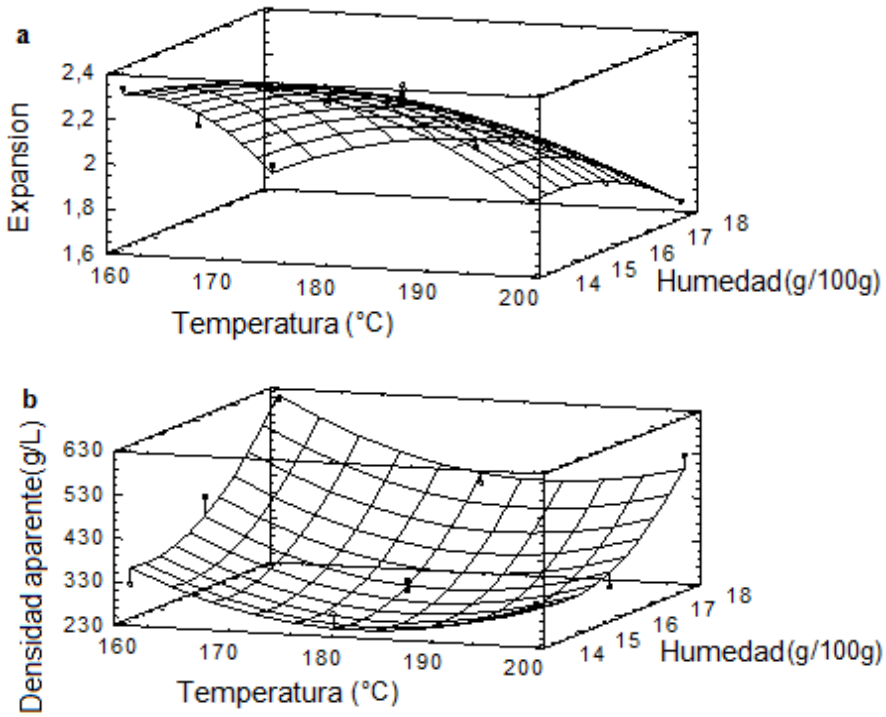


Figura 1. Superficie de respuesta para el efecto de la temperatura y la humedad en: (**a**) la expansión **(E)** y (**b**) la densidad aparente **(DA)** de los productos extrudidos.

Esta relación inversa entre E y H podría deberse a una reducción de la elasticidad del producto al salir por la boquilla (González et al. 2013), la cual depende notablemente del nivel de humedad de la mezcla (Draganovic et al. 2011). Estos resultados concuerdan con los reportados por González et al. (2002), Pérez et al. (2008), Hagenimana et al. (2006) y Llopart et al. (2014), quienes trabajaron con extrudidos de sémola de maíz, mezcla sémola de maíz-harina de soja, harina de arroz y grano entero de sorgo rojo, respectivamente. Resulta oportuno destacar que este parámetro fisicoquímico es de suma importancia en la piscicultura dado que afecta la densidad, fragilidad y dureza del producto obtenido (Rosentrater et al. 2009).
Para el caso de DA, todos los términos a excepción TxH fueron significativos ($p < 0,05$). El menor valor de

DA se obtuvo experimentalmente a 180 ºC y 16 g/100g de humedad (**Tabla 1**), prediciendo el modelo un mínimo a 182,8ºC y 15,8 g/100g de humedad (**Figura 1b**). Además, se observó una relación inversa entre DA y E, lo que concuerda con lo reportado por De Cruz et al. (2015), quienes observaron que a medida que la temperatura de la boquilla aumentaba de 125ºC a 170ºC, la DA disminuía. En el presente trabajo se halló la misma tendencia hasta los 182,8 ºC, que puede deberse al incremento del grado de cocción con el aumento de T (González et al. 2013). A valores superiores a 182,8ºC se aprecia un incremento de DA, el cual estaría asociado con una disminución de la viscosidad en la última sección del tornillo. Esta reducción de la viscosidad, producto de la elevada T, favorecería una disminución en el nivel de fricción que se traduce en un menor grado de cocción (González et al. 2014). Cabe señalar que el volumen específico (inversa de la DA), está directamente relacionado con el grado de cocción y es considerado un indicador de dicho parámetro (Llopart et al. 2014, González et al. 2002).

La AA aumentó con T hasta ~180ºC y disminuyó con H, para todo el rango estudiado. Sólo el término lineal de H y el cuadrático de T fueron significativos ($p < 0,05$), observándose un máximo en la superficie de respuesta a 183,4ºC y 14,0 g/100g de humedad (**Figura 2a**). Al igual que para la AA, la S estuvo inversamente relacionada con H (**Figura 2b**), siendo este efecto más importante a bajas T. Esta relación inversa de AA y S con H también fue observada por Llopart et al. (2014), quienes atribuyeron este comportamiento al efecto térmico y mecánico sobre el producto durante la extrusión. Los autores indicaron que a bajos niveles de H el efecto mecánico sería el más importante (mayor fricción), mientras que a elevados niveles de H predominaría el efecto térmico sobre la muestra, lo que otorgaría distintas propiedades de AA y S a los productos obtenidos.

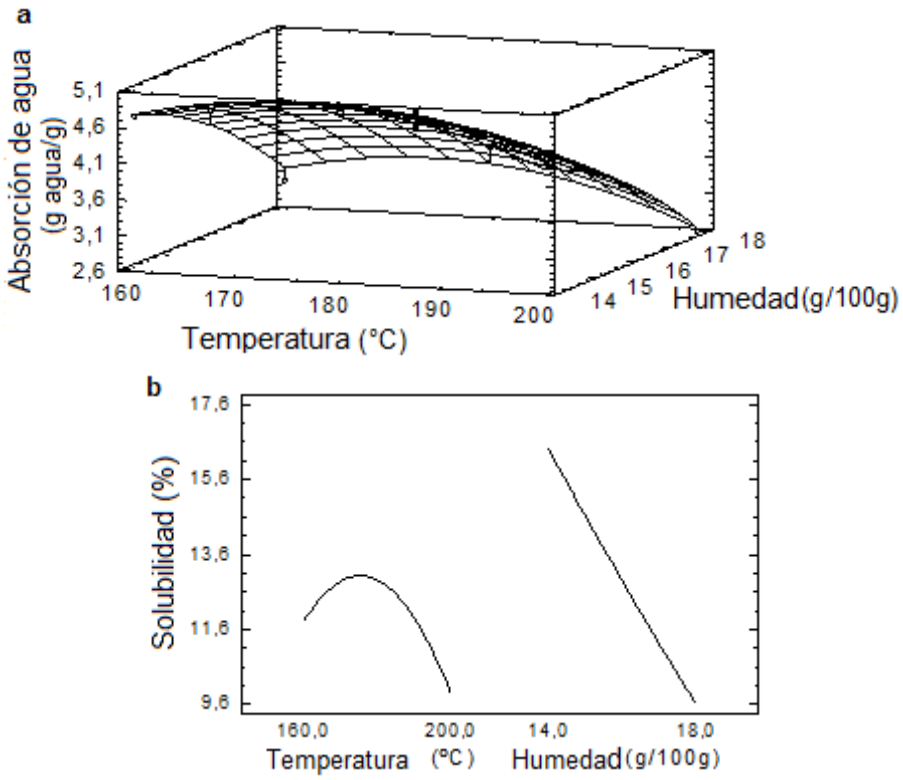


Figura 2. Superficie de respuesta para el efecto de la temperatura y la humedad en: (**a**) la absorción de agua (AA) y (b) efectos principales de la temperatura y la humedad en la solubilidad **(S)** de los productos extrudidos.

Para el caso de F, todos los términos, excepto TxH, fueron significativos ($p < 0,05$). El mayor valor de F se obtuvo experimentalmente a 180ºC y 16 g/100g de humedad (**Tabla 1**), mientras que el modelo de superficie de respuesta predijo un máximo a 182,8ºC y 15,8 g/100g de humedad (**Figura 3**), el cual coincide con el mínimo hallado para DA (**Figura 1b**). Al respecto, se obtuvo una relación inversa entre ambos parámetros fisicoquímicos, siendo el coeficiente de correlación: $\mathbf{r^2 = 0,9883}$. Esto concuerda con lo reportado por Sørensen (2012) para distintos productos extrudidos destinados a piscicultura.

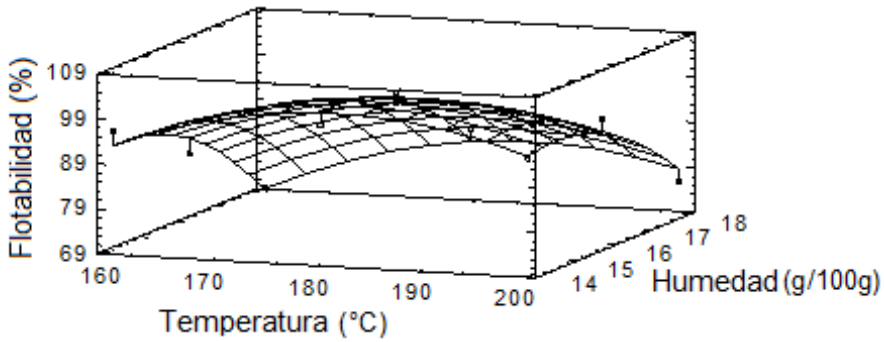


Figura 3. Superficie de respuesta para el efecto de la temperatura y la humedad en la flotabilidad de los productos extrudidos.

Optimización del proceso de extrusión

Como se mencionó anteriormente, tanto E como DA son factores muy importantes para los alimentos extrudidos destinados a piscicultura dado que determinan la flotabilidad del producto (Chevanan et al. 2009). Otro factor determinante es la estabilidad del producto en medio acuoso, es decir su capacidad para absorber agua y su solubilidad, ya que valores elevados de dichos parámetros conducen a una excesiva lixiviación de nutrientes a causa de la desintegración de alimento (Bandyopadhyay y Rout 2001), lo que afecta notablemente la durabilidad del producto en medio acuoso y su calidad nutricional (Sørensen et al., 2012). Por este motivo, se decidió optimizar las variables del proceso de extrusión a fin de obtener una condición que permitiera obtener un producto con máxima E y F, y mínima DA y S. La misma fue 181,5ºC y 15,8 g/100g de humedad, siendo el valor de deseabilidad global alcanzado: 0,8805.

La **Tabla 3** muestra los valores de E, DA, S y F predichos por el modelo polinomial de segundo orden y los obtenidos experimentalmente bajo las condiciones óptimas de extrusión. Como se puede apreciar no hubo diferencias significativas entre los valores de E, DA, S y F y los predichos por el modelo ($p > 0,05$), lo que indica un adecuado ajuste.

Tabla 3: Valores predichos y experimentales de Expansión (E), densidad aparente (DA), solubilidad (S) y flotabilidad (F) obtenidos a 181,5ºC y 15,8 g/100g de humedad.

Respuestas	Valores predichos	Valores experimentales
Expansion	2,21	2,23 ± 0,03
Densidad aparente (g/L)	262,7	270,9 ± 13,8
Solubilidad (%)	13,1	12,9 ± 1,5
Flotabilidad (%)	99,9	99,0 ± 1,0

Valores predichos obtenidos con la ecuación polinomial de segundo orden y los coeficientes de regresión correspondientes. Valores experimentales: X ± DE.

CONCLUSIONES

El presente estudio ha documentado por primera vez el efecto simultáneo de la humedad y la temperatura de extrusión sobre propiedades fisicoquímicas de los productos extrudidos destinados a piscicultura (expansión, densidad aparente, absorción de agua, solubilidad y flotabilidad). Además, se ha optimizado el proceso de extrusión con el fin de obtener un producto con muy buenas propiedades fisicoquímicas formulado principalmente con proteínas de origen vegetal y sin la adición harina de pescado. Los resultados obtenidos indican que es posible desarrollar alimentos para peces a base de harinas proteicas vegetales con muy buenas propiedades fisicoquímicas para piscicultura, empleando para ello un extrusor monotornillo.

BIBLIOGRAFÍA

Aarseth KA, Sørensen M, Storebakken T. 2006. Effects of red yeast inclusions in diets for salmonids and extrusion temperature on pellet tensile strength: Weibull analysis. Animal Feed Science and Technology, 126:75–91.

Aas TS, Oehme M, Sørensen M, He G, Lygren I, Ásgárd T. 2011. Analysis of pellet degradation of extruded high energy fish feeds with different physical quality in a pneumatic feeding system. Aquacultural Engineering. 44:25–34.

Abimorad EG, Favero GC, Castellani D, Garcia F, Carneiro DJ. 2009. Dietary supplementation of lysine and/or methionine on performance, nitrogen retention and excretion in pacu *Piaractus mesopotamicus* reared in cages. Aquaculture, 295:266–270.

Bandyopadhyay S, Rout RK. 2001. Aquafeed extrudate flow rate and pellet characteristics from low-cost single-screw extruder. Journal of Aquatic Food Product Technology, 10:3–15.

Bicudo AJA, Sado RY, Cyrino JEP. 2009. Dietary lysine requirement of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Aquaculture, 297:151-156.

Bransden MP, Carter CG, Nowak BF. 2001. Effects of dietary protein source on growth, immune function, blood chemistry and disease resistance of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) parr. Animal Science, 73:105–113.

Chevanan N, Muthukumarappan K, Rosentrater KA. 2009. Extrusion studies of Aquacultulture feed using distillers dried grains with solubles and whey. Food Bioprocess Technology, 2:177–185.

De Cruz CR, Kamarudina MS, Saada CR. 2015. Effects of extruder die temperature on the physical properties of extruded fish pellets containing taro and broken rice starch. Animal Feed Science and Technology, 199:137–145.

Derringer G, Suich J. 1980. Simultaneous optimization of several response variables. Journal of Quality Technology, 12:214–219.

Draganovic V, Van der Goot AJ, Boom R, Jonkers J. 2011. Assessment of the effects of fish meal, wheat gluten, soy protein concentrate and feed moisture on extruder system parameters and the technical quality of fish feed. Animal Feed Science and Technology, 165:238–250.

González RJ, Torres RL, De Greef DM. 2002. Extrusión cocción de cereales. Food Science and Technology, 36: 83–136.

González RJ, Pastor Cavada E, Vioque Peña J, Torres RL, De Greef DM, Drago SR. 2013. Extrusion conditions and amylose content affect physicochemical properties of extrudates obtained from brown rice grains. International Journal of Food Science Article ID 584148, 8 pages.

González RJ, Drago SR, Torres RL, De Greef DM. 2014. Extrusion Cooking of Cereal Based Products. Engineering Aspects of Cereal and Cereal-Based Products, chapter 12, pag. Ed. R. de Pinho Ferreira Guine, P.M. dos Reis Correia (Portugal). ISBN 9781439887028.

Hagenimana A, Ding X, Fang T. 2006. Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. Journal of Cereal Science, 43:38–46

Honorato CA, Almeida LC, Da Silva Nunes C, Carneiro D J, Moraes G. 2010. Effects of diets with distinct levels of carbohydrates and lipids: the outcomes on growth of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Aquaculture Nutrition, 19:91–99.

Llopart EE, Drago SR, De Greef DM, Torres RL, González RJ. 2014. Effects of extrusion conditions on physical and nutritional properties of extruded whole grain red sorghum (sorghum spp). International Jorunal of Food Science and Nutrition, 65:34-41.

Pantoja JO, Sánchez SM, Hoyos JL. 2011. Obtención de un alimento extruido para tilapia roja (*Oreochromis spp*) utilizando ensilaje biológico de pescado. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial, 9:178-187.

Perez A, Drago SR, Carrara C, De Greef DM, Torres RL, González RJ. 2008. Extrusion cooking of a maize-soybean mixture: Factors affecting expanded product characteristics and flour dispersion viscosity. Jorunal of Food Engineering, 87:333–340.

Rosentrater KA, Muthukumarappan K, Kannadhason S. 2009. Effects of ingredients and extrusion

parameters on aquafeeds containing DDGS and potato starch. Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition, 1:22–38.
Sørensen M. 2012. A review of the effects of ingredient composition and processing conditions on the physical qualities of extruded high-energy fish feed as measured by prevailing methods. Aquaculture Nutrition, 18:233–248.
Torstensen BE, Espe M, Sanden M, Stubhaug I, Waagbo R, Hemre GI, Fontanillas R, Nordgarden U, Hevroy EM, Olsvik P, Berntssen MHG. 2008. Novel production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein based on combined replacement of fish meal and fish oil with plant meal and vegetable oil blends. Aquaculture, 285:193–200.

AGRADECIMIENTOS
Financiado por PICT-2013-1804.

Efecto del proceso de elaboración de chuño sobre las propiedades reológicas y texturales del almidón de papa andina

Cruz Ortiz G.O[1], Gulotta C.[1], Ferrero C.[2], Iturriaga L.B.[1]

1 Centro de Investigación y Transferencia de Santiago del Estero (CITSE) – CONICET-UNSE. E-mail: gonzalocortiz@gmail.com
2 Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) – CCT-CONICET-LA PLATA – La Plata (1900), Argentina.
gonzalocortiz@gmail.com

RESUMEN

Se evaluaron posibles cambios en propiedades reológicas y texturales de geles de almidón debidos al proceso de elaboración de chuño. Se seleccionó para su elaboración la variedad local "Rosadita" (*Solanum tuberosum* ssp Andigenum). Una vez obtenido el chuño en laboratorio se extrajo el almidón de papa andina al inicio del proceso (R), de chuño congelado a -5°C (RCh-5) y a -18°C (RCh-18), y de chuño elaborado en campo (RCh). Los resultados mostraron que el módulo de almacenamiento G' fue menor en geles de R respecto de geles de RCh, RCh-5 y RCh-18. Los valores encontrados de tan δ indican un comportamiento fuertemente elástico. Los parámetros del análisis de perfil de textura mostraron que la dureza (HA) de los geles de almidones de chuño RCh-5 y RCh-18, fue mayor que la correspondiente a R. No se observaron diferencias en la cohesividad (CO), mientras que la adhesividad (AD) de los geles de RCh-5 fue mayor que la de los de R. Las propiedades de pasteo mostraron que la temperatura de pasting (PT) de R fue menor que RCh, RCh-5 y RCh-18. Asimismo la ruptura (BD) de los almidones de chuño fue menor que el de R, lo que sugiere que estos almidones son más resistentes a la ruptura por cizallamiento durante la gelatinización.

Palabras Clave: Chuño, Almidón, Reología, TPA, RVA.

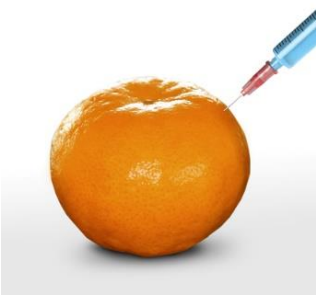
ABSTRACT

In order to assess possible changes in the rheological and textural properties of chuño starch gels. Andean potatoes landraces called Rosadita (Solanum tuberosum ssp Andigenum) has been selected to make Chuño. Two frozen temperature were chosen (-5 and -18°C). Potato starch at the beginning of process (R), frozen potato at -5°C (RCh-5) and frozen potato at -18°C (RCh-18) were isolated. Chuño starch produced in the field (RCh) was also isolated. The storage modulus G' of RCh, RCh-5 y RCh-18 gels were higher to R gels. The values of Tan δ indicate a strong elastic behavior. Texture Profile Analyzer parameters like hardness (HA), cohesiveness (CO) and adhesiveness (AD) were assessed. Starch Gels RCh-5 and RCh-18, were significantly harder than R. No significant differences were observed in the cohesiveness. The adhesiveness (AD) of RCh, RCh-5 and RCh-18 were higher than those of R. Pasting properties showed that pasting temperature (PT) of R was lower than RCh, RCh-5 and RCh-18. Likewise the breakdown (BD) of chuño starches (RCh, RCh-5 y RCh-18) was lower than R, suggesting that these starches are more resistant to breaking by shearing during gelatinization. Finally the rheological and texture properties exhibited changes as a result of process of make Chuño. On the other hand Chuño starches presented more elastics and harder gels than fresh potato starch.

Keywords: Chuño, Starch, Rheology, TPA, RVA.

INTRODUCCIÓN

Las poblaciones establecidas en la región Andina desarrollaron tecnologías de procesamiento basadas en la congelación y deshidratación de las papas para elaborar "chuño", un producto seco y nutritivo que puede ser



almacenado por tiempos prolongados para luego emplearse como ingrediente en comidas típicas de la región (Hurtado 2000). El secado por congelación se produce en la naturaleza a través de los efectos combinados de calentamiento solar, vientos fríos y secos, y la atmósfera enrarecida de las regiones montañosas. Dichas tecnologías se hallan vigentes, gracias a la continua práctica de los agricultores andinos, en la elaboración de productos tales como la tunta o moraya y el chuño, entre otros, que son alimentos de alto consumo y con importancia comercial en toda la región andina (Fonseca 2003). El chuño blanco, también conocido comúnmente como moraya o tunta en las lenguas quechua y aymara, respectivamente (Yamamoto 1988, Gianella 2004) con frecuencia se comercializa en los mercados, mientras que el uso de chuño negro se limita generalmente al consumo en el hogar (de Haan et al. 2010).

El proceso de elaboración del chuño se inicia con una selección de los tubérculos aptos a la cual le siguen tres fases ejecutadas en diferentes tiempos, éstas son congelación, remojado y secado. La fecha para su elaboración comprende desde mediados del mes de junio hasta finales de julio, en donde se presenta la época de mayor intensidad e incidencia de las heladas, cuyo efecto determina el tiempo y la calidad del producto (Fonseca et al. 2007). Dependiendo del proceso seguido y de los cultivares utilizados, se reconocen dos tipos de chuño: blanco y negro (Condori Cruz 1992). El procesamiento de chuño blanco implica la exposición prolongada de los tubérculos en agua corriente con el fin de reducir el contenido de glicoalcaloides presentes en las especies de papas amargas que se utilizan con frecuencia para su elaboración (*Solanum ajanhuiri*, *S. juzepczukii* y *S. curtilobum*). Los tubérculos frescos de estas papas amargas contienen a menudo diversas agliconas: dehydrotomatidina, tomatidina, demissidina y/o solanidina (Johns 1985, Väänänen 2007). Por otra parte el procesamiento del chuño negro, que puede o no incluir la etapa de lavado, además de las etapas de tendido, pisado, congelado y secado, emplea otros cultivares seleccionados pertenecientes a otras especies tales como *Solanum tuberosum* ssp. Andígena y *Solanum stenostonum* (Burgos et al. 2009).

El objetivo del presente trabajo consistió en desarrollar un proceso en laboratorio que simule las etapas de elaboración de Chuño y evaluar los cambios en las propiedades reológicas y texturales de los almidones debido al proceso de elaboración. Se utilizó una variedad local de papas andinas (*Solanum tuberosum* ssp andigenum) llamada Rosadita. Una vez obtenido el chuño se extrajo el almidón para estudiar sus propiedades y compararlas con las observadas en el almidón extraído de la papa fresca.

MATERIALES Y MÉTODOS

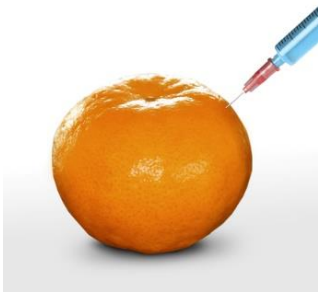
Materiales

Se utilizó una variedad local de papa andina (*Solanum tuberosum* ssp Andigenum, cosecha 2014) llamada "Rosadita" proveniente de la localidad de Chorrillos (2997 m.s.n.m.), Humahuaca, provincia de Jujuy, Argentina. Se utilizó como control almidón de papa S-4551 (SIGMA-ALDRICH® Co).

Elaboración de chuño

El proceso de elaboración del chuño en campo y en laboratorio se esquematiza en las **figuras 1** y **2** respectivamente.

La elaboración en campo (**figura 1**) se llevó a cabo en la localidad de Chorrillos, Humahuaca (23°07'29"S; 65°21'45"W), la cual se encuentra a una altura de 2997 m.s.n.m. Durante el periodo de elaboración se registraron, en Chorrillos, temperaturas mínimas de -10°C y máximas de 18°C.



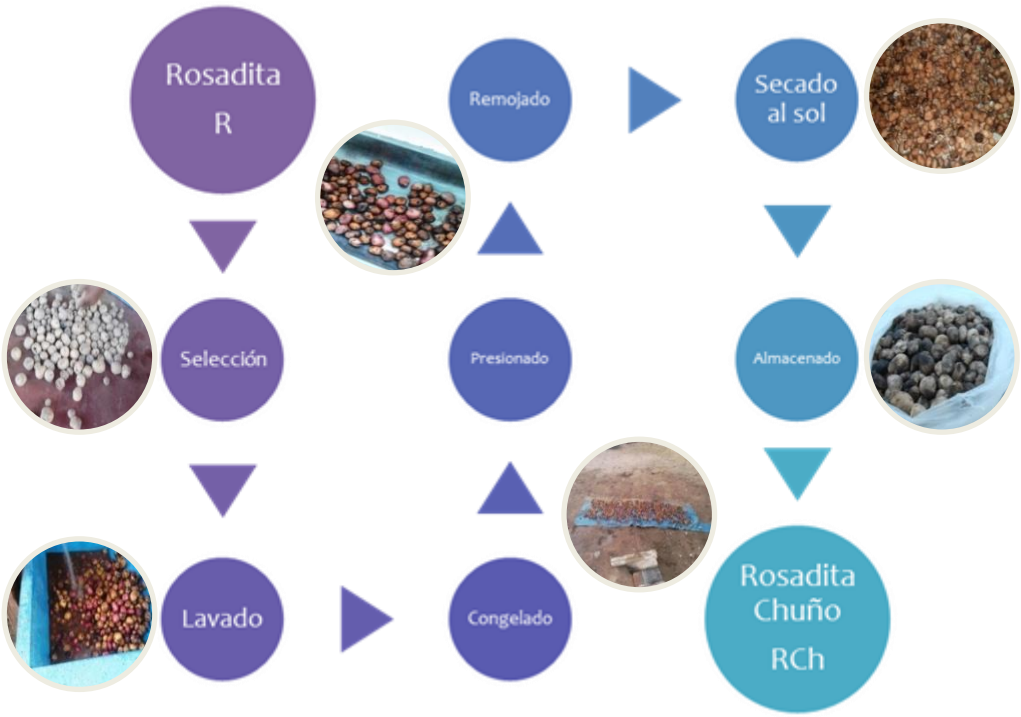


Figura 1. Elaboración de chuño en campo.

Para su elaboración a la intemperie se elige un lugar plano, con concentración de aire helado, cercano a la vivienda. Durante las últimas horas de la tarde, se lleva a cabo el tendido de las papas remojadas sobre la superficie sin que se agrupen unas con otras. Después de 2-3 noches de fuertes heladas se considera que las papas están completamente congeladas. Si la helada es intensa, las papas al día siguiente estarán como piedras, perdiendo al descongelarse la turgencia. Si por el contrario las papas no han perdido turgencia, se amontonaran antes del alba, cubriéndolas de la luz del sol. Las papas deberán permanecer cubiertas hasta que el sol se ponga, cuando se repite el proceso. A continuación las papas congeladas se frotan entre sí para separar la cáscara.

Durante el procesado la estructura celular se destruye en los ciclos de congelación y descongelación (temperaturas bajo cero durante la noche y templadas durante día), lo cual permite la eliminación de la mayor parte de agua por prensado mecánico. La evaporación del agua remanente es posible a bajas temperaturas debido a la baja humedad relativa (30-40%) (Peñarrieta et al. 2011). Una vez prensados los tubérculos se los lleva a remojo en un recipiente conteniendo agua limpia por lo menos 2 días, cambiando el agua de remojo 2 veces por día. El secado dura aproximadamente entre 2 y 3 días bajo el sol. Una vez seco el chuño se eliminan los restos de cascara adheridos. La óptima deshidratación le permite almacenar el chuño durante más de 3 años sin sufrir modificaciones significativas en su calidad.

También se diseñó un proceso de elaboración de chuño a escala de laboratorio, el cual consistió en elaborar dos lotes de Chuño que, durante la etapa de congelación, se expusieron a distintas temperaturas (-5°C y -18°C) (**figura 2**).

Figura 2. Elaboración de chuño en laboratorio.

Como se observa en la **figura 2**, al inicio del proceso se seleccionaron papas andinas sanas y de tamaño pequeño, las cuales se lavaron con agua potable para remover restos de tierra. A continuación, las papas fueron congeladas a -5°C y -18°C durante 48 h. Finalizada esta etapa, las papas congeladas quedan como rocas perdiendo al descongelarse su turgencia, luego las papas congeladas se pelaron por fricción entre sí mismas, simultáneamente se extrae el agua por presión. Las papas peladas se remojaron en solución 20mM de bisulfito de sodio + 10mM de ácido cítrico para evitar su pardeamiento. Finalmente las papas se escurren en un recipiente de acero inoxidable y se secan 3 días at 40°C en estufa convencional en presencia de silica gel para mantener condiciones de sequedad.

Extracción de almidón

Una vez obtenido el chuño se extrajo el almidón según el método descripto en la **figura 3** (Djabali et al. 2009, Lu et al. 2012).

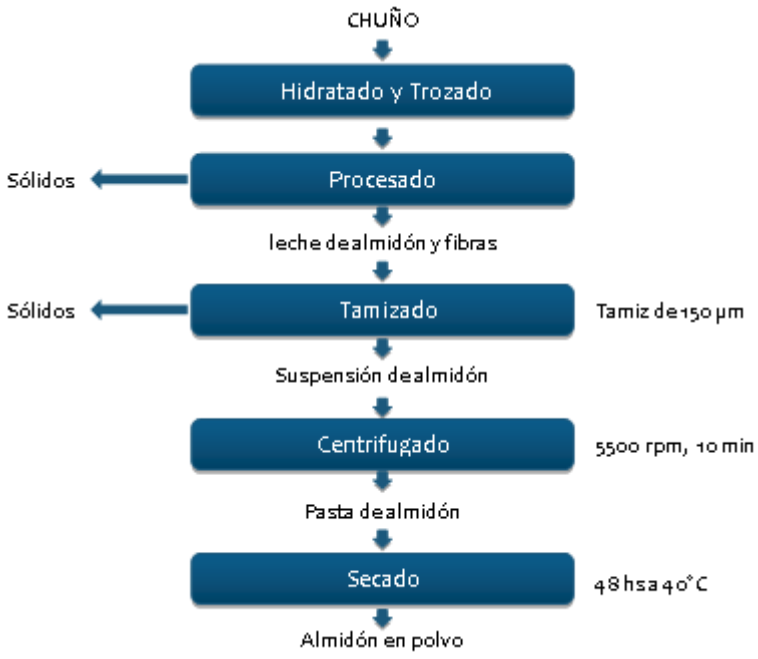


Figura 3. Extracción de almidón.

Propiedades reológicas

Las propiedades reológicas fueron determinadas con un reómetro AR 1000 (TA Instruments-Waters LLC, New Castle, DE, EE.UU.) a 25°C. Los datos fueron analizados por el software Rheology Advantage Data Analysis V5.2.18 (TA Instruments Ltd-Waters LLC, New Castle, DE, EE.UU.). Se prepararon suspensiones de almidón: agua al 5% p/p y geles al 10 % p/p calentadas en baño de agua en ebullición durante 5 min y equilibradas 2 horas a 25°C.

Para determinar parámetros reológicos dinámicos tales como el módulo de almacenamiento (G'), módulo de perdida (G") y la tangente del ángulo de desfasaje (tan δ), la cual es proporcional a la (energía disipada/ energía almacenada) por ciclo tan δ = G''/ G', en geles al 10% p/p se utilizó una geometría plato-plato (40 mm diámetro y gap de 1000 µm). Se llevaron a cabo Barridos de esfuerzo de 0,01 a 100 Pa a una frecuencia de 1 Hz para encontrar el rango de viscoelasticidad lineal (RVL) y barridos de frecuencia de 10 a 0,1 Hz a un esfuerzo constante de 1 Pa (dentro del RVL).

Para los ensayos de flujo se utilizó una geometría cono-plato (40 mm de diámetro y 2°0'36" de ángulo de truncación). La geometría fue acelerada uniformemente de 0 a 300 s^{-1} en 3 min y mantenida a una velocidad de cizalla de 300 s^{-1} durante 2 min. Luego de la etapa de mantenimiento, la velocidad de cizalla se desacelera uniformemente en 3 min. Las curvas de flujo se modelaron usando el modelo de ley de potencia (ecuación 1) aplicándolo en el segmento descendente.

$$\tau = K * \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Donde K es el coeficiente de consistencia (Pa.s) y n es el índice de comportamiento de flujo (adimensional). τ es el esfuerzo cortante (*shear stress*) y $\dot{\gamma}$ la velocidad de corte o cizalla (*shear rate*).

Para evaluar el perfil de viscosidad aparente de las suspensiones de almidón en función del tiempo y la temperatura se utilizó un equipo RVA (Rapid Visco Analyzer) RVA 450 (Perten Instrument AB, Hägersten, Suecia). Se pesaron 2,00 ± 0,01 g de almidón de papa (14% humedad) en un canister de aluminio al que se le agregaron 25 mL de agua destilada, con lo que se obtuvo una concentración de 6,37% p/p. Se aplicó un método RVA para almidón de papas (RVA Potato Starch Pasting Method 7.04), el cual consiste en una agitación automática a 960 rpm durante 10 segundos seguido de una reducción de la velocidad hasta 160 rpm. La temperatura de la muestra se equilibró 1 minuto a 50°C, luego se calentó a 95°C durante 2 minutos

42 segundos, se mantuvo a 95°C por 2 minutos 30 segundos, se enfrió hasta 50°C en 3 minutos 48 segundos y finalmente se estabilizó a 50°C durante 2 minutos. Se registró en el tiempo los valores de viscosidad y temperatura. Los datos obtenidos se analizaron empleando el software Thermocline for Windows suministrado por el fabricante del equipo, y se obtiene de los Viscogramas los siguientes parámetros: Temperatura de pasteo (PT), viscosidad de pico (PV), viscosidad final (FV), ruptura (breakdown-BD) y caída (setback-SB) (Batey y Bason 2007).

Análisis de perfil de textura

Los parámetros texturales de geles de almidón al 10% p/p se determinaron usando un analizador de textura TA.XT Plus (Stable Micro System Ltd., Godalming, UK) acoplado a un cilindro de medición de 20 mm de diámetro. Las muestras se dejaron reposar por 24 h a 25°C y se sometieron a dos ciclos de compresión bajo los siguientes parámetros de operación: velocidad de pre ensayo = 2 mm s^{-1}, velocidad de ensayo = 1 mm s^{-1}, velocidad de post ensayo = 2 mm s^{-1} y la deformación de 30%. Se determinaron parámetros texturales, tales como firmeza (HA), cohesividad (CO) y adhesividad (AD).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de 3 ensayos fueron tratados estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA),las medias se compararon mediante la prueba de Diferencia Limite Significativa (LSD) de Fisher con un nivel de significación de 0,05 utilizando el software estadístico Infostat (Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina) (Di Rienzo et al. 2012). Todas las mediciones se llevaron a cabo por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades reológicas

Las propiedades dinámicas de geles al 10% p/p se muestran en la **Tabla 1**. Se observa que el módulo de almacenamiento G' es significativamente menor en geles de R respecto de geles de RCh, RCh-5 y RCh-18. No se observa diferencia significativa en G' entre RCh y RCh-5. Sin embargo se evidencia diferencia significativa de R con respecto a RCh-18. Considerando G", se observa que los valores de RCh, RCh-5 y RCh-18 son significativamente mayores que R. El parámetro que relaciona la viscosidad y el comportamiento elástico es tan δ, el cual fue menor que 0,1 para todas las muestras excepto el Control (0,202). El mayor valor de tan δ fue para los almidones de R y RCh-5 (ambos 0,053) y los más bajos para RCh y RCh-18 (ambos 0,038). Estos resultados describen un comportamiento elástico dado que G' fue mayor que G" en el rango de frecuencia aplicada. Los valores de tan δ indican que los sistemas son capaces de almacenar la energía dinámica aplicada, las muestras forman geles fuertes a la concentración estudiada excepto la muestra Control. En cuanto a las propiedades de flujo, los valores de K y n correspondiente a suspensiones acuosas de almidón gelatinizado al 5% p/p se incluyen en la **Tabla 1**. Se aplicó el modelo de ley de potencia para obtener K y n sobre la curva inferior después de haber eliminado el comportamiento dependiente del tiempo. Los resultados obtenidos indican que valores de n fueron inferiores a 1 para todas las muestras exhibiendo un comportamiento pseudoplástico. El valor de K es ligeramente mayor en R que en RCh, a su vez el valor de K en R es el doble que en RCh-5 y RCh-18.

Tabla 1. Propiedades reológicas dinámicas [1] de geles 10% p/p y propiedades de flujo en suspensiones al 5% p/p.

Muestra	G' (Pa)	G'' (Pa)	Tan δ	K (Pa.s)	n
R	1051,0 ± 99,2 [b]	55,5 ± 3,7 [b]	0,053 ± 0,002 [b]	8,4 ± 0,3 [b]	0,498 ± 0,010 [a]
Rch	1607,8 ± 237,0 [c]	60,8 ± 8,6 [bc]	0,038 ± 0,002 [a]	7,9 ± 0,4 [b]	0,541 ± 0,012 [b]
Rch-5	1761,4 ± 231,8 [c]	93,5 ± 15,3 [d]	0,053 ± 0,007 [b]	4,0 ± 0,3 [a]	0,573 ± 0,009 [b]
Rch-18	2071,5 ± 210,2 [d]	77,5 ± 13,2 [cd]	0,038 ± 0,006 [a]	4,2 ± 0,3 [a]	0,547 ± 0,010 [b]
Control	170,1 ± 13,4 [a]	34,4 ± 1,8 [a]	0,202 ± 0,012 [c]	12,6 ± 0,4 [c]	0,554 ± 0,012 [b]

Valores dentro de cada columna con las mismas letras en superíndice no son significativamente diferentes ($p>0.05$).[1] Los valores medios de G', G" y Tan δ fueron tomados de reogramas a la frecuencia de 1 Hz.

Propiedades de pasteo

Los resultados del RVA se resumen en la Tabla 2 y en la **Figura 4**. La temperatura de pasteo (PT) presentó diferencias significativas de R con respecto a RCh, RCh-5 y RCh-18, el valor más bajo fue para el Control. Todas las muestras tuvieron menor PV y BD que el Control (PV = 4895 cP y BD = 3132), lo que indica que las muestras tuvieron una mayor estabilidad con respecto al Control. Asimismo el BD de los chuños fue menor que el de R, lo que sugiere que estos almidones son más resistentes a la ruptura por cizallamiento durante la gelatinización. De la misma forma, todas las muestras mostraron una mayor FV que el almidón de Control (2050 cP). No se observa diferencia significativa en la FV de R con respecto a RCh y RCh-18, sin embargo hay diferencia de R con respecto a RCh-18.

Tabla 2. Parámetros de RVA de pastas de almidón de R, RCh, RCh-5 y RCh-18.

Muestra	PV (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	PT (°C)
R	1815 ± 20 [b]	207 ± 2 [c]	2981 ± 14 [b]	1373 ± 4 [cd]	71,1 ± 0,1 [b]
RCh	1711 ± 78 [ab]	24 ± 26 [a]	2924 ± 177 [b]	1237 ± 73 [c]	75,5 ± 0,5 [d]
RCh-5	1433 ± 129 [a]	40 ± 11 [a]	2285 ± 167 [a]	892 ± 102 [b]	81,3 ± 0,5 [e]
RCh-18	1783 ± 76 [b]	80 ± 1 [b]	3200 ± 255 [b]	1497 ± 125 [d]	72,6 ± 0,0 [c]
Control	4895 ± 81 [c]	3132 ± 75 [d]	2050 ± 20 [a]	287 ± 14 [a]	68,3 ± 0,3 [a]

Valores dentro de cada columna con las mismas letras en superíndice no son significativamente diferentes ($p>0.05$).

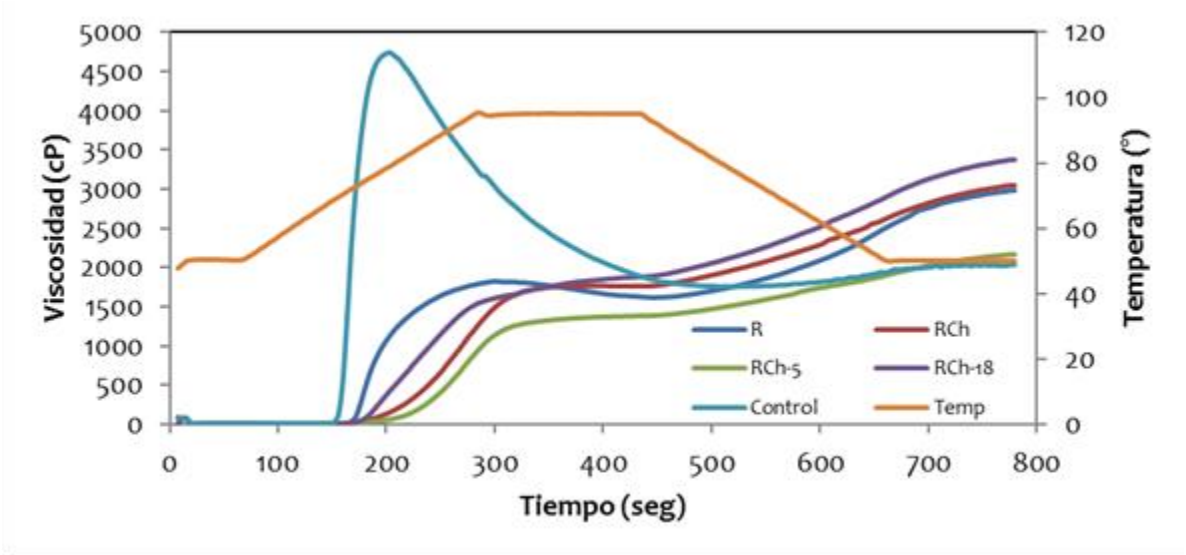


Figura 4. Perfil RVA de suspensiones de almidón al 6,25% p/p.

Análisis de perfil de textura

Los parámetros del Análisis de perfil de textura de los almidones de R, RCh, RCh-5 y RCh-18 se resumen en la **Tabla 3**. En ella se puede observar que los la dureza (HA) de los geles de almidones de chuño elaborado en laboratorio (RCh-5 y RCh-18) son significativamente mayores que R, a su vez el parámetro HA en RCh también es mayor que R pero la diferencia no es significativa. No se observan diferencias significativas en la cohesividad (CO), mientras en el parámetro adhesividad (AD) es significativamente mayor en RCh-5 con

respecto a R.

Tabla 3. Parámetros TPA de geles de almidón 10% p/p.

Muestra	HA (g)	CO	AD (g.s)
R	167,2 ± 24,8 [b]	0,93 ± 0,01 [b]	-57,8 ± 24,0 [b]
RCh	191,6 ± 11,5 [b]	0,95 ± 0,01 [b]	-82,2 ± 41,9 [ab]
RCh-5	292,3 ± 25,7 [c]	0,91 ± 0,06 [ab]	-119,4 ± 40,4 [a]
RCh-18	277,5 ± 39,7 [c]	0,95 ± 0,02 [b]	-52,7 ± 19,6 [b]
Control	46,2 ± 14,0 [a]	0,87 ± 0,04 [a]	-24,9 ± 22,1 [b]

Valores dentro de cada columna con las mismas letras en superíndice no son significativamente diferentes ($p>0.05$).

CONCLUSIONES

Los datos analizados evidencian diferencias significativas en las propiedades reológicas y de textura de los almidones provenientes de las muestras al inicio y al final del proceso de elaboración de chuño. Tales diferencias se podrían deber a la exposición a temperaturas bajas durante el congelamiento, al colapso de la estructura del tubérculo durante el tiempo de descongelado y pelado, y por ultimo durante la etapa de secado. Las principales diferencias se observaron en el coeficiente de consistencia K que es mayor en los almidones de papa fresca (más hinchados) que en los almidones de chuño. Por otra parte los almidones de chuño presentan geles más elásticos que los almidones de papa fresca.

BIBLIOGRAFÍA

Batey IL, Bason ML. 2007. Definitions. En: Crosbie GB, Ross AS, editores. The RVA Handbook. St. Paul, Minnesota: AACC International, pag. 138-140.

Burgos G et al. 2009. Protein, iron, zinc and calcium concentrations of potatoes following traditional processing as “chuño.” Journal of Food Composition and Analysis, 22: 617-619.

Condori Cruz, D. 1992. Tecnología del chuño. Boletín del IDEA 42: 70-97.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L et al. 2012. InfoStat. Available at: http://www.infostat.com.ar.

Djabali D et al. 2009. Relationship between potato starch isolation methods and kinetic parameters of hydrolysis by free and immobilised a-amylase on alginate (from Laminaria digitata algae). Journal of Food Composition and Analysis, 22: 563-570.

Fonseca C, Huarachi E, Chura W, Cotrado G. 2007. Guía de BPM producción de Tunta. Puno, Perú: Centro Internacional de la Papa.

Gianella T. 2004. Chuño blanco, “tunta” o “moraya”: un proceso natural de conservación. LEISA Revista de Agroecología, 20: 29-31.

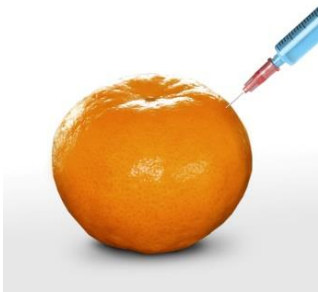
de Haan S et al. 2010. Traditional Processing of Black and White Chuño in the Peruvian Andes: Regional Variants and Effect on the Mineral Content of Native Potato Cultivars. Economic Botany, 64: 217-234.

Hurtado C. 2000. La Alimentación en el Tahuantinsuyo. Instituto de Cultura Alimentaria Andina, Editorial San Marcos.

Johns T. 1985. Chemical ecology of the Aymara of Western Bolivia: selection for glycoalkaloids in the Solanum × ajanhuiri complex. University of Michigan, Ann Arbor, MI.

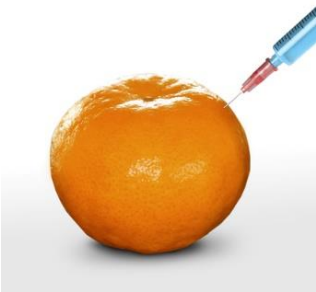
Lu ZH et al. 2012. The synergistic effects of amylose and phosphorus on rheological, thermal and nutritional properties of potato starch and gel. Food Chemistry, 133: 1214–1221.

Peñarrieta JM et al. 2011. Changes in phenolic antioxidants during chuño production (traditional Andean freeze and sun-dried potato). Journal of Food Composition and Analysis, 24: 580-587.



Väänänen T. 2007. Glycoalkaloid content and starch structure in Solanum species and interspecific somatic potato hybrids. University of Helsinki.
Yamamoto N. 1988. Potato Processing: Learning from a Traditional Andean System. En: The Social Sciences at CIP: Social Science Planning Conference, Lima, Peru (7–10 September 1987). Lima, Perú: International Potato Center (CIP). pag 160-172.

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen la colaboración del Dr. Pablo Daniel Ribotta y al lnstituto Superior de Investigación, Desarrollo y Servicio de Alimentos por la colaboración en los ensayos de pasting.



Extracción de aceite de girasol alto esteárico alto oleico (aeao): efecto del descascarado y tratamiento hidrotérmico

de Figueiredo A.K.[(1)], Fernández M.B.[(1,2)], Nolasco S.M.[(1,3)]

(1) Núcleo de Investigación TECSE. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Av. del Valle 5737, Olavarría, Buenos Aires, Argentina.
(2) CIFICEN (Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires-CONICET-CICPBA)
(3) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata (Argentina)
kdfiguer@fio.unicen.edu.ar

RESUMEN

En el presente trabajo se analiza el efecto del pretratamiento hidrotérmico en la extracción por solvente de aceite y de compuestos minoritarios (tocoferoles) de granos de girasol alto esteárico alto oleico, AEAO, descascarados y sin descascarar. El estudio se llevó a cabo empleando muestras de girasol de diferentes orígenes y contenido de aceite (Alto aceite, AA-43,0% base seca, b.s y Bajo aceite, BA-35,1% b.s.). Las muestras de granos parcialmente descascaradas así como también muestras sin descascarar fueron molidas y sometidas luego a tratamiento hidrotérmico (vapor de agua a 100-110°C, 15 min de exposición). En todas las muestras de girasol BA, tanto las parcialmente descascaradas como aquellas sin descascarar, no se encontró efecto significativo del pretratamiento hidrotérmico sobre el rendimiento de extracción de aceite. Contrariamente, para los granos de girasol AA se evidenciaron incrementos significativos ($p < 0,05$) en los rendimientos de extracción de aceite debido al pretratamiento hidrotérmico. Para ambos tipos de girasol AEAO se evidenció un incremento significativo en el contenido de tocoferoles de los aceites extraídos a partir de muestras parcialmente descascaradas y sometidas luego a tratamiento hidrotérmico con respecto a las muestras parcialmente descascaradas-sin tratar.

Palabras clave: girasol alto esteárico alto oleico, tratamiento hidrotérmico, descascarado de granos.

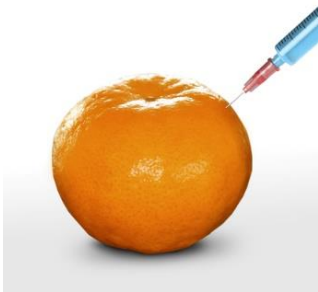
ABSTRACT

The effect of hydrothermal pretreatment previous to solvent extraction of oil and minor compounds (tocopherols) from high-stearic high-oleic (HSHO) sunflower grains was analyzed. The result of performing a combined dehulling-hydrothermal pretreatment was also evaluated. The study was carried out using samples from different origin and oil content (High oil, HO-43.0% dry basis, d.b. and Low oil, LO- 35.1% d.b.). The partially dehulled grain samples as well as whole grains (without dehulling) were ground and then subjected to hydrothermal treatment (water steam at 100-110°C, 15 min exposure). For all samples of LO sunflower, both partially dehulled as those unhulled, no significant effect of hydrothermal pretreatment on performance of oil extraction was found. Conversely, for HO sunflower grains significant increases ($p < 0.05$) in the oil extraction yields were found due to the hydrothermal pretreatment. For both types of sunflower HSHO it was evidenced a significant increase in tocopherol content in the oils extracted from grains partially dehulled and then subjected to hydrothermal treatment with respect to the samples partially dehulled without hydrothermal treatment.

Keywords: high stearic high oleic sunflower; hydrothermal treatment, dehulling of grains.

INTRODUCCIÓN

La extracción de aceite mediante solvente requiere una minuciosa preparación del material de alimentación para lograr una elevada eficiencia del proceso, tales como limpieza, secado, crackeo, descascarado,



acondicionamiento y prensado previo.
La transferencia de masa durante la extracción puede favorecerse mediante operaciones como molienda y descascarado previo al proceso. Por otro lado, la estructura del lecho de extracción debe ser poroso y lo más homogénea posible. Sin embargo, grandes partículas resultan en elevadas fracciones de huecos, pero al mismo tiempo la transferencia de masa desde el interior de las partículas al seno del disolvente es más lento. Consecuentemente, una reducción apropiada del tamaño de partículas conjuntamente con un descascarado parcial de los granos para obtener una porosidad adecuada para el lecho de extracción de aceite, resultan etapas relevantes dado que influyen directamente en la eficiencia del proceso de extracción (Eggers and Jaeger 2003). El aceite de granos oleaginosos se encuentra dentro de pequeños orgánulos intracelulares discretos (cuerpos lipídicos) cuyas paredes son esencialmente no-permeables. Los cuerpos lipídicos de granos oleaginosos tales como el girasol varían en tamaño desde 0,1 a 2,5 μm y están formados de un núcleo central de lípidos neutros (94-98% p/p) rodeado por una monocapa de fosfolípidos (0.5-2% p/p) y una capa fuertemente anfifílica de proteínas, oleosina y caleosin (0.5-3.5% p/p, Fisk et al. 2006).Los pretratamientos aplicados a granos oleaginosos en general modifican o rompen la estructura celular permitiendo la liberación del aceite y facilitando la penetración del disolvente en las células. La extracción de aceite es un proceso complejo debido a las características de la estructura celular del vegetal ya que junto con los triglicéridos también son extraídos los componentes minoritarios (Bockris 1998). El aceite de semillas oleaginosas se encuentra dentro de membranas formando una emulsión y es necesario romper la estructura celular para permitir que se libere y sea más accesible para el solvente, facilitando también la extracción de componentes bioactivos. Los tratamientos previos aplicados a granos en general influyen sobre la cantidad y el tipo de compuestos menores que se obtienen en la extracción. El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de la aplicación de pretratamiento hidrotérmico en la extracción por solvente de aceite y de compuestos minoritarios (tocoferoles) de granos de girasol alto esteárico alto oleico, AEAO, descascarados y sin descascarar.

MATERIALES Y MÉTODOS

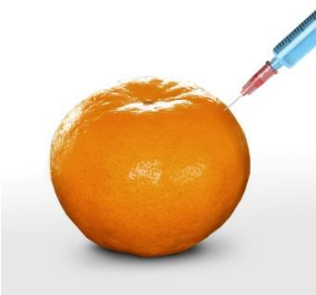
Caracterización de la muestra

En los ensayos se emplearon dos muestras de girasol AEAO de diferentes orígenes y contenido de aceite. El material vegetal de mayor contenido de aceite proviene de ensayos efectuados en el Laboratorio de Fisiología Vegetal, UNMdP-CONICET, mientras que el de menor contenido lipídico fue aportado por la empresa Advanta Semillas SAIC, Mar del Plata, Argentina.Se efectuó la limpieza manual de las muestras y se refrigeraron hasta su utilización. Las muestras se caracterizaron mediante técnicas estandarizadas, determinándose: contenido de humedad (ASAE S352.2 DEC 1999), lípidos (IUPAC 1.122 1992), proteína (AOCS Ai 4-91 1997), fibra detergente neutra (FDN), y fibra detergente ácida (FDA).

Descascarado parcial de los granos

Los granos fueron descascarados parcialmente bajo las condiciones de operación óptimas determinadas para granos de girasol AEAO (humedad del grano: 8,3% base seca, b.s., y velocidad de impacto en el equipo descascarador: 39,1 m/s, de Figueiredo et al. 2015). Los granos se llevaron al contenido de humedad apropiado para el descascarado secando los mismos en una estufa a 35-40°C, o bien, rociándolos con una cantidad de agua destilada pre-calculada. Para el descascarado parcial de los granos se empleó un equipo piloto basado en un proceso centrífugo de ruptura de cáscara por impacto. El mismo cuenta con variador de frecuencia para ajustar la velocidad del rotor (rpm). El producto resultante del descascarado se pasó por un tamiz ASTM N°10 con el fin de eliminar los finos (partículas menores de 2 mm). Posteriormente, previa separación manual de la cáscara, la muestra de granos parcialmente descascarados (constituida por los granos descascarados, parcialmente descascarados y no descascarados) se empleó para efectuar las corridas experimentales de extracción por solvente. El porcentaje de cáscara de las muestras se determinó a partir del descascarado manual de 10 gramos de granos. Cada parte se llevó a estufa de circulación forzada, (3 horas, 130°C) y la relación se expresó como porcentaje en peso seco (%.b.s.).

Pretratamientos hidrotérmicos



Las muestra de granos parcialmente descascaradas de cada ensayo de descascarado así como también muestras sin descascarar fueron molidas empleando un molinillo de cuchilla horizontal (Moulinex, Argentina) y posteriormente se dispusieron en bandejas con base mallada para garantizar una buena circulación del vapor. Para someter las muestras al vapor de agua se empleó un autoclave con fondo cribado. Los pretratamientos hidrotérmicos se llevaron a cabo bajo las condiciones óptimas establecidas para granos de girasol molidos (100-110°C, 15 min de exposición, Burnet et al. 2010). Luego de la exposición al vapor, las muestras fueron secadas a 25°C en un secadero túnel de circulación forzada hasta llegar a una humedad de 6,5-7,4% en base seca (b.s.).

Microscopía de barrido electrónico (SEM)

Con el objetivo de registrar cambios en las estructuras celulares luego del pretratamiento, las muestras fueron observadas tomando imágenes mediante Microscopía de Barrido Electrónico (SEM, por sus siglas en inglés) a presión variable. Las muestras molidas se colocaron dentro de la cámara del equipo de SEM LEO EVO 40-XVP (Inglaterra) y se observaron en modo presión variable a 15 kV. La presión de la cámara varió de 40 a 70 Pa según necesidad.

Medidas de rendimiento y calidad del aceite

Para la determinación del rendimiento de aceite se siguió el método estándar (Soxhlet, n-hexano) correspondiente a la norma IUPAC 1.122 (IUPAC 1992). Tanto las muestras tratadas como las muestras sin tratar fueron sometidas a molienda previo a la extracción del aceite con hexano. El aceite se analizó en función del valor de acidez libre (IUPAC 2.201 1992) y del índice de peróxidos (AOCS Cd 8 1997). Además, la concentración de tocoferoles en el aceite se cuantificó según la metodología AOCS Ce 8-89 (AOCS 1997, utilizándose un equipo Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Germany) con detector de fluorescencia (Agilent, 1100 Series Fluorescence Detector G1321A, Palo Alto, CA, USA) con un set de excitación/emisión de 290/330 nm, con una columna HicCHROM, Lichrosorb Si 60, 250x4,6 mm i.d. 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. A los fines de detectar diferencias significativas entre corridas experimentales se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) en conjunto con el Test de Tukey, considerándose que las medias eran significativamente diferentes si $p \leq 0,05$ (Infostat 2004). Los ensayos se realizaron al menos por duplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Tabla 1** se muestra la caracterización de ambas muestras de girasol alto esteárico alto oleico, AEAO. Del análisis estadístico se desprende que las muestras de granos de girasol AEAO presentan diferencias significativas tanto en el contenido de humedad inicial de los granos, como en el contenido de aceite, proteínas, así como también en los valores de fibras. El porcentaje de proteínas correspondiente a las muestras de girasol resultaron del mismo orden a los reportados para variedades de girasol aceitero tradicional (Perez et al. 2013, Burnet et al. 2010).

Tabla 1. Composición química de los granos de girasol AEAO.

Determinación (%, b.s.)	Girasol Alto Aceite (AA)	Girasol Bajo Aceite (BA)
Humedad	$7,53 \pm 0,04^{a}$	$8,74 \pm 0,04^{b}$
Aceite	$43,00 \pm 0,25^{a}$	$34,30 \pm 0,66^{b}$
Proteínas	$20,72 \pm 0,82^{a}$	$15,67 \pm 0,42^{b}$
FDN	$25,82 \pm 1,21^{a}$	$32,56 \pm 0,93^{b}$
FDA	$17,64 \pm 0,28^{a}$	$23,37 \pm 0,14^{b}$

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas (Test de Tukey, $p \leq 0,05$). AA: girasol alto aceite, BA: girasol bajo aceite

En la **Tabla 2** se presenta el rendimiento de aceite de las muestras sin tratar de alto aceite (AA) y bajo aceite (BA) efectuando la extracción tanto a partir de los granos enteros (AA-ST y BA-ST, respectivamente) como a partir de granos parcialmente descascarados (DAA-ST y DBA-ST, respectivamente). A modo de comparación, en la misma tabla se muestran los rendimientos de dichas muestras sometidas previamente a tratamiento hidrotérmico (HT). En todas las muestras de girasol BA, tanto las parcialmente descascaradas como aquellas sin descascarar, no se encontró efecto significativo del pretratamiento hidrotérmico sobre el rendimiento de extracción de aceite. Contrariamente, en las muestras de girasol AA se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los rendimientos de extracción entre muestras sin tratamiento hidrotérmico (ST) y pretratadas (HT). Cuando los granos no fueron descascarados previamente se obtuvo un incremento de tan sólo un punto de aceite en las muestras pretratadas (AA-HT) en comparación con las

muestras sin tratar (AA-ST). Sin embargo, el descascarado parcial de los granos previo al tratamiento hidrotérmico permitió aumentar el efecto del pretratamiento, detectándose un incremento en aproximadamente tres puntos del porcentaje de aceite extraído.

Tabla 2. Rendimiento de extracción de aceite en granos de girasol AEAO parcialmente descascarados (12,11% de cáscara residual para AA y 16,75% para BA) y enteros.

Muestras sin tratar	Aceite extraído (%, d.b.)	Muestras tratadas	Aceite extraído (%, d.b.)
AA-ST	43,00 ± 0,25[a]	AA-HT	44,03 ± 0,52[b]
DAA-ST	45,68 ± 0,02[a]	DAA-HT	48,61 ± 0,05[b]
BA-ST	34,30 ± 0,66[a]	BA-HT	33,77 ± 0,12[a]
DBA-ST	40,58 ± 0,57[a]	DBA-HT	40,84 ± 0,71[a]

Letras distintas indican diferencias significativas en la misma línea (Test de Tukey, p≤0,05); AA: girasol alto aceite, BA: girasol bajo aceite, ST: sin tratamiento hidrotérmico; HT: pretratadas hidrotérmicamente; DAA: girasol AA parcialmente descascarado; DBA: girasol BA parcialmente descascarado.

En la **Figura 1** se muestran las imágenes de Microscopía de Barrido Electrónico (SEM) correspondientes a muestras de girasol AEAO descascaradas parcialmente y molidas. En **a** y **c** (muestras sin tratamiento hidrotérmico) es posible observar la presencia de cuerpos lipídicos intracelulares como pequeños orgánulos de forma esférica (Nikiforidis et al. 2013, Huang 1992). Por otra parte, la **figura d** (DAA-HT) revela la ausencia total de estos orgánulos, mientras que en **b** (DBA-HT) es posible detectar cuerpos lipídicos aunque en proporción considerablemente menor en comparación con la **Fig.1. a** (DBA-ST), debido a la ruptura de la estructura vegetal (células) como consecuencia del tratamiento hidrotérmico.

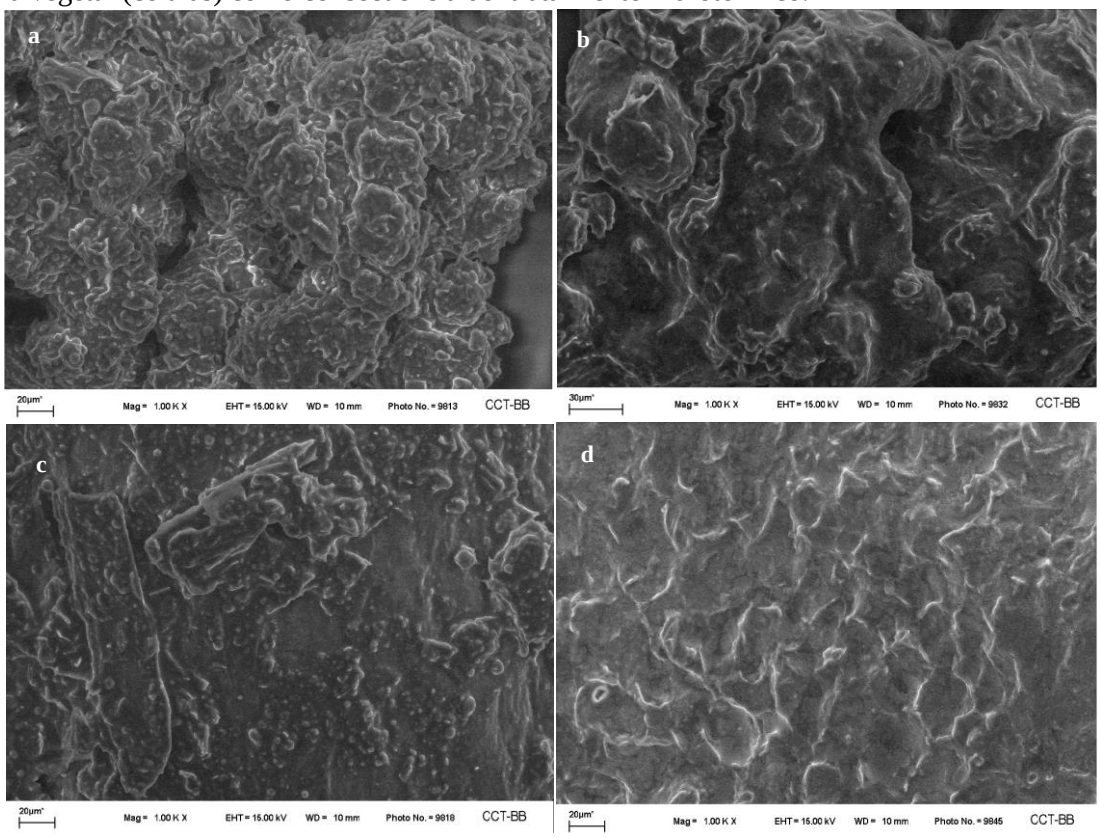


Fig.1. Imágenes SEM de granos de girasol AEAO molidos. a: granos parcialmente descascarados de girasol BA sin tratamiento hidrotérmico (DBA-ST); b: granos parcialmente descascarados de girasol BA pretratado

hidrotérmicamente (DBA-HT); c: granos parcialmente descascarados de girasol AA sin tratamiento hidrotérmico (DAA-ST); d: granos parcialmente descascarados de girasol AA pretratado hidrotérmicamente (DAA-HT).

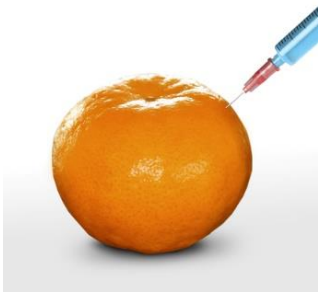
Cabe destacar que aunque se presentan las imágenes de las muestras parcialmente descascaradas, las correspondientes imágenes sin descascarar evidencian el mismo comportamiento, es decir, permiten ver la presencia de cuerpos lipídicos en las estructuras sin tratamiento previo y una gran disminución o ausencia de los mismos debido a la liberación del aceite por ruptura celular en las muestras pretratadas hidrotérmicamente. La relación entre el contenido de lípidos y proteínas proporciona una idea aproximada del tamaño de los cuerpos lipídicos (Perez et al. 2013). Si bien el contenido de aceite y proteínas del girasol AA resultaron significativamente mayores que los correspondientes al girasol BA (**Tabla 1**), las muestras de girasol presentaron una relación lípido/proteína de 2,1 y 2,2, respectivamente por lo que no se diferenciarían en el tamaño de las estructuras de reserva de lípidos. La muestra de girasol AEAO de bajo contenido de aceite (BA) exhibió valores de FDN y FDA significativamente mayores que los correspondientes al girasol AA (**Tabla1**). La FDA cuantifica la cantidad de celulosa y lignina, mientras que los valores de FDN se asocian a la proporción de pared celular presente. Ambos parámetros se asocian a una mayor dificultad para la liberación del aceite en el girasol BA. Luego del pretratamiento hidrotérmico, los granos de girasol BA exhiben aún cuerpos lipídicos sin ruptura (**Fig. 1.b**). Contrariamente, los granos de girasol AA mostraron una estructura celular más degradada por efectos de dicho pretratamiento, en donde es posible observar claramente la ausencia de estructuras de reservas de lípidos (**Fig. 1.d**). Consecuentemente, el tratamiento hidrotérmico lograría una mayor degradación celular en las muestras de girasol AA, con ruptura de cuerpos lipídicos y una mayor liberación del aceite. Asimismo, el contenido de fibra se relaciona directamente con el porcentaje de cáscara presente en los granos. En este sentido, los resultados de fibra se corresponden con un mayor porcentaje de cáscara en el girasol BA con respecto al girasol AA (32,55 ± 1,38; 23,87 ± 0,66% b.s., respectivamente).

En la **Tabla 3** se presentan los valores del contenido se tocoferoles totales de las muestras ensayadas. El contenido de tocoferoles totales para ambas muestras de girasol AEAO sin tratamiento hidrotérmico varió entre 1214,58 y 1307,99 μg/g, valores que se encuentran en el extremo más elevado del rango reportado en la literatura (Nolasco et al. 2004, Velasco et al. 2002). Para ambas muestras de girasol parcialmente descascaradas y sometidas luego a tratamiento hidrotérmico (DAA-HT y DBA-HT) se evidenció un incremento significativo ($p \leq 0,05$) en el contenido de tocoferoles de los aceites extraídos con respecto a las correspondientes muestras descascaradas y sin tratamiento con vapor (DAA-ST y DBA-ST). Fiska et al. (2006) efectuaron estudios que demuestran que los tocoferoles de granos oleaginosos están intrínsecamente enlazados a las estructuras de los cuerpos lipídicos. Asimismo, el aislamiento de estos últimos ofrecería una nueva ruta para la extracción de tocoferoles. El incremento significativo en la extracción de tocoferoles en las muestras parcialmente descascaradas y sometidas luego a pretratamiento hidrotérmico en comparación con las muestras parcialmente descascaradas y sin tratar se podría atribuir entonces a la ruptura de los cuerpos lipídicos como consecuencia del pretratamiento, lo cual facilita no sólo la liberación del aceite sino también de los tocoferoles unidos directamente a las estructuras de los mismos.

Tabla 3. Contenido total de tocoferoles en muestras de girasol AEAO parcialmente desacascaradas y sin descascarar.

Muestras sin tratar	Tocoferoles totales (μg/g)	Muestras tratadas	Tocoferoles totales (μg/g)
AA-ST	1217,15 ± 16,15[a]	AA-HT	1193,57 ± 7,97[a]
DAA-ST	1214,58 ± 8,63[a]	DAA-HT	1324,80 ± 12,17[b]
BA-ST	1307,99 ± 13,36[a]	BA-HT	1310,68 ± 4,99[a]
DBA-ST	1250,66 ± 8,99[a]	DBA-HT	1368,97 ± 11,81[b]

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas (Test de Tukey, $p \leq 0,05$); AA: girasol alto



aceite, BA: girasol bajo aceite, ST: sin tratamiento hidrotérmico; HT: pretratadas hidrotérmicamente; DAA: girasol AA parcialmente descascarado; DBA: girasol BA parcialmente descascarado.

En la **Tabla 4** se indican los valores de acidez libre (% ácido oleico) e índice de peróxidos (meq O_2/kg) correspondientes a los aceites de girasol AEAO. Para ambos tipos de girasol (AA y BA) y para todas las muestras estudiadas (descascaradas parcialmente y sin descascarar) no se detectaron diferencias significativas en los valores de acidez libre entre muestras tratadas hidrotérmicamente y sin tratar. Con respecto al índice de peróxidos, únicamente se encontraron diferencias significativas entre los aceites correspondientes al girasol AA extraídos a partir de granos enteros (no descascarados parcialmente), siendo significativamente superiores los valores correspondientes a las muestras tratadas hidrotérmicamente en comparación con las muestras sin tratar.

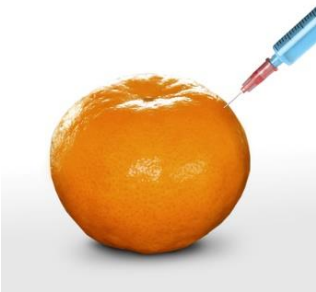


Tabla 4. Parámetros de calidad de los aceites de girasol AEAO.

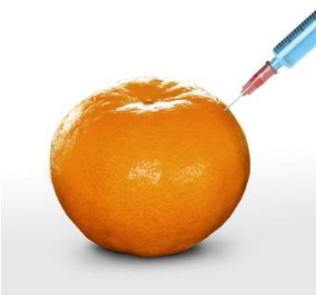
Muestra	Índice de Peróxidos (meq O_2/kg)	Acidez libre (% ácido oleico)
AA-ST	0,99 ± 0,10[a]	0,64 ± 0,05[a]
AA-HT	3,00 ± 0,19[b]	0,68 ± 0,05[a]
DAA-ST	0,77± 0,02[a]	0,54 ± 0,05[a]
DAA-HT	0,75± 0,01[a]	0,63 ± 0,05[a]
BA-ST	0,68 ± 0,07	1,11 ± 0,06[a]
BA-HT	No se detecta	1,15 ± 0,21[a]
DBA-ST	1,47 ± 0,21	1,18 ± 0,01[a]
DBA-HT	No se detecta	1,22 ± 0,01[a]

Letras distintas indican diferencias significativas (Test de Tukey, p≤ 0,05); AA: girasol alto aceite, BA: girasol bajo aceite, ST: sin tratamiento hidrotérmico; HT: pretratadas hidrotérmicamente; DAA: girasol AA parcialmente descascarado; DBA: girasol BA parcialmente descascarado.

Todos los aceites extraídos presentaron un valor de acidez libre inferior al 2%, valor fijado por las Bases de Comercialización de Argentina, que establecen un índice de acidez máximo de 1,5% para granos comercializados desde el momento de cosecha hasta el 31 de Agosto siguiente y tolera hasta 2% para frutos comercializados luego de esa fecha (SENASA 1994). Sin embargo, dichos valores resultaron superiores al 0,54 % (expresada en ácido oleico), lo cual requerirían de un refinado previo para ser considerado aceite comestible (límite máximo de acidez libre de 0,30% como ácido oleico, Código Alimentario Argentino 2008). Por el contrario, en todos los casos el índice de peróxidos fue inferior al límite máximo permitido por el Código Alimentario Argentino para aceite refinados (10,0 miliequivalentes de O_2/kg aceite).

CONCLUSIONES

En todas las muestras de girasol AEAO de bajo contenido de aceite (BA), tanto las parcialmente descascaradas como aquellas sin descascarar, no se encontró efecto significativo del pretratamiento hidrotérmico sobre el rendimiento de extracción de aceite. Contrariamente, en las muestras de girasol AEAO de alto contenido de aceite (AA) los rendimientos de extracción de aceite resultaron significativamente superiores para las muestras pretratadas (HT) en comparación con las muestras sin tratamiento hidrotérmico (ST), siendo mayor el efecto en las muestras parcialmente descascaradas (desde 45,7% b.s. hasta 48,7% b.s.). Considerando la base de comercialización para granos de girasol que contempla un contenido lipídico de 42% b.s., un incremento de tres puntos en el rendimiento de aceite como resultado de efectuar un pretratamiento combinado descascarado-hidrotérmico resulta en un beneficio interesante que debería evaluarse en la industria aceitera. Los granos de girasol AEAO de bajo contenido de aceite (BA) exhibieron valores de FDN y FDA significativamente mayores que los correspondientes al girasol AA, parámetros que se asocian a una mayor dificultad para la liberación del aceite en el girasol BA. Para ambos tipos de girasol AEAO se evidenció un incremento significativo en el contenido de tocoferoles de los aceites extraídos a partir de muestras parcialmente descascaradas y sometidas luego a tratamiento hidrotérmico con respecto a las muestras parcialmente descascaradas-sin tratar. Este incremento se podría atribuir a la ruptura de los cuerpos lipídicos como consecuencia del pretratamiento lo cual facilita no sólo la liberación del aceite sino también de los tocoferoles unidos directamente a las estructuras de los mismos. El presente trabajo pone de manifiesto las ventajas inherentes de efectuar un pretratamiento combinado descascarado-hidrotérmico en granos de girasol AEAO, el cual podría resultar en un doble beneficio para la industria al lograr incrementar tanto el rendimiento de aceite extraído, como en el contenido de compuestos minoritarios (tocoferoles) los que constituyen un aspecto deseable de calidad del aceite.



BIBLIOGRAFÍA

AOCS. 1997. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, 5th edn., D. Firestone (ed), AOCS Press, Champaign.

ASAE. 1999. Standard Engineering Practices data, 46 th edn. Publ by American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, USA.

Bockisch, M. 1998. Extraction of Vegetable Oils. En: Fats and Oils Handbook, AOCS Press, Champaign, Illinois. pag. 345-445.

Burnet MA, Fernández MB, Nolasco SM, Crapiste GH, Pérez EE. 2010. Efecto de pretratamientos hidrotérmicos en granos de híbridos de girasol. Actas del VI Congreso Argentino de Ingeniería Química Aportes de la Ingeniería Química a los desafíos y oportunidades del siglo XXI. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. CD: 15 págs. ISSN: 1850-3519.

Código Alimentario Argentino. 2008. Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos y Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. www.anmat.gov.ar/codigoa/Capitulo_VII.pdf (acceso 20/10/2016).

de Figueiredo AK, Rodríguez LM, Fernández M, Riccobene IC, Nolasco SM. 2015. Loss of lipid material during the dehulling of oilseeds with different structural characteristics. Journal of Food Science and Technology, 52: 7934-7943.

Eggers R and Jaeger PT. 2003. Extraction Systems. En: Tzia C and Liadakis G editors. Extraction Optimization in Food Engineering. Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A. pag 110-151.

Fiska ID, Whitea DA, Carvalhob A, Graya DA. 2006. Tocopherol-An Intrinsic Component of Sunflower Seed Oil Bodies. Journal of the American Oil Chemists' Society, 83:341-344.

Huang, A.H.C. 1992. Oil Bodies and Oleosins in Seeds. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43:177-200.

Infostat. 2004. Grupo Infostat. Universidad Nacional de Córdoba: Facultad de Ciencias Agropecuarias.

IUPAC. 1992. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, 7th edn., edited by C. Paquot and A. Hautfenne, International Union of Pure and Applied Chemistry, Blackwell Scientific, Oxford.

Nikiforidis CV, V. Kiosseoglou V, Scholten E. 2013. Oil bodies: An insight on their microstructure- maize germ vs sunflower seed. Food Research International, 52: 136-141.

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 Chemists' Society, 81: 1045-1051.

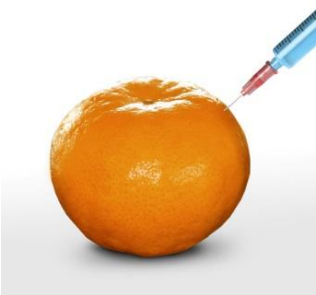
Perez EE, Fernández MB, Nolasco SM, Crapiste GH. 2013. Effect of pectinase on the oil solvent extraction from different genotypes of sunflower (Helianthus annuus L.). Journal of Food Engineering, 117: 393-398.

SENASA - Res. 1075 / 94, NORMA IX: GIRASOL. Norma de Calidad para ser Aplicada en la Comercialización del Girasol Mercado Interno, Exportación e Importación. http://www.cosechaypostcosecha.org/data/postcosecha/basesComercializacion/basesComercializacionGirasob.asp (acceso 26/10/2016).

Velasco L, Fernández-Martínez JM, García-Ruíz R, Domínguez J. 2002. Genetic and environmental variation for tocopherol content and composition in sunflower commercial hybrids. Journal of Agricultural Science, 139: 425-429.

AGRADECIMIENTOS

Los autores 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 en forma especial a la empresa Advanta Semillas SAIC y al Laboratorio de Fisiología Vegetal (UNMdP-CONICET) por la provisión de los granos.



Caracterización de harinas obtenidas a partir de tubérculos de topinambur *(Helianthus tuberosus L.*)

Díaz A.[1], Dini C.[1], Comelli N.[2], Viña S. [1], García M.A.[1], Ponzi M.[2]

[1] CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos), Facultad Ciencias Exactas UNLP – CONICET La Plata - CICPBA, 47 y 116 S/Nº, La Plata (B1900AJJ), Buenos Aires, Argentina.
[2] FICA-UNSL-CONICET, INTEQUI CCT - CONICET – San Luis, Campus Universitario. Ruta 55 ext norte 5730. Villa Mercedes. San Luis, Argentina.
andree.diaz@hotmail.com

RESUMEN

Helianthus tuberosus L. (topinambur, *Jerusalem artichoke)* es una especie vegetal perteneciente a la Familia *Asteraceae*, que almacena inulina en sus órganos subterráneos (tubérculos). El objetivo del presente trabajo fue analizar la composición química de tubérculos y harinas de topinambur cultivados en la localidad de Villa Mercedes (San Luis, Argentina) con vistas al desarrollo de alimentos funcionales. Se cosecharon los tubérculos, se lavaron y una parte se maceró en una solución al 0,5% de ácido acético y láctico durante 48 horas (tubérculos tratados). Para la obtención de harina, tanto los tubérculos tratados como los controles se cortaron en rodajas, se secaron en estufa, se molieron y tamizaron, dando origen a las harinas de tubérculos HT y HC, repectivamente. La HT presentó un menor tenor de humedad (8,82 y 5,99%, respectivamente) y mayor contenido de cenizas totales que la HC (7,2 y 6,2%, respectivamente). No se observaron diferencias significativas (p>0,05) en los contenidos de fibra detergente ácido (4,4 y 4,7% para HC y HT, respectivamente), lípidos totales (0,6 y 0,8% para HC y HT, respectivamente) ni de inulina (10,9% y 12% para HC y HT, respectivamente) de las harinas de topinambur. El tratamiento afectó los parámetros de color de la harina, la que mostró un mayor grado de pardeamiento.

Palabras Clave: topinambur, harinas no tradicionales, composición química.

ABSTRACT

Helianthus tuberosus L. (topinambur, *Jerusalem artichoke)* is a plant species belonging to the *Asteraceae* family, which stores inulin in their underground organs (tubers). The aim of this work was to evaluate the chemical composition of topinambur tubers and flours grown in Villa Mercedes (San Luis, Argentina) for the development of functional food. Tubers were harvested, washed and a part of them was macerated in a 0.5% v/v acetic and lactic acid solution during 48 h (treated tubers). For flour obtaining, both treated and control tubers were cut into slices, dried in an oven, ground and sieved giving rise to non-treated tuber flour (CF, control flour) and treated tuber flour (TF, treated flour). TF showed lower humidity (8,82 and 5,99%, respectively) and higher total ash content than CF (7.2% and 6.2% respectively). There were no significant differences in the acid detergent fiber content (4.4% and 4.7% for CF and TF, respectively), total lipids (0.6 % and 0.8 %, for CF and TF, respectively) and the inulin content (10,9% and 12%for CF and TF, respectively)for the different topinambur flours. Conversely, color parameters were affected by the treatment which induced a higher development of browning.

Key words: Jerusalem artichoke, non-traditional flours, chemical composition.

INTRODUCCIÓN

El topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) es un cultivo herbáceo que pertenece a la familia de las Asteráceas. Se lo conoce vulgarmente como “papa chanchera” (Ibarguren et al 2013). Esta planta es originaria de América del Norte; su cultivo estaba difundido entre los aborígenes cuando los exploradores europeos llegaron a tal región. Rápidamente se introdujo en Europa y se difundió tanto para el consumo animal como

para el humano. Esta especie tiene cuatro usos principales: hortícola, forrajero, para la extracción de inulina y para la producción de etanol (Rébora 2008). Produce tallos subterráneos (tubérculos) que acumulan reservas en forma de fructanos y dentro de éstos, la inulina es el principal.

La inulina y fructooligosacáridos (FOS) están constituidos por moléculas de fructosa, siendo el término "fructanos" usado para denominar este tipo de compuestos. Se diferencian por el grado de polimerización, el que varía entre 2 y 60 para la inulina y entre 2 y 10 para los FOS (Watherhouse et al 1993). Están formados por una molécula de sacarosa a la que se unen sucesivas moléculas de fructosa por enlaces β 2→1 o β 2→6, resistentes a la hidrólisis de enzimas del tracto digestivo humano lo que posibilita que lleguen intactos al colon. De esta manera, este tipo de compuestos se comportan como fibra dietaria, y dentro de ésta, como fibra funcional (carbohidratos no digeribles aislados que presentan efectos fisiológicos beneficiosos en los seres humanos). Entre los efectos positivos para la salud, se destacan el aporte de fibra dietaria y la capacidad de actuar como prebióticos. Según Rao (1999), 4 g de inulina diarios son efectivos para incrementar el número de bacterias benéficas en el colon. Esto se ha demostrado *in vivo* mediante pruebas con voluntarios. La alimentación continuada con inulina de 9 a 15 g /día en tres dosis diarias produjo un aumento de 6 a 22% en la población de bifidobacterias, así como una disminución de *Escherichia coli* de 25 a 4% y de *Clostridium* de 1 a 0,2%. La población bacteriana se mantuvo constante, variando la correlación porcentual de las diferentes especies (Gil Hernández, 2010).

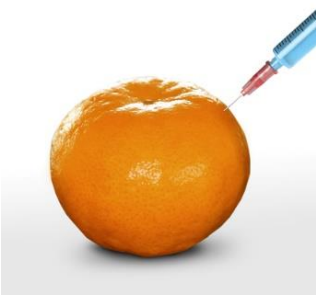
Otras propiedades interesantes se relacionan con el aporte energético reducido (1,5 kcal/g) y el efecto hipoglucemiante (Scollo et al 2011), que permitiría su consumo por parte de pacientes diabéticos. Asimismo, desde 1992 este tipo de fibra ha sido aceptada como ingrediente GRAS (generalmente reconocido como seguro) por la FDA, lo cual indica que puede usarse en formulaciones alimenticias, incluso en las destinadas a infantes (Coussement 1999).

El topinambur en sí mismo podría considerarse un alimento funcional debido a su alto contenido de inulina, que corresponde a 16-20% del peso fresco del tubérculo. El potencial de este cultivo como fuente de obtención de dicho carbohidrato es importante, por ser una de las especies vegetales con mayor proporción del mismo, asociado además al alto rendimiento por unidad de superficie (Rébora 2008). Su valor energético por hectárea es superior al del grano de maíz. Los rindes máximos de polisacáridos solubles en topinambur (inulina) son de 16 t/ha, mientras que en maíz (almidón) son de 12 t/ha (Scollo et al 2011).

En cuanto a condiciones de cultivo se menciona al topinambur como una especie rústica. Crece sin mayores problemas en suelos pobres (Kosaric et al 1984). Sin embargo, prospera mejor y se obtienen rendimientos superiores en suelos fértiles. Tiene potencial en la recuperación de tierras contaminadas por industrias, ya que sus raíces ayudan a degradar contaminantes orgánicos e inorgánicos (Santos 2015). Generalmente se sugiere plantar el topinambur en la primavera temprana (Duke 1983; Schultheis 1999). En nuestro país se menciona el período comprendido desde mediados de junio a fines de septiembre como apto para la implantación (Bauer Laso 1974). El topinambur es más resistente a la sequía que muchos otros cultivos, aunque hay dos períodos donde se presenta sensibilidad a estrés hídrico: la emergencia y el crecimiento de los tubérculos (Denoroy 1996). La sombra que produce el canopeo del topinambur dificulta el desarrollo de la mayoría de las malezas presentes en el cultivo. Asimismo, la incidencia de insectos también resulta reducida.

Ha sido indicado últimamente que existen pequeños productores de topinambur dispersos en distintas regiones de clima templado o templado-frío de nuestro país, como en las provincias de Córdoba, Mendoza, Río Negro, Chubut, Buenos Aires y San Luis (Rebora e Ibarguren, 2013). Sin embargo, resulta aún una especie poco estudiada localmente por lo que se hace necesaria su caracterización con el fin de proponer alternativas para su procesamiento, con vistas a su utilización en la industria alimentaria.

Dadas las potencialidades enumeradas para esta especie, se planteó como objetivo del presente trabajo analizar la composición química de tubérculos y harinas de topinambur cultivados en la localidad de Villa Mercedes (San Luis, Argentina), enfocado al desarrollo de alimentos funcionales elaborados con dichas materias primas.



MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El cultivo de topinambur fue conducido en la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la localidad de Villa Mercedes, San Luis. La plantación se realizó en el mes de septiembre de 2015 y la recolección se llevó a cabo en el mes de abril de 2016.

Según datos de la Red de Estaciones Meteorológicas para la provincia de San Luis, la precipitación acumulada fue de unos 650 mm durante el periodo indicado. Las temperaturas medias más bajas correspondieron al mes de septiembre de 2015 (12,6°C) mientras que las más elevadas se registraron en el mes de febrero de 2016 (23,4°C). Las temperaturas mínimas más bajas (-6,0°C) correspondieron al mes de septiembre.

Una vez cosechados los tubérculos se lavaron y se cepillaron manualmente hasta eliminación de los restos de tierra. Debido a que los tubérculos presentan rugosidad que dificulta el pelado, se los procesó con su cáscara. Una parte del material cosechado fue macerado en una solución de ácido acético y ácido láctico (ambos al 0,5%) durante 48 horas, con el objetivo de disminuir el sabor típico de la cáscara del producto (Scollo y col. 2011). El control correspondió a tubérculos que no recibieron ningún tratamiento luego del lavado.

Figura 1. Tubérculos de topinambur provenientes de Villa Mercedes, San Luis: a) material recién cosechado; b) tubérculos lavados.

Elaboración de harinas

Para la elaboración de las harinas de topinambur, los tubérculos enteros (controles y tratados),fueron cortados en rodajas de aproximadamente 2 mm de espesor y secados en estufa a 60°C hasta peso constante. Se procedió a la molienda usando una procesadora de uso doméstico y finalmente las harinas se tamizaron para obtener un tamaño de partícula más pequeño (<250 μm). A medida que transcurrió la molienda se fueron realizando tamizados para obtener una granulometría uniforme. Las muestras de harina sin tratar utilizadas como control (HC), y las tratadas (HT) fueron envasadas en bolsas de polietileno y guardadas en frascos herméticos para evitar su deterioro.

Composición de las harinas y tubérculos

Contenido de humedad

Se determinó el contenido de humedad residual, siguiendo el método de referencia (AOAC, 1990). Las muestras (5 g) fueron sometidas a deshidratación en estufa a 105°C hasta alcanzar peso constante. Los resultados finales se expresaron como porcentaje (%) en relación al peso inicial de la muestra.

Determinación de cenizas totales

Las muestras (3 g) se colocaron en crisoles tarados, previamente incinerados (900°C). Luego se carbonizaron a la llama de un mechero Bunsen. Posteriormente se llevaron a la mufla a 550°C hasta obtención de cenizas blancas, según el método de referencia (AOAC, 1990). Los crisoles conteniendo las cenizas se pesaron y por diferencia de pesada se calculó el % de cenizas totales.

Contenido de lípidos totales

Para la determinación del contenido de lípidos, se realizaron ciclos de extracción sucesiva utilizando n-hexano como solvente en un equipo Soxhlet. Se pesaron los balones al inicio y al final de la operación (luego

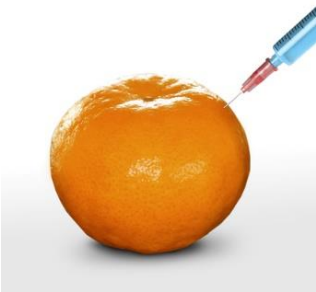
de la recuperación del solvente y posterior evaporación del mismo), determinando gravimétricamente el contenido de materia grasa total. Los resultados se expresaron como porcentaje (%).

Cuantificación del contenido de proteína total

Se determinó el contenido de proteína total de los tubérculos y harinas por el método Kjeldahl. Este método cuantifica el nitrógeno total, proveniente principalmente de las proteínas y otras fuentes de nitrógeno no proteico y, mediante el factor de conversión 6,25 en este caso, se estimó la cantidad de proteínas totales (proteína bruta) presentes en la muestra. Los resultados se expresaron como porcentaje (%).

Cuantificación de fibra detergente ácido

Esta determinación se realizó sobre las harinas de topinambur, siguiendo el método 973.18c (AOAC, 1990). Las muestras se trataron durante 1 hora a ebullición con una solución conteniendo bromuro de cetiltrimetilamonio en H_2SO_4 1N. El residuo obtenido luego de filtrar al vacío se cuantificó gravimétricamente. La fracción fibra detergente ácido (FDA) correspondería a los componentes menos digeribles de la muestra (celulosa y lignina, mayoritariamente). Los resultados finales se expresaron como porcentaje (%).



Estimación del contenido de inulina de las harinas

Se pesaron muestras de las harinas y se realizaron dos extracciones sucesivas con agua destilada (relación 1:10) a 90°C durante 40 min con agitación constante. Las condiciones de extracción fueron optimizadas en ensayos preliminares. Los extractos obtenidos se centrifugaron durante 20 minutos a temperatura ambiente conservando los sobrenadantes. De estos últimos se tomaron alícuotas de 50 mL a las cuales se les agregó 5 ml de acetato básico de plomo ($Pb(OH)CH_3COO$) 30%. Se mezcló, se dejó decantar y se eliminó el exceso de plomo soluble por agregado de 5 mL de sulfato de sodio (Na_2SO_4) al 30%. Esta etapa se realizó para eliminar las proteínas solubles que luego podrían interferir en la determinación espectrofotométrica.

Seguidamente, se tomaron dos alícuotas de cada extracto, a una de ellas se le agregó HCl 0,05 N y se la calentó a ebullición durante 40 min. Esta hidrólisis del extracto permite la determinación del contenido de fructosa total (FT) presente en la muestra. Sobre la otra alícuota, que no se sometió a hidrólisis, se determinó el contenido de fructosa libre (FL).

Para cuantificar el contenido de azúcares de estas fracciones se utilizó el método de Somogyi-Nelson. Éste consiste en la reducción del reactivo de cobre alcalino por parte de los azúcares reductores de la muestra, dando óxido cuproso, el cual en presencia del reactivo arsenomolíbdico forma un complejo de color azul estable que se mide espectrofotométricamente a 590 nm. El contenido de inulina (I) se determinó empleando la siguiente ecuación:

$$I = k\,(F_T - F_L) \quad (1)$$

Donde k es una constante de valor 0,995 indicada cuando se desconoce el grado de polimerización de la inulina (Steegmans 2004, citado por Saengkanuk 2011).

Dado que en la determinación del contenido de inulina por métodos espectrofotométricos la cuantificación del contenido de fructosa total es crítica, en un ensayo preliminar, se determinaron las condiciones óptimas de hidrólisis ácida. A tal fin se ensayaron diferentes concentraciones de HCl (0,005; 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 y 0,3 M) a un tiempo de hidrólisis de 40 min. Esto fue necesario ya que si las condiciones son muy débiles no se llegan a hidrolizar completamente los polímeros presentes y si las condiciones son muy drásticas los azúcares condensan haciendo que la determinación posterior también resulte por defecto. Así, se optimizó la condición de hidrólisis cuantificando a 590 nm los azúcares totales presentes.

Medidas de color de las harinas

Se caracterizó el color de las harinas de topinambur utilizando un colorímetro CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Japón). Los valores de la escala CIE empleada se expresaron en términos de luminosidad (L*), coordenada rojo-verde (valor a*), y coordenada amarillo-azul (valor b*).

Se calculó la diferencia total de color ($\triangle E$) de acuerdo a la siguiente expresión:

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

Donde los valores a0*, b0* y L0* son los parámetros del blanco de calibración (Y = 93.2, x = 0.3133 e y= 0.3192) que en la escala CIE corresponden a a_0^*= 0,11, b_0^*= 0,02 y L_0^*= 97,45.

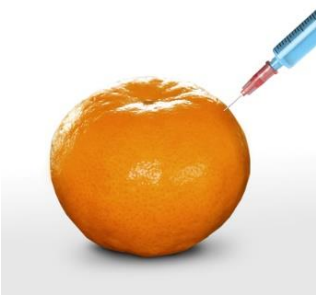
Análisis estadístico

Los valores informados para composición química se realizaron al menos por duplicado. Las mediciones de color comprendieron cinco determinaciones por cada tipo de harina. Los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación del 5% ($p<0,05$) seguido de un test de Fisher de comparación de medias ($p<0,05$). Para el análisis se utilizó el programa Infostat versión 2012 (Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición de las harinas y tubérculos

Como era de esperar, los tubérculos de topinambur son por su alto contenido de hidratos de carbono, un



producto de alto valor energético. Los valores obtenidos de humedad y minerales resultaron similares a los encontrados por Scollo y colaboradores (2011), si bien se registraron valores menores de materia grasa (0,12% vs 0,41%). En relación al contenido de proteínas, como se observa en la **Tabla 1**, el topinambur no contribuye a la dieta en este aspecto. Además, los valores obtenidos fueron inferiores a los informados por los mismos autores (1,81% vs 2,44%).

Scollo y colaboradores (2011) han señalado que el pretratamiento de los tubérculos mejora el sabor y el aroma de la harina obtenida, siendo esta una característica más que relevante para las posibles aplicaciones de ésta, especialmente si la misma se destina a la preparación de panificados. Al respecto, se han encontrado en los tubérculos de topinambur relativamente altos contenidos de terpenos que pueden potencialmente impactar en el *flavor*. Bach y colaboradores (2012) correlacionaron el perfil de volátiles con las características sensoriales de los tubérculos encontrando que los terpenos se asocian a la presencia de sabores indeseables (gusto ferroso, sabor mohoso y terroso), por lo que el tratamiento de los tubérculos con fines de su eliminación sería recomendable. En relación a la composición química de las harinas obtenidas se observó que el tratamiento de los tubérculos no afectó su contenido de fibra detergente ácido, carbohidratos totales y proteínas (**Tabla 1**).

Tabla 1. Composición de las harinas HC, HT y de los tubérculos frescos, expresados en % de material fresco.

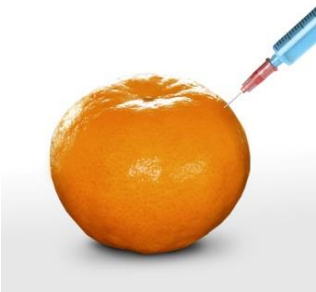
	HARINA HC	HARINA HT	Tubérculo
Humedad	8,82±0,03 [b]	5,99±0,04 [a]	80,5±0,1[c]
Materia grasa	0,57±0,03 [b]	0,85±0,1 [c]	0,12±0,01 [a]
Proteínas	2,27±0,7[a],[b]	2,78±0,01[b]	1,81±0,01[a]
Cenizas	6,17±0,04 [b]	7,20±0,12 [c]	1,91±0,09 [a]
Carbohidratos	77,8	78,5	15,7
FDA	4,4±0,3 [a]	4,72±0,05 [a]	-

Nota: Los valores informados corresponden a las medias ± la desviación estándar. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($p<0,05$).

Estimación del contenido de inulina

Para determinar el contenido de inulina se procedió a determinar las fracciones de fructosa total y fructosa libre por el método de Somogyi Nelson. Para llevarlo a cabo se realizó una curva de calibración con concentraciones de fructosa de 0 a 350 µg/ml, y se determinó la ecuación de la recta que permite su cuantificación.

Respecto a la puesta a punto de las condiciones de hidrólisis en la **Figura 2** se muestran los resultados obtenidos. Se observa que a concentraciones bajas (0,005; 0,01 y 0,025 M) los valores obtenidos son cercanos a los de la muestra control sin hidrolizar. Esto se debe a que no se llegan a hidrolizar completamente los polímeros presentes. Con concentraciones altas (0,1 y 0,3M) las condiciones resultan muy drásticas, promoviendo además la condensación de los azúcares hidrolizados, lo que conlleva a la posterior cuantificación por defecto. Así para la cuantificación de la inulina presente en las harinas de topinambur se seleccionó la condición de 0,05M HCl durante 40 minutos, donde se observa el pico con mayor concentración de fructosa determinada.



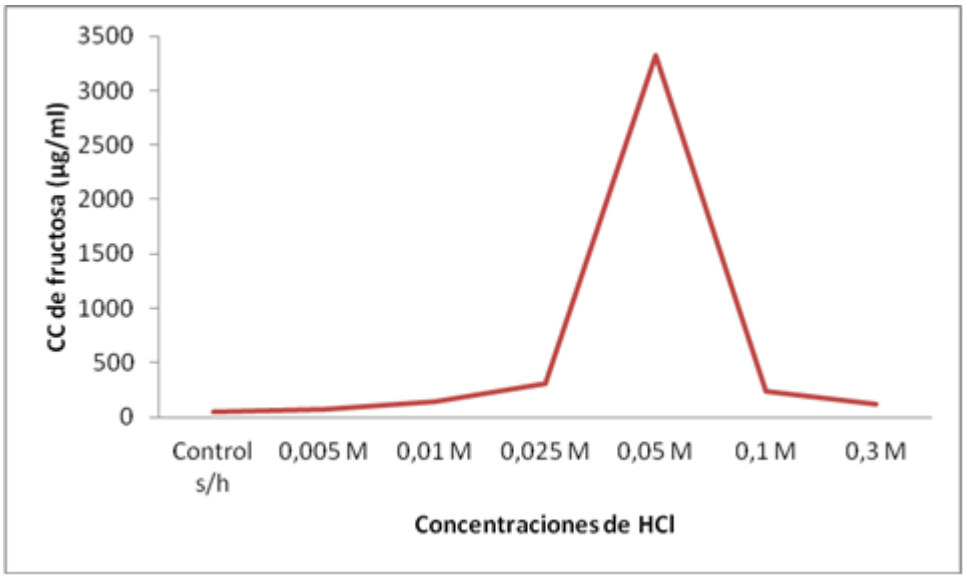


Figura 2. Puesta a punto de la concentración de HCl a utilizar en el proceso de hidrólisis.

En la **Figura 3**, se presentan los contenidos de azúcares libres y totales expresados como fructosa presentes en las muestras de harina. Los valores de fructosa libre obtenidos para la harina tratada son prácticamente el doble que para la harina control, este resultado podría atribuirse a la posible hidrólisis de los hidratos de carbono presentes durante el pretratamiento de los tubérculos con ácido láctico y acético. En relación al contenido de azúcares totales, si bien se observaron diferencias, éstas no fueron estadísticamente significativas ($p>0,05$).

El pretratamiento no afectó el contenido de inulina de las harinas. Este resultó menor al informado por Scollo y colaboradores (2011) para tubérculos recién cosechados. Se ha informado que la inulina presente en tubérculos como radicha y topinambur es rápidamente degradada luego de cosechados debido a la acción de las inulinasas presentes. Así los bajos valores encontrados son indicativos de dicha degradación ya que los tubérculos una vez cosechados no fueron procesados inmediatamente para obtener las harinas correspondientes, manteniéndose durante 7-10 días a temperatura y humedad ambiente. Los resultados obtenidos advierten sobre los cuidados que deben tenerse para el procesamiento de topinambur con fines de su utilización como fuente de ingredientes prebióticos.

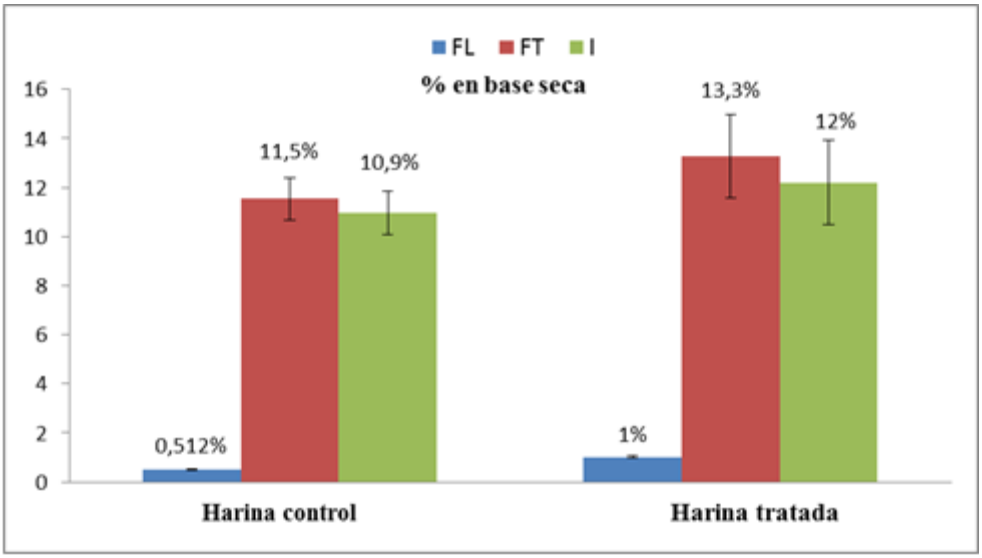


Figura 3. Contenido de inulina (I), fructosa libre (FL) y fructosa total (FT) expresado como % en base seca de las harinas control y tratada de topinambur.

Color superficial de las harinas

Los resultados obtenidos para los valores de L*, a* y b* correspondientes a las harinas HC y HT se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Parámetros de color superficial de las harinas de topinambur.

	Luminosidad	Parámetro de cromaticidad a*	Parámetro de cromaticidad b*	Diferencias de color (ΔE)
HARINA HC	85,11±1,6 [a]	0,08±0,04 [a]	11,29±0,49 [a]	15,57±1,55 [a]
HARINA HT	82,59±1,4 [b]	1,59±0,09 [b]	14,17±0,57 [b]	19,41±1,38 [b]

Nota: Los valores informados corresponden a las medias ± la desviación estándar. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p<0,05$).

Se observó que el tratamiento aplicado modificó significativamente los parámetros de color de la harina de topinambur. La harina HC presentó mayor luminosidad, indicando un color más blanco, lo cual puede observarse en la **Figura 4**. En cuanto al parámetro a* para la harina HT se obtuvieron valores más altos que para la harina HC y la misma tendencia siguió el parámetro b*, el cual hace referencia a un color pardo más intenso para HT. Estas observaciones visuales se correlacionaron con las diferencias de color (ΔE) observadas, siendo las mismas de 15,57±1,55 para la harina control y 19,41±1,38 para la harina proveniente de tubérculos tratados (**Tabla 2**).

El desarrollo de color podría atribuirse al pardeamiento químico de las muestras, debido al contenido de proteínas y azúcares presentes en las harinas. Mientras que las diferencias observadas podrían explicarse dado que en la harina tratada el contenido de azúcares libres es mayor que en la harina sin tratar, como se evidenció en la **Figura 3**, y al levemente mayor contenido de proteínas (**Tabla 1**). Además, dado que las harinas se obtuvieron por deshidratación de los tubérculos a 60ºC y, aunque esta temperatura no es excesivamente alta, no se descarta que se hubiera producido la caramelización de los azúcares presentes. La presencia de cáscara, si bien podría afectar los parámetros de color, no permite explicar los resultados obtenidos ya que los tubérculos (control o tratados) fueron procesados enteros.

Figura 4. Fotografía de las harinas analizadas de topinambur. Izquierda: harina control (HC). Derecha: harina tratada (HT).

CONCLUSIONES

Fue posible determinar la composición química de tubérculos de topinambur, los que resultaron ser fuente principalmente de carbohidratos y fibra. A partir de los mismos se obtuvieron harinas por deshidratación, evaluándose el efecto de un pretratamiento ácido de los tubérculos, con el fin de mejorar el sabor del

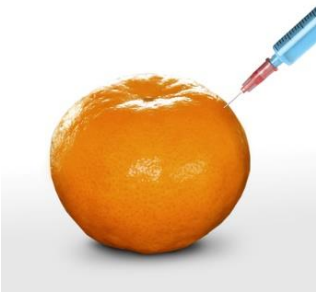
producto.
El pretratamiento afectó la composición química de las harinas, principalmente en relación a su contenido de humedad y cenizas totales. Sin embargo, el nivel de inulina no se modificó por efecto del pretratamiento, por lo que se induce un similar potencial prebiótico de los productos.
El desarrollo de estas harinas contribuye a la obtención de ingredientes funcionales con vistas a su incorporación en alimentos saludables, aptos para poblaciones con requerimientos nutricionales específicos, como los pacientes diabéticos.

BIBLIOGRAFÍA

Bauer, H.A. & Laso, R.H. 1974. El cultivo del topinambur (*Helianthus tuberosus L.*). Información técnica número 58, INTA, EEA Manfredi.
Bach, V., Kidmose, U., Kjeldsen Bjørn, G., Edelenbos, M. 2012. Effects of harvest time and variety on sensory quality and chemical composition of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tubers. Food Chemistry 133: 82–89.
Coussement P. 1999. Inulin and Oligofructose: safe intakes and legal status. J Nutr. 129:1412-17.
Denoroy, P. 1996. The crop physiology of *Helianthus tuberosus* L.: a model orientated view. Biomass and bioenergy, 11 (1): 11-32.
Duke, J.A. 1983. *Helianthus tuberosus L*. Handbook of energy crops. En: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke.energy/Helianthus_tuberosus.html
Gil Hernández. 2010. Legumbres, verduras y productos hortícolas. En: Gil Hernandez autor. Tratado de nutrición Tomo II Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana. Pág 141-160.
Ibarguren, L., Rébora, C. 2013. El cultivo de topinambur: generalidades sobre su eco fisiología y manejo. Horticultura Argentina 32(77):35-41.
Kosaric, N., Cosentino, G.P., Wieczorek, A. 1984. The Jerusalem artichoke as an agricultural crop. Biomass, 5: 1-36.
Rao A. 1999. Dose response effects of inulin and oligofructose on intestinal bifidogenesis effects. J. Nutr. 129:1442-45.
Rébora, C. 2008. Topinambur *(Helianthus tuberosus L.)*: usos, cultivos y potencialidad en la región de cuyo. Horticultura Argentina 27(63): 30-37.
Santos Chicahuala, M. 2015. Evalúan la adaptabilidad y potencialidad agronómica del Topinambur. Informe del INTA. Tema: Bioenergía.
Schittenhelm, S. 1999. Agronomic performance of root cicory, Jerusalem artichoke and sugarbeet in stress and nonstress environments. Crop Science 39: 1815-1823.
Schultheis, J.R. 1999. Growing Jerusalem artichokes.NC State University. Horticulture Information Leaflets. En: http://www.ces.ncsu.edu/depts/hort/hil/hil-19.htm
Scollo, D., Ugarte, M., Vicente, F., Giraudo, M., Sánchez Tuero, H., Mora, V. 2011. El potencial del topinambur en la salud y la nutrición. DIAETA (B.Aires); 29(137):7-13.
Watherhouse A. Chatterton N. 1993. Glossary of fructans terms. En: Suzuki M, Chatterton N editores. Sciencie and Technology of Fructans. USA: CRC Press; 1993:369.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado a partir del financiamiento de los proyectos: PICT 2011-1213 y 2015-0921 (ANPCyT, Argentina). PROICO Nº 14-4214 UNSL.



Incorporación de vitamina c y calcio durante el proceso de deshidratación osmótica de ananá

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

(1) IMAM (CONICET-Universidad Nacional de Misiones). Misiones, Argentina
(2) CIDCA (CONICET y Universidad Nacional de La Plata) y FI-UNLP. La Plata, Argentina.
lram@fceqyn.unam.edu.ar

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue estudiar la incorporación de ácido ascórbico y calcio en medias rodajas de ananá de 6 mm de espesor durante la impregnación en solución acuosa isotónica e hipertónica de sacarosa, durante 3 horas a 40°C con agitación constante. Se evaluó variación de masa, contenido de agua, sólidos solubles, pH, ácido cítrico (como acidez titulable), ácido ascórbico y calcio de la fruta. Durante el procesamiento, no se observaron modificaciones significativas del pH y acidez titulable en la fruta ni en las soluciones de impregnación. La incorporación de ambos nutrientes fue significativamente mayor en los procesos isotónicos que en los hipertónicos. El contenido de ácido ascórbico en la fruta fresca fue de 0,37±0,01 mg AA /g fruta fresca. Luego de la impregnación en solución isotónica e hipertónica, el contenido de ácido ascórbico en las muestras de fruta fue de 1,77±0,41 y 1,26 ± 0,20 mg/g fruta fresca, respectivamente. El contenido de calcio en frutas frescas de ananá fue de 10,07±1,55 mg/100g fruta fresca; luego del proceso de impregnación se registró un contenido de calcio de 74,18±10,73 y 36,06±14,08 mg/100g fruta fresca en frutas con tratamiento isotónico e hipertónico, respectivamente.

Palabras clave: Ananá, Ácido ascórbico, Calcio, Impregnación.

ABSTRACT

The objective of this work was to study the incorporation of ascorbic acid and calcium in half pineapple slices 6mm thick during impregnation in isotonic and hypertonic aqueous sucrose solution for 3 hours at 40°C, with constant stirring. Change in mass, moisture, soluble solids, pH, titratable acidity, ascorbic acid and calcium in the fruit was evaluated. During processing, no significant changes of pH and titratable acidity in the fruit neither in impregnating solutions were observed. The incorporation of both nutrients was significantly higher in isotonic processes than in hypertonic processes. Ascorbic acid content in the fresh fruit was 0.37 ± 0.01 mg/g fresh fruit. After impregnation in isotonic and hypertonic solution,the ascorbic acid content of fruit samples was 1.77±0.41 mg /g fresh fruit and 1.26±0.20 mg/g fruit fresh respectively. Calcium content in the fresh fruit was 10.07±1.55 mg/100g fresh fruit; after impregnation in isotonic and hypertonic solution were 74.18±10.73 and 36.06±14.08 mg/100g fresh fruit, respectively.

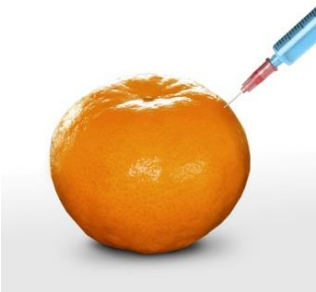
Keywords: Pineapple, Ascorbic acid, Calcium, Impregnation.

INTRODUCCIÓN

El ácido ascórbico (AA) o vitamina C no es sintetizado por el organismo, por lo que debe ser incorporado en la dieta. El calcio forma parte de nuestro cuerpo y participa en muchos procesos metabólicos. La ingesta diaria recomendada (IDR) promedio de vitamina C y calcio para una persona adulta es de 82,5 mg y de 1000 mg, respectivamente (Institute of Medicine 2000, Ross et al. 2011).

En la Argentina, según los resultados de la última Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (Ministerio de Salud 2007), el valor medio más bajo de ingesta de vitamina C en mujeres se observó en la región del NEA (25,35 mg). Con respecto al calcio, se reportó que la ingesta promedio de calcio en mujeres argentinas fue de 453 mg, siendo las regiones del NOA y NEA las de menor ingesta.

Durante diferentes etapas del procesamiento de vegetales algunos nutrientes pueden degradarse por la



temperatura, el oxígeno, el tiempo de exposición, etc. provocando una disminución en la calidad nutricional del alimento. La técnica de impregnación de matrices vegetales usualmente consiste en sumergir el producto en soluciones conteniendo determinados nutrientes, obteniéndose así productos con mayor valor nutricional (Moraga et al. 2009, Silva et al. 2013). Los procesos de impregnación pueden realizarse a presión atmosférica o bajo vacío, en ambos casos se produce una transferencia del soluto en cuestión desde la solución hacia la fruta debido a la diferencia de potencial químico entre el medio y el tejido vegetal.

Además, el empleo de sales de calcio permite modificar las propiedades mecánicas y el ácido ascórbico es utilizado como antioxidante. Si el proceso de impregnación de vegetales con sales de calcio es prolongado se obtienen alimentos con un tejido más resistente (Anino et al. 2006, Cortés Rodríguez et al. 2007, Barrera et al. 2009). También se evaluaron procesos de impregnación durante deshidrataciones osmóticas de frutas (Moraga et al. 2009, Silva et al. 2013, Silva et al. 2014, Mauro et al. 2016).

Actualmente la demanda de productos con valor agregado se ve favorecida por la tendencia actual del consumo de productos saludables en la dieta diaria. Es el caso de los alimentos fortificados, es decir, aquellos que han sido suplementados significativamente en su contenido natural de nutrientes esenciales, y están destinados a satisfacer necesidades alimentarias específicas de grupos de personas sanas. Según el Código Alimentario Argentino, la porción de este alimento debe aportar entre el 20% y el 100% de los requerimientos diarios recomendados. Diversos trabajos fueron publicados sobre fortificación en frutas empleando la técnica de impregnación (Gras et al. 2003, Alzamora 2005, Silva et al. 2014), siendo vitamina C, vitamina E, calcio y hierro los nutrientes más empleados.

Los datos nacionales demuestran que la ingesta de AA y calcio no es suficiente (Ministerio de Salud 2007), por ello el objetivo de este trabajo es obtener fruta de ananá fortificada con vitamina C y calcio. Para ello se evaluará la incorporación de estos nutrientes en láminas de ananá durante la impregnación en solución acuosa isotónica e hipertónica de sacarosa con la adición de ácido ascórbico y lactato de calcio, durante 3 horas a 40°C con agitación constante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de la fruta

Frutas de ananás *Comosus* variedad Cayena Lisa, en estado de madurez comercial (12,98 ± 2,17 °Brix) fueron obtenidas en la ciudad de Posadas, Misiones. La fruta fue pelada manualmente con cuchillo de acero inoxidable y luego seccionada en medias rodajas de 6,0 ± 0,5 mm de espesor, quitándose el centro con un sacabocado. Se excluye los extremos de la fruta para minimizar errores debido a la variación del contenido de compuestos naturales en la misma (Ramallo y Mascheroni 2004).

Impregnación con ácido ascórbico y calcio

Las muestras de ananá fueron colocadas en vasos de precipitado conteniendo solución de impregnación en una relación masa solución/masa de fruta de aprox. 4/1. Las condiciones de impregnación empleadas fueron: a) solución isotónica de sacarosa (~12 °Brix, concentración definida para cada fruta), y b) solución hipertónica de sacarosa (50°Brix), en baño termostatizado (modelo Dubnoff, Vicking, Argentina) durante 3 horas a temperatura (40°C) y agitación (40 opm) constantes. En ambos casos se adicionó el 1% p/p de ácido ascórbico (AA) y 2% p/p de lactato de calcio (LC). Luego del tiempo preestablecido se extrajeron las muestras, se las enjuagó con agua desmineralizada y el exceso de agua superficial se eliminó con papel tissue.

Los parámetros de transferencia de masa (ΔM), agua (ΔW) y soluto (ΔS) se calcularon con las ecuaciones 1, 2 y 3, respectivamente.

$$\Delta M\ (\%) = \frac{M_t - M_0}{M_0} * 100 \qquad (1)$$

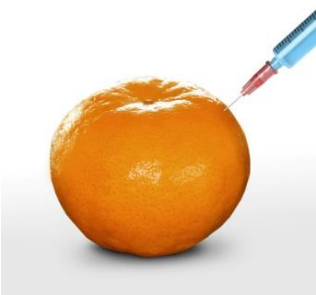
$$\Delta W\ (\%) = \frac{M_t * w_t - M_0 * w_o}{M_0} * 100 \qquad (2)$$

$$\Delta S\ (\%) = \Delta W + \Delta M \qquad (3)$$

Donde: M_0 es la masa inicial de la muestra (g); M_t es la masa de la muestra deshidratada (g); w_0 es la humedad inicial de la fruta (g de agua/g de fruta); w_t es la humedad en la fruta procesada durante un período tiempo t (g de agua/g de fruta).
La ganancia de nutrientes se expresa en porcentajes y se calcula con la ecuación 4, donde C_0 y C_f se refieren al contenido de AA o calcio en la fruta fresca y procesada respectivamente, en (mg/ g Fr Fr).

$$Ganancia = \frac{C_f - C_o}{C_o} * 100 \qquad (4)$$

Contenido de agua
La humedad de las muestras se cuantificó mediante el método gravimétrico, en estufa a 75°C hasta pesada constante (aproximadamente 48 horas).
Contenido de sólidos solubles
Se evaluó mediante lectura directa en un refractómetro digital (Hanna, modelo HI96801, Instruments Inc, Rumania). Los resultados se expresaron en °Brix.
pH y Acidez titulable
El pH de las muestras y de las soluciones se determinó mediante un peachímetro digital con electrodo de vidrio (TPA-III, Altronix, Argentina), y el contenido de ácido cítrico de la fruta, medido como acidez titulable, fue determinada aplicando una adaptación del método AOAC 942.15, por titulación con solución de hidróxido de sodio 0,1 N y los resultados se expresan como porcentaje (%) de ácido cítrico/100 g de fruta. A tal fin, se pesaron 10 g de fruta, se adicionó 90 ml de agua desmineralizada, se trituró con Mixer (Philips HR 1364-600W, Argentina) durante 1 minuto y luego se enrasó a 100 ml con agua desmineralizada. Se midió el pH y luego la acidez titulable. En las soluciones de impregnación el pH se midió directamente.
Determinación de ácido ascórbico
Proceso de Extracción: Cada muestra de fruta previamente pesada (entre 3 y 6 g) fue triturada con un Mixer (Philips HR 1364-600W, Argentina) durante 1 minuto, adicionando 50 ml de solución buffer (fosfato de potasio 0,02M, pH=2,5 ajustado con ácido fosfórico). Posteriormente se trató con ultrasonido por 15 minutos, se filtró y se inyectó al cromatógrafo. En el caso de las soluciones de impregnación, se tomó 5mL de la misma y se adicionó 5mL solución buffer, se filtró y se inyectó al cromatógrafo.
Contenido de ácido ascórbico: se utilizó cromatografía líquida (HPLC), con columna Alltima C-18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm de tamaño de partícula) y detector UV (λ= 254 nm). La fase móvil formada por solución buffer (fosfato de potasio 0,02M, pH=2,5 ajustado con ácido fosfórico): acetonitrilo (98:2 v/v) a una velocidad de flujo de 1,0 ml/min. La identificación y cuantificación se realizó por comparación del tiempo de retención y magnitud del área del pico con un estándar de referencia (CAS 50-81-7, MP Biomedicals, USA) en concentración de 0,1 mg/ml, respectivamente.
Los análisis se realizaron por duplicado y los resultados se expresan en mg AA/g fruta fresca y en mg AA/mL de solución.
Determinación de Calcio
Se pesaron muestras de fruta fresca y tratadas (≈2 g) en capsulas de porcelana, se calcinaron a 550°C en mufla, hasta la obtención de cenizas blancas (6 horas). Luego estas cenizas fueron disueltas en 10 ml de HCl 2N, calentando las cápsulas cerradas mediante un mechero de Bunsen durante 5 min. La solución resultante fue filtrada en un matraz de 25 mL, se le adicionó 2 mL de solución 10% p/p de óxido de lantano (La_2O_3) y 2,2% de cloruro de potasio (KCl) y agua desmineralizada hasta completar el volumen. El contenido de calcio fue medido por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Elmer 3110, PerkinElmer Inc., USA) empleando longitud de onda de 422,7 nm, ancho de rendija de 0,7 nm y relación de combustible / oxidante de 2,5/4,5. El equipo se calibró mediante soluciones patrón de carbonato de calcio ($CaCO_3$) de concentración conocida. Las determinaciones se realizaron por duplicado. Los resultados se expresan en mg Ca/100 g fruta fresca.



RESULTADOS Y DISCUSIONES

Caracterización de la fruta fresca

Las muestras de ananá *Comosus* Var. Cayena Lisa empleadas para este estudio presentaron un contenido de agua de 86,2 ± 2,9 g agua /100 g fruta; contenido de sólidos solubles de 12,98 ± 2,17 °Brix; pH de 4,01±0,55 y contenido de ácido cítrico de 0,51± 0,32 g ác. cítrico/ 100 g fr. Los valores obtenidos se encuentran dentro del rango de valores reportados para diferentes variedades de ananá, aunque es de resaltar la variación registrada entre fruta.

Caracterización de la fruta procesada

Se ensayaron dos condiciones de impregnación: en solución isotónica y en solución hipertónica, ambas con la misma concentración de AA y LC. Como se podría predecir, el contenido de agua de la fruta disminuyó un 22% en el tratamiento hipertónico y solo el 1% en el tratamiento isotónico. En las frutas tratadas con solución hipertónica, la ganancia de soluto ΔS fue de 13,51 ± 1,11 g/100g de fruta fresca, mientras que en las frutas tratadas en solución isotónica no se registró una variación significativa en el contenido de sólidos solubles.

Comparando dos tratamiento de inmersión de láminas de ananá en solución acuosa de 50 °Brix durante 3 h con y sin la incorporación de AA y LC se obtuvieron resultados similares respecto a la pérdida de agua (31,90 ± 1,33 y 30,58±2,62 g/100g de fruta fresca, respectivamente), pero se registró menor ganancia de soluto en la fruta tratada sin la adición de los nutrientes (10,50±0,22 g/100g de fruta fresca) que en aquella tratada con la adición de nutrientes (13,51±1,11 g/100g de fruta fresca) (resultados no mostrados en el presente trabajo).

En la **Tabla 1** se muestran los valores medios y desvío estándar de los resultados del contenido de sólidos solubles (SS), pH y contenido de ácido cítrico (AC) de la fruta al inicio y al final del proceso de impregnación, en las dos condiciones ensayadas. Se observó un aumento del contenido de sólidos solubles significativo únicamente en las muestras que fueron tratadas en solución hipertónica, debido al proceso osmótico. En ambos tratamientos de impregnación se registró variación no significativa del pH ($p \geq 0,05$). Así mismo, el contenido de ácido cítrico decreció un 5 y 11% en los ensayos isotónico e hipertónico respectivamente. La diferencia en estos valores puede deberse al arrastre adicional de AC con la corriente de agua durante el proceso hipertónico.

Tabla 1. Valores medios y desvío estándar del contenido de sólidos solubles (SS), pH, contenido de ácido cítrico (AC) de fruta fresca (FrFr) y en fruta tratada en solución isotónica (Fr I) e hipertónica (Fr H).

Muestra	**SS** *(°Brix)*	**pH**	**AC** *(g/100 g Fr Fr)*
Fr Fr	11,34 ± 0,76	4,32 ± 0,28	0,28 ± 0,12
Fr I 3 h	11,70 ± 0,21	4,14 ± 0,09	0,26 ± 0,04
Fr Fr	12,70 ± 1,13	3,45 ± 0,51	0,66 ± 0,29
Fr H 3 h	32,45 ± 1,41	3,59 ± 0,18	0,58 ± 0,13

Incorporación de ácido ascórbico

El promedio del contenido de AA en las frutas frescas fue de 0,34 ± 0,05 mg/g de fruta fresca, estando en el orden de los valores reportado por otros autores: 0,37 mg/g de fruta fresca (Barberis et al. 2012), 0,306 mg/g de fruta fresca (Vinci et al. 1995) y 0,27 mg/g de fruta fresca (Hernández et al. 2006).

Se evaluó el contenido medio de AA en la matriz vegetal luego de 3 y de 48 h de impregnación, en las dos condiciones mencionadas. Los resultados se presentan en la **Tabla 2**. Cabe aclarar que el ensayo de 48 h de inmersión se efectuó con el objetivo de evaluar la ganancia máxima del nutriente en las condiciones de operación aplicadas. Es sabido que durante este período se puede degradar parte del AA de la solución de impregnación (Yuan y Chen 1998); pero aún así se observó un incremento significativo ($p \leq 0,05$) de este componente a las 48 h respecto del mismo a las 3 h de tratamiento.

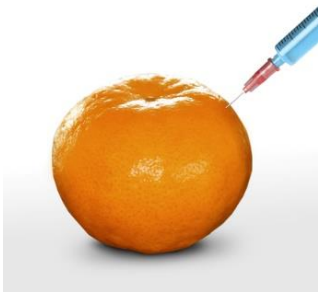


Tabla 2. Contenido de ácido ascórbico y de calcio en fruta de ananá impregnada en medio acuoso isotónico (Fr I) e hipertónico (Fr H).

Muestra	**AA** *(mg/ g Fr Fr)*	**AA** *(mg/ g de producto)*	**Ganancia de AA** *(%)*	**Ca** *(mg/ 100 g Fr Fr)*	**Ca** *(mg/ 100 g de producto)*	**Ganancia de Ca** *(%)*
Fr I 3 h	1,77 ± 0,41	1,83 ± 0,46	420	74,18 ± 10,73	81,32 ± 11,55	636
Fr H 3 h	1,26 ± 0,20	1,62 ± 0,31	271	36,06 ± 14,08	52,48 ± 22,14	258
Fr I 48 h	2,76 ± 0,42	4,57 ± 0,91	712	200,81 ±17,13	331,40 ± 28,26	1893
Fr H 48 h	1,61 ± 0,10	2,40 ± 0,05	373	103,28±10,49	154,03 ± 15,64	925

Se observa que luego de la impregnación en solución isotónica las muestras registraron mayor ganancia de AA que aquellas impregnadas en medio hipertónico ($p \leq 0,05$). A partir de una porción de 50 g de frutas tratadas se cubriría el 111% y un 98,2% de la ingesta diaria recomendada de vitamina C para muestras impregnadas por 3 h en solución isotónica e hipertónica respectivamente, es decir el producto obtenido cumple con los requisitos de Código Alimentario Argentino para categorizar como alimento fortificado.

Incorporación de Ca

Se determinó el calcio en la matriz vegetal al inicio y luego del proceso de impregnación. El contenido de calcio en frutas frescas de ananá fue de 10,07±1,55 mg/100g fruta fresca. Estos resultados están en el orden de los publicados en la base de datos de nutrientes del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA 2016) donde el contenido de calcio en ananá fresco es de 13 mg/100 g fruta fresca.

El comportamiento de la ganancia de calcio en ananá en relación a las características de la solución de impregnación fue similar al observado en la incorporación de ácido ascórbico: mayor contenido de calcio en fruta impregnada en solución isotónica que en medio hipertónico ($p \leq 0,05$) (**Tabla 2**).

Considerando que el requerimiento promedio estimado de la población es de 800 mg/día (Ross et al. 2011), una persona adulta cubriría tan solo el 5% y el 3,3% del requerimiento diario recomendado para muestras impregnadas por 3 h en solución isotónica e hipertónica con una porción de 50 g. En cambio, la fruta procesada por 48 h en estas soluciones cubrirían el 21% y el 10% del requerimiento promedio estimado, respectivamente.

Caracterización de la solución de impregnación

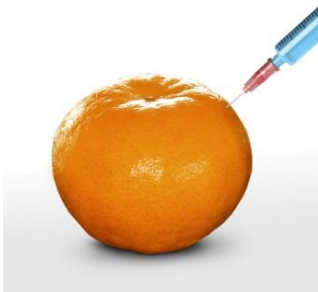
En vistas a una posible aplicación industrial y con el objetivo de reducir los costos de los procesos de impregnación de la fruta mediante la reutilización de solución de impregnación, se evaluaron cambios en algunos componentes que caracterizan a la misma. Se presenta en la **Tabla 3** parámetros evaluados antes y después del proceso de impregnación, en ambas soluciones.

Se observa que el contenido de sólidos solubles de la solución isotónica no presentó diferencias significativas, mientras que en la solución hipertónica hubo un leve descenso al final del tratamiento de impregnación, probablemente debido a que la relación masa del jarabe/masa de la fruta no es suficiente para garantizar constancia en la concentración de la solución osmótica.

En cuanto al pH, si bien se registraron diferencias en los valores antes y después del proceso, al no observarse tendencias se puede inferir que los cambios en el pH de la solución de impregnación se vinculan al pH de la fruta. Otros autores han observado que los valores del pH de la solución hipertónica durante procesos de deshidratación osmótica de diferentes frutas tienden a alcanzar los valores del pH de la fruta en cuestión (Valdez-Fragoso et al. 1998, García-Martínez et al. 2002).

Por su parte, como se podría predecir dada su característica termolábil, se registró una reducción del contenido de ácido ascórbico durante el proceso de impregnación, con similar comportamiento en ambas soluciones.

Tabla 3. Valores medios del contenido de sólidos solubles (SS), pH y contenido de ácido L-ascórbico (AA) en la solución inicial de impregnación isotónica e hipertónica (SI_0 y SH_0) y al final del proceso (SI_f y SH_f).

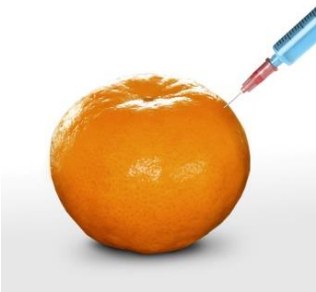


Muestra	**SS** *(°Brix)*	**pH**	**AA** *(mg/mL)*
SI_0	11,38 ± 0,19	4,23 ± 0,01	5,12 ± 0,26
SI_f	11,63 ± 0,29	4,15 ± 0,01	3,54 ± 0,47
SH_0	50,17 ± 0,90	3,88 ± 0,01	5,24 ± 0,71
SH_f	46,88 ± 1,34	3,96 ± 0,01	3,56 ± 0,21

CONCLUSIONES

En el presente estudio se encontró que el proceso de impregnación de ananá con calcio y ácido ascórbico es más eficiente cuando se emplea solución isotónica que cuando la solución de impregnación es hipertónica. Así, el consumo de una porción de 50 g de fruta de ananá impregnada por 3 h en solución isotónica e hipertónica cubriría el 111% y un 98% de la ingesta diaria recomendada de vitamina C respectivamente. En lo que respecta a la impregnación de la fruta con calcio, si bien se obtuvo una ganancia de este nutriente de 636% y de 258% en la fruta de ananá con 3 h impregnación en solución isotónica e hipertónica respectivamente, una persona adulta cubriría tan solo el 5% y el 3,3% del requerimiento diario recomendado con la ingesta de 50 g de producto; fue necesario un proceso de impregnación de 48 h para que el contenido de Ca en 50 g de fruta permita cubrir el 21 y el 10% del requerimiento promedio estimado respectivamente.

De los resultados obtenidos se concluye, además, que es necesario estudiar la degradación del AA durante el almacenamiento del producto en condiciones de refrigeración para establecer la vida útil del alimento fortificado.



BIBLIOGRAFÍA

Alzamora SM, Salvatori D, Tapia M, López-Malo A, Welti-Chanes J, Fito P. 2005. Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. Journal of Food Engineering, 67: 205-214.

Anino SV, Salvatori DM, Alzamora SM. 2006. Changes in calcium level and mechanical properties of apple tissue due to impregnation with calcium salts. Food Research International, 39: 154–164.

Barberis A, Fadda A, Schirra MB, Bazzu G, Serra PA. 2012. Detection of postharvest changes of ascorbic acid in fresh-cut melon, kiwi, and pineapple, by using a low cost telemetric system. Food chemistry, 135: 1555-1562.

Barrera C, Betoret N, Corell P, Fito P. 2009. Effect of osmotic dehydration on the stabilization of calcium-fortified apple slices (var. Granny Smith): Influence of operating variables on process kinetics and compositional changes. Journal of Food Engineering, 92: 416–424.

Cortés Rodríguez M, Guardiola LF, Pacheco R. 2007. Aplicación de la ingeniería de matrices en la fortificación de mango (var. Tommy atkins) con calcio. DYNA, 74 (153): 19-26.

García-Martínez E, Martínez-Monzó J, Camacho MM, Martínez-Navarrete N. 2002. Characterisation of reused osmotic solution as ingredient in new product formulation. Food Research International, 35: 307–313.

Gras M, Vidal D, Betoret N, Chiralt A, Fito P. 2003. Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation.interaction with cellular matrix. Journal of Food Engineering, 56: 279-284.

Hernández Y, Lobo M G, González M. 2006. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. Food Chemistry, 96: 654-664.

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. 2000. Dietary Reference intakes (DRIs) for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes. National Academy Press. Washington, DC. [Acceso: 19-10-2016] Disponible en: https://www.nap.edu/catalog/9810/dietary-reference-intakes-for-vitamin-c-vitamin-e-selenium-and-carotenoids

Mauro MA, Dellarosa N, Tylewicz U, Tappi S, Laghi L, Rocculi P, Dalla Rosa M. 2016. Calcium and ascorbic acid affect cellular structure and water mobility in apple tissue during osmotic dehydration in sucrose solutions. Food Chemistry, 195: 19–28.

Ministerio de Salud. 2007. Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNyS 2007). Documento de resultados. Ministerio de Salud de la Nación. Argentina. [Acceso: 19-10-2016] Disponible en: http://www.msal.gov.ar/htm/site/ennys/pdf/documento_resultados_2007.pdf

Moraga MJ, Moraga PJ, Fito N, Martínez-Navarrete N. 2009. Effect of vacuum impregnation with calcium lactate on the osmotic dehydration kinetics and quality of osmodehydrated grapefruit. Journal of Food Engineering, 90: 372–379.

Ramallo LA, Mascheroni RH. 2004. Prediction and determination of ascorbic acid content during pineapple drying. Proceedings of the 14th International Drying Symposium (IDS), São Paulo, Brazil, 1984–1991.

Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB. 2011. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Food and Nutrition Board; Institute of Medicine. National Academy Press. Washington, DC.

Silva KS, Fernandes MA, Mauro MA. 2013. Osmotic Dehydration of Pineapple with Impregnation of Sucrose, Calcium, and Ascorbic Acid. Food and Bioprocess Technology.

Silva KS, Fernandes MA, Mauro MA. 2014. Effect of calcium on the osmotic dehydration kinetics and quality of pineapple. Journal of Food Engineering, 134: 37–44.

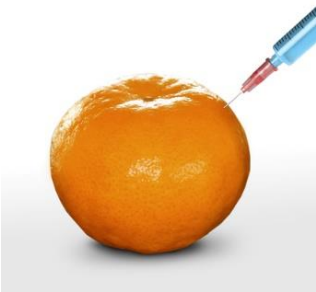
USDA. 2016. Food Composition Databases. [Acceso: 19-10-2016]. Disponible en: https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list?qlookup=09266&format=Full

Valdez-Fragoso A, Welti-Chanes J, Giroux F. 1998. Properties of sucrose solution reused in osmotic dehydration of apples. Drying Technology, 6(7): 1429–1445

Vinci G, Rot F, Mele G, Ruggieri G. 1995. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation, 53: 211-214.

Yuan JP, Chen F. 1998. Degradation of ascorbic acid in aqueous solution. Journal of Agricultural and Food

Chemistry, 46(12): 5078-5082.



Aplicación de recubrimientos comestibles a frutillas sometidas a tratamientos de deshidratación osmótica y microondas

Gamboa-Santos, J.[1] y Campañone, L.[1,2]

[1]CIDCA (CONICET-CCT y Universidad Nacional de La Plata), 47 y 116, La Plata (1900), Argentina.
[2]Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, 1 y 47, La Plata (1900), Argentina.
jou_joule@hotmail.com

RESUMEN

La Deshidratación Osmótica (DO) es uno de los métodos tradicionales para aumentar la vida útil de vegetales y frutas. Sin embargo, las condiciones enérgicas de proceso pueden afectar negativamente a la calidad de los productos frescos, así como favorecer la pérdida de constituyentes hidrosolubles hacia el medio osmótico. La aplicación de recubrimientos comestibles ha despertado interés debido a su capacidad de reducir el ingreso de solutos y a la vez incrementar la remoción de agua durante la DO. La utilización de microondas (MO) es una de las tecnologías emergentes más efectivas para acelerar procesos de deshidratación en frutas. Este aspecto es de especial relevancia en frutillas, dado su elevado contenido en componentes bioactivos y nutritivos. Por tanto, el objetivo del presente trabajo es estudiar la influencia de la aplicación de recubrimientos de alginato-lactato en frutillas (láminas, 1 cm) durante tratamientos de DO (sacarosa, 60 ºBx, 40ºC, 4 h) y calcular el coeficiente de transferencia de materia (D_e) durante el secado posterior utilizando un equipo de microondas (1,2 W/g). Finalmente, se obtuvieron frutillas deshidratadas con niveles de humedad de hasta 0,15 kg H_2O/ kg MS (pre-tratadas por DO) en tiempos de secado (MO) de 100 min. La aplicación de recubrimientos comestibles de alginato-lactato durante la DO dio lugar a similares pérdidas de peso y de agua y a una menor ganancia de sólidos comparada con las muestras sin recubrir. Tras el secado con MO, no se observaron diferencias significativas en las D_e que pudieran atribuirse a la presencia del recubrimiento.

Palabras clave: recubrimientos comestibles, frutillas, deshidratación, tecnologías emergentes, microondas.

ABSTRACT

Osmotic Dehydration (OD) is one of the traditional methods to increase the shelf life of vegetables and fruits. However, the operating conditions can adversely affect the quality of fresh product due to the loss of water-soluble constituents to the osmotic medium. The application of edible films has attracted interest due to their ability to reduce the entry of solutes and simultaneously increase the removal of water during OD treatments. Microwaves (MW) is one of the most effective emerging technologies to accelerate dehydration processes in vegetable matrixes. This aspect is particularly relevant in strawberries, given its high content in bioactive and nutritional compounds. Thus, the aim of this paper was to assess the influence of edible film application (alginate-lactate) in strawberry slices (1 cm) during OD treatments (sucrose, 60 ºBx, 40 ºC, 4 h) and then to calculate the effective diffusional coefficient (D_e) during drying by using a microwave oven (1,2 W/g). Finally, OD pre-treated MW-dried strawberry slices with moisture contents up to 0.15 kg dry basis were obtained after 100 min of drying. The application of alginate-lactate edible films resulted in similar weight and water losses and lower solids gain compared to uncoated samples. After MW-drying, no significant differences in D_e values between coated and uncoated samples were observed.

Keywords: Edible films, Strawberries, Dehydration, Emerging technologies, Microwaves.

INTRODUCCIÓN

La deshidratación osmótica (DO) se define como un pre-tratamiento caracterizado por la difusión simultánea

de humedad y sólidos entre el alimento y una solución hipertónica en la cual está inmerso (Rastogi et al. 2014). Resulta uno de los métodos tradicionales más frecuentes para obtener productos de humedad intermedia de estabilidad mejorada y, tras una etapa de secado posterior, productos deshidratados de elevada calidad (Ahmed et al. 2016). Sin embargo, en determinadas condiciones, la DO puede afectar negativamente a los atributos sensoriales y nutricionales de los productos frescos debido a cambios en sus constituyentes favorecidos por elevadas temperaturas y extensos tiempos de procesado, así como por la pérdida de constituyentes hidrosolubles hacia el medio osmótico. La búsqueda de alternativas que mejoren la calidad final del producto deshidratado ha impulsado tanto la optimización de las condiciones de DO, como la utilización de barreras al ingreso de solutos para impedir la significativa alteración de la calidad nutritiva de las frutas frescas. En esta área, la aplicación de recubrimientos comestibles ha despertado interés debido a su capacidad de reducir el ingreso de solutos y a la vez incrementar la remoción de agua durante la DO (Khin et al. 2006, Jalaee et al. 2011). Además, la aplicación de recubrimientos comestibles, en determinadas condiciones de operación, minimiza la pérdida de aroma, color y nutrientes gracias a la reducción en la difusión de oxígeno, manteniendo la integridad física del producto (Lago-Vanzela et al. 2013). La aplicación de microondas (MO) para el secado de frutas es una de las tecnologías emergentes más estudiadas en los últimos años para acelerar procesos de deshidratación de matrices vegetales preservando la calidad del producto fresco original (De Bruijn y Bórquez 2014). Este aspecto es de especial relevancia en las frutas y en particular en frutillas, dado su contenido en componentes bioactivos y con alto valor nutritivo (Mejías-Pérez et al. 2014). No obstante, algunos autores han señalado que la aplicación de microondas para remover el agua es un tratamiento relativamente costoso debido al gasto de energía eléctrica y a la reducida eficiencia de los magnetrones variando entre 50-60% (Piomowski et al. 2004). En este sentido, la combinación de DO con MO resulta una tecnología combinada apropiada para obtener productos con mayor vida útil y elevada calidad, en tiempos de proceso reducidos y con un consumo energético razonable (Piomowski et al. 2004). De acuerdo a lo expuesto, el objetivo del presente trabajo es estudiar la influencia de la aplicación de recubrimientos en los parámetros característicos de la DO de frutillas con recubrimientos comestibles (alginato de calcio) y obtener valores de coeficientes de difusividad (D_e) durante el secado posterior utilizando un equipo de microondas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Acondicionamiento de la materia prima

Se utilizaron frutillas (*Fragaria ananassa*) de la variedad Duch adquiridas en el mercado local de la ciudad de La Plata (Argentina). A las frutillas se les extrajo el tallo y, posteriormente, se lavaron con agua a temperatura ambiente para quitar restos de suciedad. Una vez removida el agua superficial con papel absorbente las frutillas se cortaron en láminas de 1,0 ± 0,1 cm de espesor medidas con un calibre. Los lotes de frutillas frescas se mantuvieron refrigerados (4ºC) por un período inferior a 2 días hasta su correspondiente secado con microondas (MO); las muestras deshidratadas osmóticamente fueron inmediatamente secadas con MO después de ser sometidas al pre-tratamiento.

Preparación de recubrimientos

Los recubrimientos que se aplicaron a las láminas de frutillas se prepararon a partir de soluciones de alginato de sodio (2% p/p, Sigma Aldrich) y lactato de calcio (5% p/p, Sigma Aldrich). Las muestras se sumergieron en la solución de alginato de sodio durante 5 min, se escurrieron en una malla plástica (1 min), para ser luego sumergidas en la solución de lactato de calcio durante 5 min más. Luego de ser escurridas (1 min) fueron secadas finalmente con papel absorbente para eliminar excedentes de solución superficial.

Deshidratación osmótica de las muestras

Las muestras de láminas de frutilla, con y sin recubrimiento, fueron pesadas (85,8 ± 3,2 g) y deshidratadas osmóticamente por inmersión en solución de sacarosa durante 4 h a 60 ºBrix (ºBx) y 40 ºC (relación muestra: solución, 1:10), con agitación a 100 rpm en shaker (TT400, Perca, Argentina). Condiciones similares de tratamiento fueron utilizadas por diversos autores para ensayos de DO en frutas (Falade e Igbeka 2007, Ispir y Tôgrul 2009, Mundada et al. 2011). Transcurrido el tiempo de pre-tratamiento, se extrajeron las muestras

escurriéndolas en mallas plásticas y lavándolas con agua destilada para remover restos de solución osmótica superficial. Se secaron en papel absorbente y se registraron los pesos y la humedad. Todos los ensayos de DO se realizaron por triplicado.
Para calcular los parámetros característicos de la DO: pérdida de peso (WR), pérdida de agua (WL) y ganancia de sólidos (SG), se utilizaron las ecuaciones (1, 2 y 3).

$$WR = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} * 100 \qquad (1)$$

donde WR indica la pérdida de peso porcentual durante la DO (%); m_i y m_f son la masa inicial y final de muestra, respectivamente (g).

$$WL = WC_0 - WC_{DO} * (1 - \frac{WR_{DO}}{100}) \qquad (2)$$

donde WL indica la pérdida de agua porcentual durante la DO (%); WC_0 es el contenido inicial de humedad (100* g agua inicial/ g muestra inicial); WC_{DO} es el contenido de humedad luego del proceso de DO (100* g agua final/ g muestra final).

$$SG = TS_{DO} * (1 - \frac{WR_{DO}}{100}) - TS_0 \qquad (3)$$

donde SG es la ganancia de sólidos respecto al contenido inicial (%); TS_0 es el contenido de sólidos totales iniciales (100* g sólidos inicial/ g muestra inicial ó 100-WC_0) y TS_{DO} es el contenido de sólidos totales tras la DO (100* g sólidos final/ g muestra final).

Experiencias de secado con microondas

Las muestras sometidas a los ensayos de DO y sus controles frescas fueron sometidas a un secado con MO en un equipo doméstico ATMA Modelo MR926E (700W, Electronic System, Argentina). En la **Fig. 1** se incluye un esquema del equipo utilizado con la descripción de sus partes constitutivas principales.

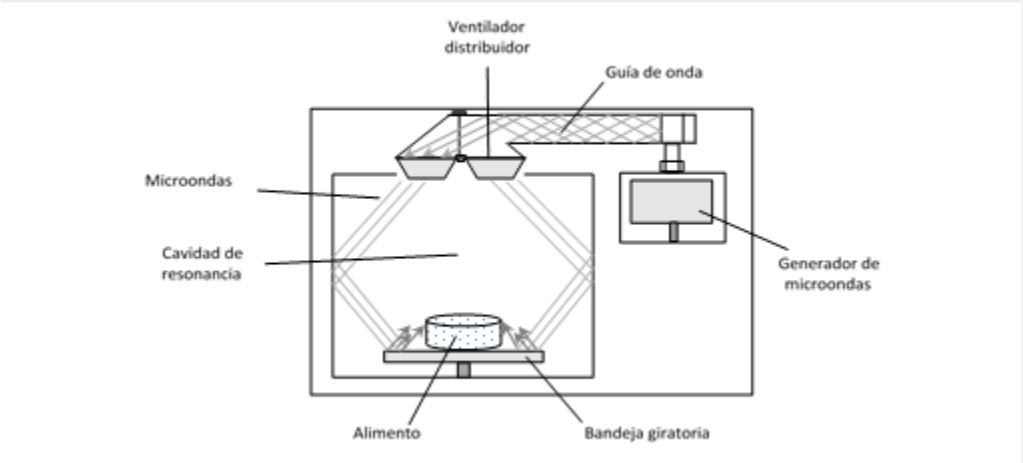


Fig. 1. Esquema de la cámara de secado del microondas y componentes principales del sistema.

Dentro de la cámara de secado las muestras se dispusieron formando un círculo, como se observa en la **Fig. 2**, con una carga inicial de materia prima de 99,8 ± 5,9 g. Estudios previos mostraron que en tales ubicaciones las muestras tienen una distribución uniforme de radiación electromagnética (Rodríguez 2014).

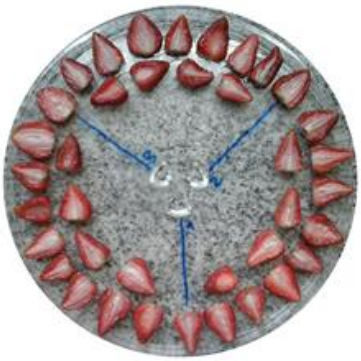


Fig. 2. Fotografía de láminas de frutilla deshidratadas osmóticamente y su disposición en el plato del microondas.

Las muestras se deshidrataron hasta obtener pérdidas de peso de 86,8 ± 0,9% y 49,9 ± 3,8% con respecto a la muestra inicial fresca y deshidratada osmóticamente, respectivamente. Todas las experiencias de secado se realizaron a la potencia mínima del sistema (120 W, equivalente a 1,2 W/g). En la **Tabla 1** se resumen las características de las muestras evaluadas en el presente trabajo. Las experiencias de secado con MO se realizaron por duplicado. A partir del contenido inicial de humedad determinado mediante el método AOAC 934.06 (AOAC 1997), se estimó la cinética de secado mediante los datos de pérdida de peso registrados en una balanza de sensibilidad 0,1 g (Denver Instrument, USA), utilizándose un intervalo de pesada de 10 min. La humedad final se expresó como: kg H_2O/ kg de materia seca (MS).

Tabla 1. Características de las muestras sometidas al proceso de secado con MO.

Experiencias	*Recubrimiento*	*Tratamiento DO*
FR	No	No
FR_R	Sí	No
DO-60-40	No	Sí
DO-60-40_R	Sí	Sí

donde FR indica muestra fresca, DO muestra deshidratada osmóticamente, R indica la presencia del hidrogel y 60-40 las condiciones de procesamiento.

Modelado de las cinéticas de secado

Se realizó el modelado de las cinéticas de secado (MO), el mismo permitió estimar el coeficiente de difusión (D_e) para cada tratamiento y condición evaluada.

En el modelo propuesto se consideraron las siguientes hipótesis: i-el sólido tiene una distribución de materia simétrica, ii-el contenido de humedad y temperatura inicial son uniformes, iii- la difusividad efectiva y el volumen de la muestra son constantes durante todo el proceso de secado (Simal et al. 2003), iv- geometría placa plana infinita.

En base a las consideraciones previas, se planteó el balance microscópico de materia:

$$\frac{\partial W_p(x,t)}{\partial t} = D_e \frac{\partial^2 W_p(x,t)}{\partial x^2} \qquad (4)$$

donde Wp es el contenido de humedad local de la muestra (kg H_2O/kg MS), D_e es la difusividad efectiva de humedad (m^2/s), t es el tiempo (s) y x representa la dirección de transporte característica para la geometría de placa plana. La difusividad efectiva de humedad es el parámetro cinético del modelo y representa la facilidad del agua para abandonar la matriz del sólido durante el proceso de secado (Gamboa-Santos et al. 2014).

Para la resolución de la ecuación (4) se supuso que la resistencia externa a la transferencia de materia era

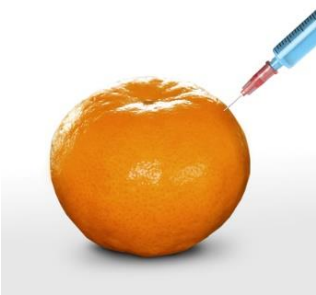
despreciable. Este supuesto se expresa en la siguiente condición de contorno (ecuación 5).

$$W_p(L,t) = W_e \tag{5}$$

donde L representa el semiespesor de la muestra (m) y W_e la humedad de equilibrio. La relación entre la actividad de agua (a_w) y la humedad de equilibrio de la muestra se estimó de datos de isotermas de sorción de la literatura (Gamboa-Santos et al. 2014). La ecuación (6) muestra la solución para la geometría de placa plana del modelo considerado en términos de contenido de humedad media (W).

$$W(t) = W_e + (W_o - W_e) \times \left[\sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2 \pi^2} \exp\left(-\frac{D_e (2n+1)^2 \pi^2 t}{4L^2} \right) \right] \tag{6}$$

donde W_o es el contenido de humedad inicial (kg H_2O/ kg MS). Cabe destacar que el modelo que se desprende de la Ley de Fick asume que todo el proceso de secado ocurre durante el período de velocidad decreciente (Contreras et al. 2008). El modelo considerado se ajustó a la cinética experimental de secado mediante un proceso de optimización. Se identificó el valor de D_e minimizando la suma de las diferencias cuadráticas entre los datos experimentales y calculados de contenido de humedad media mediante el paquete SOLVER de Microsoft Excel (Microsoft Corporation, USA) considerando 100 términos de la sumatoria (ecuación 6, n: 100).



Determinación de sólidos solubles

La determinación de sólidos solubles de las muestras frescas y deshidratadas osmóticamente se realizó con un refractómetro digital (Hanna Instruments Modelo HI96801, USA) que mide los ºBx sobre el extracto obtenido del prensado y filtrado de las muestras, a temperatura ambiente. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Con la finalidad de evaluar la bondad del ajuste obtenido para el modelo propuesto, se calcularon la varianza (VAR, ecuación 7) y el error medio relativo (EMR, ecuación 8) para cada una de las experiencias de secado.

$$VAR = \left[1 - \frac{S_{tw}^2}{S_w^2}\right] \times 100 \qquad (7)$$

$$EMR = \frac{100}{N}\left[\sum_{i=1}^{N} \frac{|W_{ei} - W_{ci}|}{W_{ei}}\right] \qquad (8)$$

donde S^2_{tw} y S^2_w representan la varianza de los datos muestrales y de la estimación, respectivamente; W_{ei} y W_{ci} son los contenidos de humedad media experimental y calculados y N es el número de datos experimentales. Para evaluar las significación estadística de la aplicación de MO y de los recubrimientos de alginato en el secado de frutillas frescas y deshidratadas osmóticamente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para los factores individuales: WR, WL, SG, WL/SG, ºBx al inicio y al final del proceso de secado (ºBx$_{t0}$ y ºBx$_{tf}$; respectivamente) y D_e utilizando el programa Statgraphics 5.1 (StaPoint, Inc., Warrenton, VT). En todos los casos, las medias se compararon considerando los intervalos LSD de Fisher y un p valor menor a 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros de deshidratación osmótica

En la **Tabla 2** se presentan los resultados de los parámetros característicos de la deshidratación osmótica para las frutillas frescas y recubiertas. Se observan resultados similares para los tratamientos de DO con y sin recubrimiento para los parámetros WR y WL. Para el caso de la ganancia de sólidos (SG) se observa una reducción significativa (42%) para las muestras con alginato respecto de sus pares sin recubrir. Este patrón se repite en los valores de sólidos solubles obtenidos para las muestras sin recubrimiento (46,0 ºBx) y las muestras recubiertas (38,3 ºBx). Numerosos estudios han remarcado la potencialidad de las barreras comestibles para reducir la penetración de sólidos sin producir un efecto negativo en la velocidad de deshidratación durante la DO (Matuska et al. 2006; Jalaee et al. 2011). Los resultados encontrados en el presente trabajo para SG de las muestras DO-60-40 y DO-60-40_R son del orden de los publicados por Matuska et al. (2006). Con respecto a la relación WL/SG, las muestras recubiertas presentaron un mayor valor (7,6 ± 0,9) respecto de las muestras sin recubrir (4,6 ± 0,7), lo cual es indicativo de que la aplicación del recubrimiento de alginato en las frutillas promueve la deshidratación sobre la ganancia de sólidos, en la DO, considerándose un proceso más eficiente.

Tabla 2. Parámetros característicos de DO en láminas de frutillas frescas y recubiertas (media ± DE).

Experiencias	*WR[1] (%)*	*WL (%)*	*SG (%)*	*WL/SG*	*ºBx$_{ini}$*	*ºBx$_{fin}$*
DO-60-40	53,0 ± 3,9[a2]	65,6 ± 0,6[b]	14,6 ± 0,4[b]	4,6 ± 0,7[a]	8,6 ± 0,8[b]	46,0 ± 4,4[b]
DO-60-40_R	54,3 ± 0,6[a]	62,7 ± 2,0[a]	8,4 ± 1,3[a]	7,6 ± 0,9[b]	7,3 ± 0,0[a]	38,3 ± 3,4[a]

[1] WR: reducción de peso, WL: pérdida de agua, SG: ganancia de sólidos, ºBx$_{ini}$: ºBrix de las muestras al inicio, ºBx$_{fin}$: ºBrix de las muestras al final de la DO. [2] Distintas letras para la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias (Fisher LSD; 0,05).

Cinéticas de secado

En la **Fig. 3** se muestran las cinéticas de secado con MO de frutillas frescas y recubiertas, con y sin tratamiento previo de DO. Como se puede observar, las muestras frescas (FR y FR_R) presentaron un comportamiento casi idéntico durante el proceso de secado con MO, lo que indica que el recubrimiento no afectaría a la cinética de secado de las frutillas. Resultados similares se obtuvieron al comparar las curvas de secado de las frutillas con y sin hidrogel que habían sido sometidas a un tratamiento previo de DO (DO_R y DO, respectivamente). Estos resultados son esperables si se considera que los recubrimientos de alginatos son compuestos altamente hidrofílicos que presentan una barrera limitada al flujo de agua (Tavassoli-Kafroni et al. 2016). Aunque se ha descrito que en determinadas condiciones la presencia de recubrimientos enlentece el transporte de agua (Nussinovitch 2009), el recubrimiento ubicado en la superficie de las frutillas es capaz de interactuar en forma directa con las MO y el producto se deshidrata en forma unificada (alimento + recubrimiento).

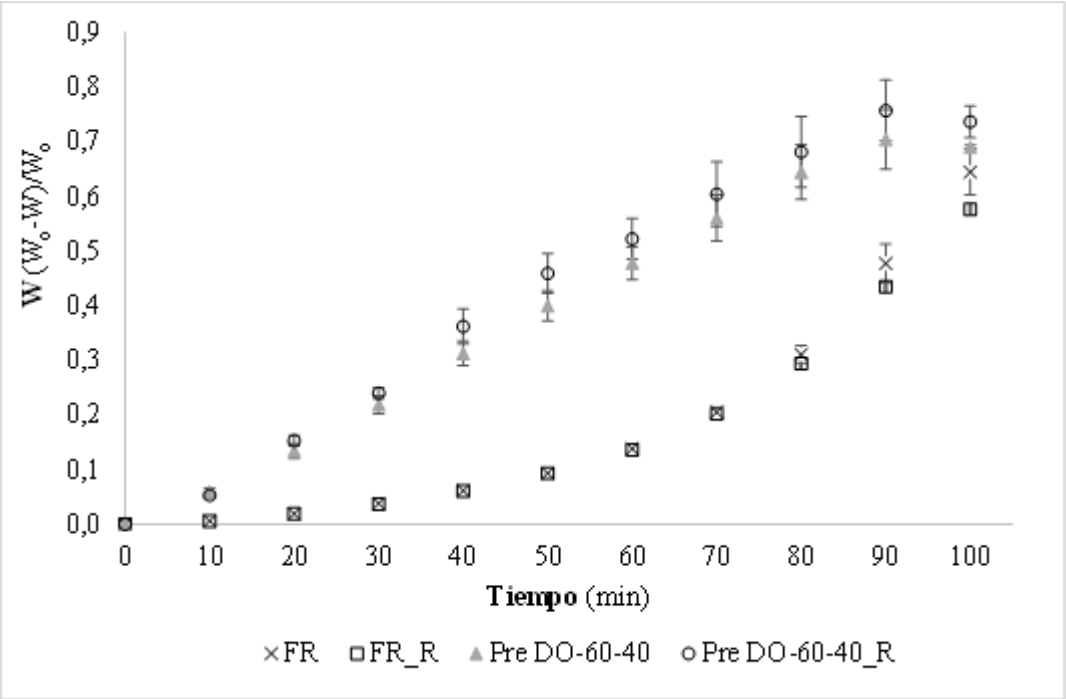


Fig. 3. Resultados experimentales de pérdida de humedad (expresado como humedad adimensional) durante el secado con MO de frutillas con recubrimiento y sometidas a tratamiento previo de DO. W: humedad adimensional; W_0: humedad al inicio del proceso de secado con MO; W: humedad en función del tiempo.

Modelado de las cinéticas de secado

En la **Fig. 4** se observa, a modo de ejemplo, la curva de secado con MO experimental obtenida para las muestras pre-tratadas DO-60-40_R y la curva ajustada con el modelo difusional. Puede verse cómo el modelo subestima los valores iniciales y sobrestima los finales. Este comportamiento había sido descrito anteriormente para mitades de frutillas sometidas a tratamientos combinados de secado con aire caliente (40ºC) y MO (0,2 W/g) (Contreras et al. 2008). De la estimación del coeficiente de D_e y el cálculo de varianza (VAR) se obtuvieron los resultados presentados en la **Tabla 3**. Los valores de D_e identificados en el presente trabajo fueron del orden de los reportados por García-Noguera et al. (2010) para frutillas frescas y sometidas a pre-tratamientos de DO asistidos por ultrasonidos (US) (10-45 min, 25-50% w/w sacarosa, frecuencia US: 0-40 kHz) con un secado convectivo posterior (60 ºC, 0,5 m/s). Sin embargo, dichos valores fueron superiores a los existentes en la literatura para frutillas deshidratadas por otras técnicas que muestran

órdenes de magnitud para la D_e en el rango 10^{-9}-10^{-11} m^2/s (Doymaz 2008, Gamboa-Santos et al. 2014). Las diferencias pueden atribuirse a la complejidad de mecanismos de transferencia de materia involucrados durante el secado con MO: difusión de agua, líquido, vapor; flujo capilar, difusión de Knudsen y flujo hidrodinámico comparado con los tratamientos convencionales o con asistencia de US (Arballo et al. 2012). Para el análisis de los resultados expuestos aquí se consideró que la totalidad de los mecanismos antes mencionados estaban incluidos en el cálculo de la difusividad de materia (D_e) obtenida a partir de la Ley de Fick (ecuación 4).

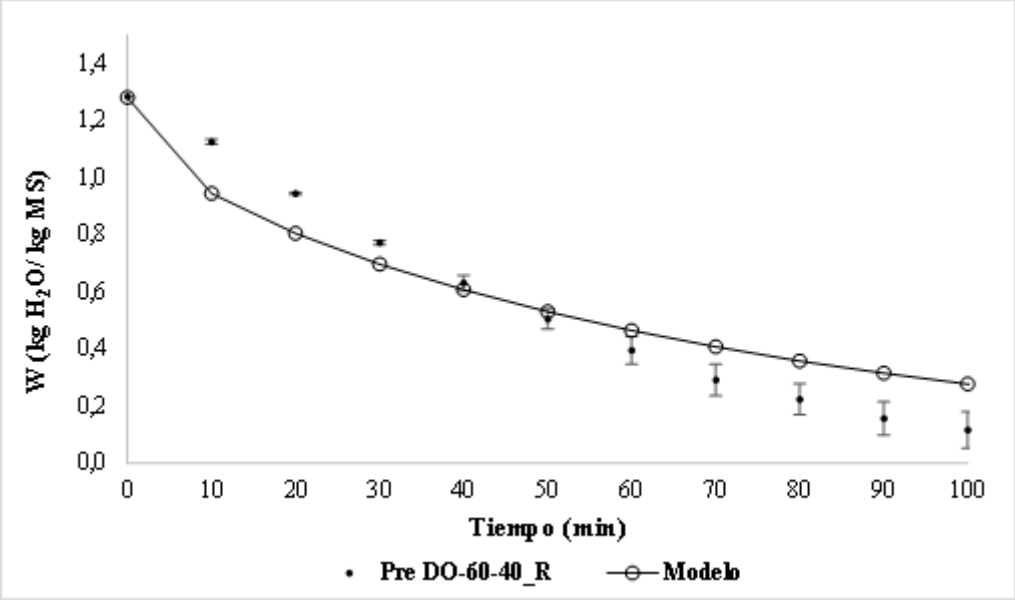


Fig. 4. Curva de secado experimental MO y ajuste del modelo difusional para láminas de frutillas recubiertas pre-tratadas osmóticamente (corresponde a la experiencia DO-60-40_R).

En la **Tabla 3** se muestra que la aplicación del tratamiento previo de DO dio lugar a un leve incremento, aunque no significativo (LSD; 0,05), en las D_e durante el secado con MO. Este resultado es coincidente con los datos de la bibliografía que afirman que la aplicación de pre-tratamientos de DO acelera la velocidad de secado posterior (Rodrigues y Fernandes 2007, Fernandes et al. 2008, Ozkoc et al. 2014). Con respecto a los parámetros estadísticos, para las muestras FR y FR_R el modelo proporcionó porcentajes de VAR inferiores al 97%. Sin embargo, para las muestras que previamente habían sido sometidas a tratamiento de DO (con y sin recubrimiento) el modelo ajustó mejor los datos experimentales, superando valores de varianza del 99% (DO-60-40_R en **Figura 4**). Estos resultados podrían indicar que el mecanismo de difusión fue más apropiado para explicar la pérdida de humedad durante el secado con MO de las muestras previamente sometidas a DO (DO-60-40 y DO-60-40_R), comparado con los tratamientos donde se aplica únicamente la etapa de MO (FR y FR_R). El error medio relativo (EMR), para todas las experiencias, se encontró en el rango 13-20%; estos resultados sugieren que otros fenómenos físicos, como la resistencia externa al flujo de materia, el encogimiento y otros mecanismos implicados en la deshidratación con MO no considerados, podrían tener una influencia significativa sobre la cinética de pérdida de humedad de las frutillas ensayadas en el presente trabajo. Otros autores mencionaron previamente que los patrones cinéticos observados durante un proceso convencional de secado con aire se modificaban drásticamente cuando se aplicaba MO (Contreras et al. 2008).

Tabla 3. Parámetros estimados y resultados estadísticos (media ± DE).

Experiencias	D_e (*$10^7 m^2/s$)	*VAR (%)*
FR	2,28±0,08[a1]	96,85
FR_R	2,27±0,32[a]	97,02
DO-60-40	2,59±0,23[a]	99,37
DO-60-40_R	2,81±0,58[a]	99,12

[1]Distintas letras indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias (Fisher LSD; 0,05).

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se ha ensayado la aplicación de recubrimientos comestibles de alginato-lactato a frutillas sometidas a deshidratación osmótica y posterior secado con microondas. De los resultados obtenidos se ha podido concluir que la aplicación de recubrimientos a láminas de frutillas durante las condiciones evaluadas de deshidratación osmótica constituye un procedimiento eficaz para reducir la ganancia de sólidos de manera significativa sin afectar la pérdida de agua. Sin embargo, durante el posterior secado con microondas no se evidenció un efecto significativo sobre la velocidad de secado de las frutillas recubiertas respecto del control sin recubrir. El modelado matemático de las cinéticas de secado permitió observar un incremento, no significativo, en la difusividad efectiva de materia debido a la aplicación del pre-tratamiento de deshidratación osmótica, independientemente de la presencia de recubrimiento.

BIBLIOGRAFÍA

Ahmed I, Qazi IM, Jamal S. 2016. Developments in osmotic dehydration technique for the preservation of fruits and vegetables. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 34: 29-43.

AOAC. 1997. Method 934.06. En: Helrich K. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15va ed. Vol. 1. Arlington: Association of Official Analytical Chemists.

Arballo JR, Campañone LA, Mascheroni RH. 2012. Modeling of microwave drying of fruits. Part II: Effect of osmotic pretreatment on the microwave dehydration process. Drying Technology, 30: 404 – 415.

Contreras C, Martín-Esparza ME, Chiralt A, Martínez-Navarrete N. 2008. Influence of microwave application on convective drying: Effects on drying kinetics, and optical and mechanical properties of Apple and strawberry. Journal of Food Engineering, 88: 55-64.

De Bruijn J, Bórquez, R. 2014. Quality retention in strawberries dried by emerging dehydration methods. Food Research International, 63: 42-48.

Doymaz I. 2008. Convective drying kinetics of strawberry. Chemical Eng. and Proc., 47: 914-919.

Falade KO, Igbeka, JC. 2007. Osmotic dehydration of tropical fruits and vegetables. Food Review International, 23: 373-405.

Fernandes FAN, Rodrigues S. 2008. Dehydration of sapota (Achras sapota L.) using ultrasound as pretreatment. Drying Technology 26: 1232–1237.

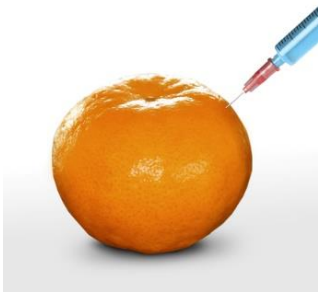
Gamboa-Santos J, Montilla A, Cárcel JA, Villamiel M, García-Pérez JV. 2014. Air-borne ultrasound application in the convective drying of strawberry. Journal of Food Engineering, 128: 132-139.

García-Noguera J, Oliveira FIP, Gallâo MI, Weller CL, Rodrigues S, Fernandes FAN. 2010. Ultrasound-assisted osmotic dehydration of strawberries: Effect of pretreatment time and ultrasonic frequency. Drying Technology, 28 (2): 294-303.

Ispir A, Tôgrul DT. 2009. Osmotic dehydration of apricot: kinetics and the effect of process parameters. Chemical Engineering Research and Design, 87: 166-180.

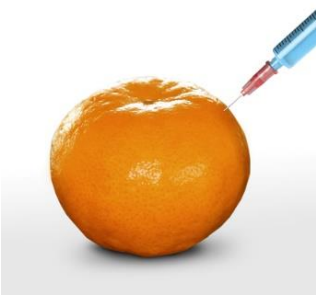
Jalaee F, Fazeli A, Fatemian H, Tavakolipour H. 2011. Mass transfer coefficient and the characteristics of coated apples in osmotic dehydrating. Food and Bioproducts Proc., 89: 367-374.

Khin MM, Zhou W, Perera CO. 2006. A study of the mass transfer in osmotic dehydration of coated potato cubes. Journal of Food Engineering, 77: 84-95.



Lago-Vanzela ES, do Nascimento P, Fontes EAF, Mauro MA, Kmura M. 2013. Edible coatings from native and modified starches retain carotenoids in pumpkin during drying. LWT – Food Science and Technology, 50: 420-425.
Matuska M, Lenart A, Lazarides HN. 2006. On the use of edible coatings to monitor osmotic dehydration kinetics for minimal solids uptake. Journal of Food Engineering, 72: 85-91.
Megías-Pérez R, Gamboa-Santos J, Soria AC, Villamiel M, Montilla A. 2014. Survey of quality indicators in commercial dehydrated fruits. Food Chemistry, 150: 41-48.
Mundada M, Hathan BS, Maske S. 2011. Mass transfer kinetics during osmotic dehydration of pomegranate arils. Journal of Food Science, 75: 31-39.
Nussinovitch A. 2009. Biopolymer films and composite coatings. En: Kasapis S, Norton IT, Ubbink JB. Modern biopolymer science: Bridging the divide between fundamental treatise and industrial application. London: Academic Press. pag 295-326.
Ozkoc SO, Sumnu G, Sahin S. 2014. Recent development in microwave heating. En: Da-Wen Sun (Ed.). Emerging technologies for Food Processing. London: Academic Press. pag 361-383.
Piotrowski D, Lenart A, Wardzyñski A. 2004. Influence of osmotic dehydration on microwave-convective drying of frozen strawberries. Journal of Food Engineering, 65: 519-525.
Rastogi NK, Raghavarao KSMS, Niranjan K. 2014. Recent developments in Osmotic Dehydration (Chapter 11). En: Emerging Technologies for Food Processing (2nd Ed). London: Academic Press. pag 181-212.
Rodrigues S, Fernandes FAN. 2007. Ultrasound in fruit processing. En: Urwaye AP. New Food Engineering Research Trends. New York: Nova Science Publishers. pag 103–135.
Rodríguez A. 2014. Comparación de métodos combinados (Ósmosis Directa-Microondas y Secado Convectivo por Aire Caliente-Microondas) para la deshidratación de frutos del bosque y evaluación del equilibrio sorcional de los productos finales. Tesis Doctoral (UNLP).
Simal S, Femenia A, García-Pascual P, Rosselló C. 2003. Simulation of the drying curves of a meat-based product: Effect of the external resistance to mass transfer. Journal of Food Engineering, 58: 193-199.
Tavassoli-Kafroni E, Shekarchizadeh H, Masoudpour-Behabadi M. 2016. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. Carbohydrate Polymers, 137: 360-374.

AGRADECIMIENTOS
Este trabajo ha sido financiado por el CONICET y la UNLP, bajo el proyecto PIP 0231; J.G.S. agradece además al CONICET por el disfrute de una beca posdoctoral de reinserción de investigadores.



Caracterización física y obtención de parámetros de fluidización de germen de trigo

Gili R.D.[1], Torrez Irigoyen R.M.[2], Meriles S.P.[1], Penci M.C.[1], Giner S.A.[2], Ribotta P.D.[1]

(1) Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICYTAC), CONICET-UNC. Juan Filloy s/n ,Córdoba, Argentina.
(2) Centro de Investigación y Desarrollo en Criogenia de Alimentos (CIDCA), CONICET-UNLP, Calle 47 y 116, La Plata, Buenos Aires, Argentina.
renatogili@agro.unc.edu.ar

RESUMEN

El germen de trigo es el embrión del grano de trigo, presenta un elevado contenido de tocoferoles y proteínas y ácidos grasos y proteínas de alta calidad. A su vez, contiene enzimas con elevada actividad que limitan su periodo de aptitud a unos pocos días. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar físicamente las partículas de germen de trigo para determinar los parámetros de diseño para un proceso de fluidificación térmica con aire. Los ejes principales de las partículas fueron determinados mediante análisis de imágenes y sus dimensiones y parámetros geométricos fueron calculados. La densidad de lecho fijo y la porosidad del lecho fueron determinadas. Los estudios fluido-dinámicos nos permitieron determinar los coeficientes, laminar (277,46±17,48) y turbulento (7,79±0,69) de la ecuación de Ergun y la velocidad de mínima fluidificación (0,35±0,02 m/s).

Palabras Clave: Germen de trigo, Lecho fluidizado, Caracterización física de partículas, Velocidad de mínima fluidización.

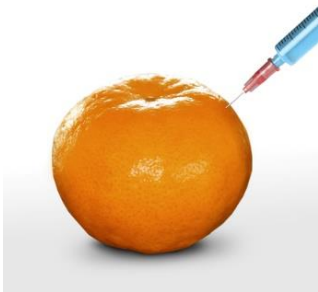
ABSTRACT

Wheat germ is the embryo of de wheat seed, it contains a high tocopherol and protein content, and high quality proteins and fatty acids. Also, wheat germ has a considerable enzymatic activity that limits its shelf life. The aims of the study were to physically characterize wheat germ particles to determine their design parameters of thermal fluidization process with air. The principal axes of the particle were measured by image analysis, and their dimensions and geometric parameters were calculated. The fixed bed density and the void fraction were measured. The fluid-dynamic studies allowed us to determine laminar (277.46±17.48) and turbulent (7.79±0.69) coefficients of the Ergun equation and the minimum fluidization velocity (0.35±0.02 m/s).

Key words: Wheat germ; Fluidisation; Physical particle characterization, mínimum fluidization velocity.

ABREVIATURAS

A_p	Área superficial de partícula, m^2
D	Diámetro de cámara de fluidificación, m
D_p	Diámetro efectivo de partícula, m
D_e	Diámetro equivalente de partícula, m
f_c	Factor de Coulson para efectos de pared, adimensional
g	Aceleración de la gravedad promedio, m s^{-2}
K_1	Coeficiente laminar, ecuación de Ergun
K_2	Coeficiente turbulento, ecuación de Ergun
L_{mf}	Altura de lecho fluidizado a la mínima velocidad de fluidificación, m
L_0	Altura de lecho fijo, m
l_1	Eje mayor de la partícula de germen de trigo, mm



l_2	Eje intermedio de la partícula de germen de trigo, mm
l_3	Eje menor de la partícula de germen de trigo, mm
l_m	Promedio de l_2 y l_3, mm
M_a	Masa molar del aire, kg kmol^{-1}
p	Presion absoluta al nivel del mar, 1.01325 x 10 ^{5} Pa
R	Constante universal de gases, 8314 J kmol^{-1} K^{-1}
s	Error standard de la estimación
T_c	Temperatura, °C
T_k	Temperatura, K
V_0	Velocidad superficial de aire, m s^{-1}
V_{mf}	Velocidad de mínima fluidificación, m s^{-1}
V_f	Velocidad de fluidificación operativa, m s^{-1}
V_p	Volumen de partícula, m^3
W	Contenido de humedad del germen de trigo, kg agua/ kg materia seca

Simbolos Griegos

π	Constante
Δp	Caída de presión estática a través del lecho, Pa
ε_0	Fracción de huecos del lecho fijo, adimensional
ε_{mf}	Fracción de huecos del lecho a la mínima velocidad de fluidificación, adimensional
ρ_p	Densidad de partícula, kg m^{-3}
ρ_{B0}	Densidad de lecho fijo, kg m^{-3}
ρ_a	Densidad de aire, kg m^{-3}
μ_a	Viscosidad de aire, kg m^{-1} s^{-1}
ψ	Factor de esfericidad, adimensional

INTRODUCCIÓN

La producción de trigo en Argentina es una actividad económica muy importante, actualmente Argentina produce alrededor de 14 millones de toneladas al año de las cuales 5.8 millones de toneladas son molidas para obtener harina de trigo (F.A.I.M. 2016). Esta actividad industrial produce grandes cantidades de germen de trigo (producto secundario en el proceso de elaboración de harina de trigo) lo que lo convierten en un subproducto abundante y de bajo costo. El germen de trigo es el embrión del grano y representa entre el 2 y 3% del peso del grano. El germen contiene entre 8-14 g/100 g de aceite (Capitani et al. 2011), a su vez presenta proteínas y ácidos grasos de alta calidad, un gran contenido de tocoferoles, vitaminas B, fibra dietaria, aminoácidos esenciales y fotoquímicos funcionales tales como los flavonoides y los esteroles (Marti et al., 2014). A pesar de esas destacadas características nutricionales que presenta el germen de trigo, el germen presenta una considerable actividad enzimática debido a que contiene las enzimas lipasa y lipoxigenasa (Shurpalekar and Rao 1977). Estas enzimas son las responsables del deterioro de la calidad del aceite de germen de trigo generando acidez y compuestos volátiles limitando su vida útil a solo unos pocos días (Sjövall et al. 2000). A causa de la actividad de estas enzimas, diversos procesos de estabilización de germen de trigo fueron desarrollados, entre ellos: aplicación de calor (procesos térmicos) (Ferrara P.J & Benson J.T. 1991), irradiación (Jha et al. 2013), procesos de deshidratación (Rothe 1963) o conservación química, como por ejemplo mediante la adición de antioxidantes (Barnes 1948) o álcalis (Grandel 1959). Los procesos térmicos demostraron ser efectivos en la estabilización del germen de trigo, uno de esos, la fluidización, promueve un intenso intercambio entre el material y el aire caliente, lo cual genera un tratamiento uniforme al material que se está fluidizando (Giner and Calvelo 1987). Las características físicas de las hojuelas de germen de trigo (baja densidad y superficie no pegajosa) lo convierten en un material apto para ser estabilizado mediante un tratamiento térmico por fluidificación. Yöndem-Makascıoglu et al. (2005) utilizaron un *spouted bed* (un tipo especial de lecho fluidizado) para estabilizar el germen de trigo. Estos autores determinaron que el tratamiento térmico puede extender la vida útil del germen de trigo sin

estabilizar unas 20 veces y, además el tostado por irradiación le otorga un color dorado y un placentero olor a nuez. A pesar de haber utilizado la fluidificación para estudiar el proceso de estabilización de germen de trigo, no fue propuesto un modelo matemático para analizar el secado mediante lecho fluidizado de germen de trigo. El adecuado modelado y optimización del proceso de secado mediante fluidificación requiere conocer las características físicas de las partículas y los parámetros de diseño de la fluidificación. Es por ello que los objetivos del presente trabajo fueron caracterizar físicamente las partículas de germen de trigo y determinar sus parámetros de diseño para el proceso térmico de fluidificación con aire.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El germen de trigo fue suministrado por una empresa molinera local (JOSE MINETTI Y CIA. LTDA. S.A.C.I, Córdoba, Argentina) luego de la molienda (cosecha 2014).

Operaciones preliminares

El germen de trigo fue tamizado (EJR 2000, Zonytest®) para separarlo de las partículas de harina y salvado, el porcentaje de retención fue de 93.3±0.3 (g/100 g de germen de trigo). Las partículas de germen de trigo fueron retenidas en una malla mesh 20 (0,841 mm) y luego fueron almacenadas a -18 °C en un envase tri-capa (poliéster, aluminio, polietileno) con barreras al oxígeno y luz hasta el posterior uso.

Contenido de humedad

El contenido de humedad fue determinado de acuerdo al método standard AOCS (2009).

Caracterización geométrica mediante análisis de imágenes

Los ejes principales de las partículas de germen de trigo fueron medidos mediante análisis de imágenes. Las imágenes fueron tomadas con una cámara digital Canon Power Shot S70 montada en una lupa Leica S8 APO utilizando una resolución de 7,1 mega pixeles. Dos fotografías de cada partícula de germen de trigo fueron tomadas (50 partículas), una con las partículas siendo observadas desde una vista en plano y la otra desde una vista lateral. Cada fotografía incluyó una circunferencia de diámetro conocido como referencia (0.0006 m). Las imágenes obtenidas fueron procesadas mediante el software ImageJ 1.48v (disponible como software libre en http://rsb.info.nih.gov/ij/).

Una geometría elipsoidal fue seleccionada para describir la forma de las partículas de germen de trigo. Para calcular el área superficial (A_p) y el volumen de partícula (V_p), los tres ejes principales fueron utilizados como datos en la siguiente formula (Gastón et al. 2002):

$$A_p = \frac{\pi}{2} l_1 l_m \left[\frac{l_m}{l_1} + \frac{1}{U}\sin^{-1} U\right] \quad (1)$$

donde

$$U = \frac{(l_1^2 - l_m^2)^{1/2}}{l_1} \quad (2)$$

$$l_m = \frac{(l_2 + l_3)}{2} \quad (3)$$

$$V_p = \frac{\pi}{6}\, l_1 l_2 l_3 \quad (4)$$

El factor de esfericidad (ψ) fue calculado con la siguiente formula (Torrez Irigoyen and Giner 2011):

$$\psi = \frac{\pi D_e^2}{A_p} \quad (5)$$

donde D_e es el diámetro equivalente de la partícula de germen de trigo, el cual representa el diámetro de una

esfera con el mismo volumen que el de la partícula de germen de trigo.

$$D_p = \psi D_e \quad (6)$$

El diámetro efectivo (D_p) representa una esfera con la misma relación superficie-volumen que la de la partícula de germen de trigo (Torrez Irigoyen and Giner 2011). El valor D_p es relevante como dimensión característica de la partícula para los estudios fluido-dinámicos de lechos fijos.

Secador de lecho fluidizado

El equipo utilizado fue construido con fines de investigación en el taller de la Facultad de Ingeniería de la Universidad nacional de La Plata, Argentina. El equipo consta de (i) cámara de secado aislada, 0,10 m de diámetro interno y 0,30 m de alto con una ventana de inspección de doble vidrio; (ii) anemómetro de hilo caliente para medir las velocidades superficiales de aire a través del lecho (0- 20 m/s, con un error de 0,03 m/s), (iii) un micromanómetro Testo 525 (0–25 hPa, con un error de 0.2% a fondo de escala) para medir diferencias en la presión del aire a través del lecho; (iv) un controlador de temperatura Novus Model N321; y(v) un ventilador centrífugo, alimentado con un motor eléctrico Siemens (velocidad angular máxima, 2800 rev/min). Dos resistencias en "U" de níquel-plata-cobre de 8 mm de diámetro capaces de calentar el aire hasta 325°C. La velocidad del aire es controlada a través del ventilador que es regulado con un variador de frecuencias WEG Modelo CFW-08, Brasil.

Determinación de la densidad de lecho fijo y la fracción de huecos

La densidad de lecho fijo se midió en la cámara de secado con las partículas de germen de trigo. Cien gramos de germen de trigo fueron pesados (1500 g-OHAUS balanza de precisión, precisión 0.01 g) y cargados a la cámara de secado. Las partículas fueron llevadas hasta la condición de fluidificación y luego se las volvió a la condición de lecho fijo nuevamente, este paso se realizó para estandarizar el empaquetamiento de las partículas en el lecho.

La altura de lecho fijo (L_0) fue medida (n=3) y la densidad de lecho fijo (ρ_{B0}) fue calculada dividiendo la masa de germen de trigo por el volumen del lecho, formado por el volumen de las partículas más los huecos. La masa de aire en los huecos fue despreciada.

La relación entre la densidad de lecho y la densidad de partícula (ρ_p) brinda la fracción de lecho ocupada por las partículas de germen de trigo. En consecuencia, la fracción de huecos del lecho fijo (ε_0) se calculó con la siguiente formula:

$$\varepsilon_0 = 1 - \frac{\rho_{B0}}{\rho_p} \quad (7)$$

Estudio de la fluidodinámica en condiciones de lecho fijo y fluidizado

La velocidad de mínima fluidificación (V_{mf}) de las partículas de germen de trigo fue determinada como parámetro basado en datos experimentales. Para obtenerla, la caída de presión a través del lecho fue medida a 25°C con el instrumento mencionado en la sección 2.5 como una función de la velocidad superficial de aire en el rango que comprende la zona de lecho fijo, la zona de transición entre lecho fijo y fluidizado y la zona de lecho fluidizado.

Los datos correspondientes a la zona de lecho fijo fueron utilizados para determinar los dos parámetros (K_1 y K_2) de la expresión de Ergun (1952). (Ec. (9)). Luego, el valor de V_{mf} fue determinado mediante un procedimiento (Torrez Irigoyen and Giner 2011) para estados fijo y fluidizado como se describe en la siguiente sección.

Determinación de los parámetros de la ecuación de Ergun

El comportamiento de las partículas de germen de trigo dentro de la cámara de fluidificación fue analizado mediante la medición de la caída de presión de aire y de la velocidad superficial de aire. La caída de presión de aire por unidad de altura de lecho ($\Delta p/L_0(1-\varepsilon_0)$) fue graficada en función de la velocidad superficial de aire (V_0).

El factor de Coulson (f_c) fue utilizado para corregir la V_0 (multiplicándola por f_c) en la región de lecho fijo.

Este factor considera los efectos causados por la pérdida del empaquetamiento del lecho en las cercanías de las paredes de la cámara de secado.(Coulson et al. 1991)

$$f_c = \frac{1}{\left[1+\frac{\left(\frac{4}{D}\right)}{2\left(\frac{6}{D_e}\right)}\right]^2} \quad (8)$$

Para las partículas de germen de trigo el f_c fue de 0.993 por lo que los efectos de pared para este sistema fueron considerados como leves.
Para la zona de lecho fijo, la ecuación tipo Ergun (Ergun 1952) fue ajustada a los datos experimentales:

$$\frac{\Delta p}{L_0(1-\varepsilon_0)} = K_1 \frac{(1-\varepsilon_0)\mu_0}{D_p^2 \varepsilon_0^3} V_0 + K_2 \frac{\rho_a}{D_p \varepsilon_0^3} V_0^2 \quad (9)$$

Los coeficientes laminar y turbulento, K_1 y K_2, fueron determinados por Ergun, 1952, para pequeñas partículas inorgánicas, como 150 y 1,75 respectivamente. Delele et al. (2008) informaron que esos valores dependen de las características del producto, particularmente para grandes partículas, y que los mismos deben ser determinados experimentalmente ajustando los datos a una ecuación tipo Ergun. La adecuada selección de los datos correspondiente a la región de lecho fijo se llevó a cabo según lo realizado por Torrez Irigoyen and Giner (2011).
La Ec. (9) fue dividida en ambos miembros por V_0 con el fin de representarla como una recta:

$$\frac{\Delta p}{L_0(1-\varepsilon_0)V_0} = K_1 \frac{(1-\varepsilon_0)\mu_0}{D_p^2 \varepsilon_0^3} + K_2 \frac{\rho_a}{D_p \varepsilon_0^3} V_0 \quad (10)$$

Entonces, luego de reorganizar los datos experimentales de acuerdo con la Ec. (10) y de graficarlos en función de V_0, el comportamiento de la zona de lecho fijo debería ser representado por una tendencia lineal. Luego de haber seleccionado los datos de la zona de lecho fijo de acuerdo a lo realizado por Torrez Irigoyen and Giner (2011), la forma cuadrática de la ecuación tipo Ergun Ec.(9) fue utilizada, ya que la misma usualmente otorga mejores ajustes que la versión lineal. Ec. (10). El ajuste de los datos experimentales fue realizado mediante el software estadístico Statgraphic Centurion XV v 15.1.02, USA. Los resultados de los ajustes fueron obtenidos mediante el método no lineal de mínimos cuadrados.

Determinación de la velocidad de mínima fluidificación

Cuando la velocidad del fluido genera una caída de presión a través del lecho que, multiplicada por el área de la sección transversal iguala al peso del producto en el fluido, la velocidad de mínima fluidificación (V_{mf}) es alcanzada. El peso del producto en el fluido se obtuvo mediante la diferencia entre el peso del producto y la fuerza de flotabilidad en el fluido (Werther 1999). Luego de realizar operaciones matemáticas, el área de la sección transversal fue cancelada y la expresión matemática se transformó en:

$$\Delta p = (\rho_p - \rho_a) g (1 - \varepsilon_{mf}) L_{mf} \quad (11)$$

Asumiendo que la masa permanece constante desde la zona de lecho fijo a la zona de lecho fluidizado, a ambos lados del punto de velocidad de mínima fluidificación, la siguiente expresión matemática es válida:

$$(1 - \varepsilon_{mf}) L_{mf} = (1 - \varepsilon_0) L_0 \quad (12)$$

Al reemplazar la Ec. (12) en la Ec. (11) obtenemos:

$$\frac{\Delta p}{L_0(1-\varepsilon_0)} = (\rho_p - \rho_a) g \quad (13)$$

Luego, el miembro izquierdo de la Ec. (13) fue reemplazado por el miembro derecho de la Ec. (9) evaluada a V_{mf}, en consideración al hecho de que la V_{mf} nominalmente pertenece a ambos estados, fijo y fluidizado.

$$K_2 \frac{\rho_a}{D_p \varepsilon_0^3} V_{mf}^2 + K_1 \frac{(1-\varepsilon_0)\mu_0}{D_p^2 \varepsilon_0^3} V_{mf} - (\rho_p - \rho_a) g = 0 \qquad (14)$$

V_{mf} es la solución de esta expresión matemática y tiene un significado físico. Para obtener este resultado, la aproximación $\varepsilon_{mf} \approx \varepsilon_0$ fue utilizada porque la determinación de ε_{mf} es dificultosa de llevar a cabo durante la fluidificación y el procedimiento usualmente no otorga valores fiablemente diferentes de ε_0. El valor de la densidad de partícula (ρ_p) se obtuvo del trabajo publicado por KIM et al. (2003).
La viscosidad del aire (μ_0) y su densidad (ρ_a) fueron calculadas en función de la temperatura con las siguientes ecuaciones: (Formisani et al. 1998).

$$\mu_0 = 1.735\ x\ 10^{-5} + 4.318\ x\ 10^{-8}\ T_C \qquad (15)$$

$$\rho_a = \frac{PM_a}{RT_K} \qquad (16)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización geométrica mediante análisis de imágenes

Un total de 50 partículas de germen de trigo fueron medidas mediante análisis de imágenes. Los tres ejes principales fueron medidos utilizando una referencia circular en las imágenes. (**Fig. 1**).

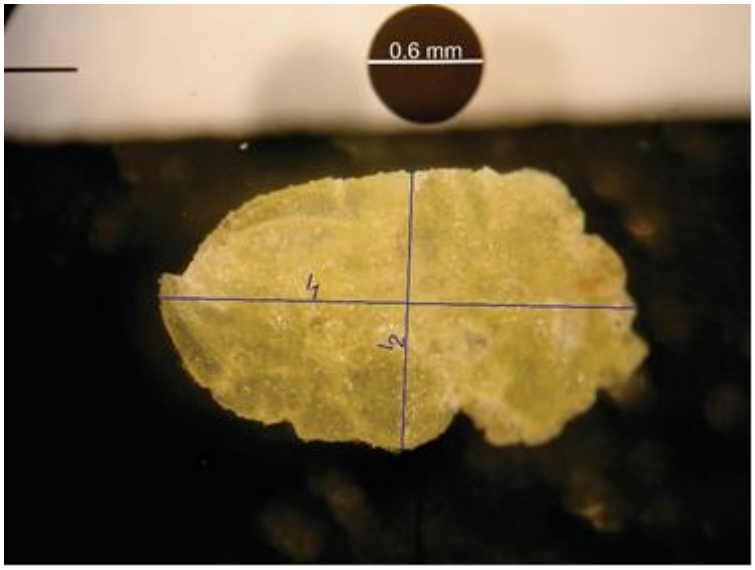


Figura 1. Vista en plano de la partícula de germen de trigo con los ejes principales l_1 y l_2 y la circunferencia utilizada como referencia.

En la **Tabla 1** se muestran los valores medidos de los ejes principales y los valores calculados de área superficial, volumen de partícula, diámetro equivalente y diámetro efectivo. (Ec. 1 a 6).

Tabla 1. Propiedades de las partículas de germen de trigo determinadas mediante análisis de imágenes.

	Media	Min	Max	Unidad
l_1	2,28	1,65	3,39	mm
l_2	1,59	1,19	2,13	mm
l_3	0,29	0,17	0,41	mm
A_p	5,26	3,65	9,21	mm^2
V_p	0,49	0,24	0,97	mm^3
□ □	0,969	0,766	1,223	mm
□ □	0,623	0,366	0,849	mm
□	0,62	0,477	0,79	Adimensional

n=50

Determinación de los parámetros de Ergun

La caída de presión a través del lecho por unidad de altura de lecho fue graficada en función de la velocidad superficial de aire para el germen de trigo. A bajas velocidades, se observó una pendiente creciente y una forma cóncava de la curva, este comportamiento es comparable con lo publicado por otros autores (Torrez Irigoyen and Giner 2011, Sau et al. 2007) y es considerado como comportamiento típico para la región de lecho fijo. A velocidades de aire mayores la curva presenta un comportamiento horizontal.

La región de lecho fijo se determinó mediante el arreglo de los datos experimentales de acuerdo a lo indicado por el miembro izquierdo de la Ec. (10) graficados en función de □$_0$. La zona de lecho fijo se caracteriza por un comportamiento regular, para esta partícula en particular, el comportamiento regular se produjo hasta los 0,26 m/s, luego de esa velocidad el comportamiento observado se volvió irregular. A partir de esas observaciones, la región e lecho fijo fue determinada en la región de velocidad de aire de 0,05-0,26 m/s.

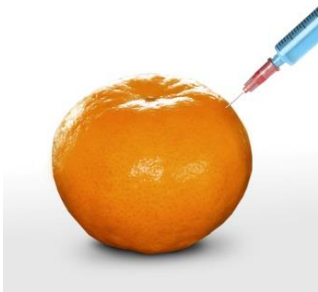
Una vez delimitada la zona pura de lecho fijo, los datos experimentales fueron reacomodados de acuerdo a como indica el miembro izquierdo de la Ec. (9) en función de □$_0$ y luego la forma parabólica de la ecuación de tipo Ergun (Ec.9) fue ajustada a los datos experimentales utilizando la porosidad de lecho y el diámetro efectivo informados en la **Tabla 2**. Los parámetros obtenidos (K_1 y K_2) fueron 277.46 (17.48) y 7.79 (0.69) respectivamente, el correspondiente error asintótico standard (ASE) se encuentra entre paréntesis. El coeficiente de determinación corregido (r^2) fue de 0,994.

Tabla 2. Propiedades de lecho fijo determinadas.

ρ_p	1234,23	kg/m^3
ρ_{B0}	413,83	kg/m^3
L_0	0,03	m
ε_0	0,664	Adimensional

Como se mencionó previamente en la sección 2.8, K_1 y K_2 dependen de las características de la partícula, principalmente en la rugosidad de la superficie, tamaño y forma (Escardino et al. 1974). Los valores obtenidos fueron mayores a los informados por Torrez Irigoyen and Giner, 2011 para granos de soja.

El valor determinado de K_1 en este trabajo, fue menor que el informado por Escardino et al., 1974 para granos de trigo, mientras que K_2 fue mayor que el correspondiente valor informado en el trabajo mencionado. Esto puede estar relacionado con la forma de las partículas, las partículas de germen de trigo son pequeñas y planas. Estas características pueden influir en el empaquetamiento de las mismas dentro de la



cámara de secado, generando abruptos cambios en la dirección del flujo de aire que percola a través el lecho fijo (Yang 2003). Además, las partículas de germen de trigo presentan una superficie rugosa, característica que contribuye a aumentar los valores de K_1 y K_2.
Esto está en concordancia con Molenda et al. (2005) quienes informaron que los granos con formas no esféricas y con tamaño aleatorio de partículas resultan en coeficientes K_1 y K_2 considerablemente mayores que los valores teóricos para partículas esféricas, lo que concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo.
La caída de presión predicha (línea) y experimental (símbolos) fueron graficadas en función de la velocidad superficial de aire utilizando los parámetros obtenidos en el ajuste de la ecuación de Ergun (**Fig. 2**). La concordancia de la caída de presión predicha y la experimental fue satisfactoria para las partículas de germen de trigo.

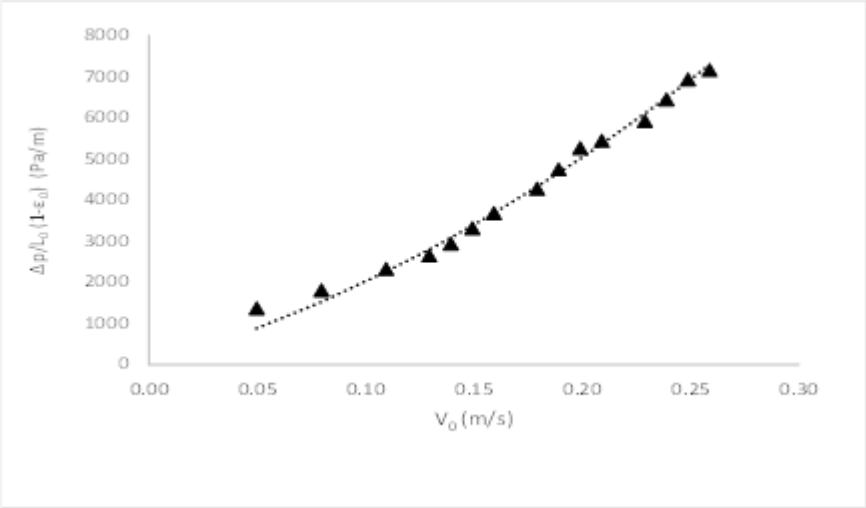


Figura 2. Caída de presión a través del lecho fijo por unidad de altura de lecho en función de la velocidad superficial de aire. Datos experimentales (▲), datos predichos con la ecuación de Ergun.

Determinación de velocidad de mínima fluidificación V_{mf}

La velocidad de mínima fluidificación fue obtenida a partir de la Ec. 14 utilizando los parámetros de partícula medidos (D_p, ε_0). Luego de resolver la Ec. (14), la V_{mf} para las partículas de germen de trigo en aire a ~25°C fue de 0,35±0,02 m/s. Esta velocidad de mínima fluidificación corresponde a un caudal de aproximadamente 0,003 m^3/s en el secador utilizado. Este caudal es bajo en comparación con los 0,011 m^3/s informados por Yöndem-Makascıoğlu et al. (2005) para estabilizar germen de trigo en un secador de lecho fluidizado del tipo "spouted".

CONCLUSIONES

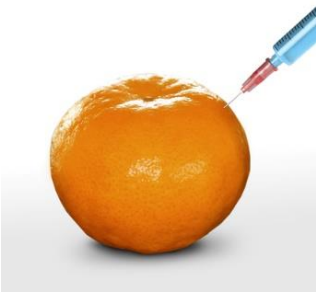
En la presente investigación algunas propiedades de la partícula de germen de trigo fueron caracterizadas mediante análisis de imágenes (V_p, A_p, ψ, D_p, D_e).
La densidad de lecho fijo y la porosidad de lecho fueron medidas. Las características fluido-dinámicas de la partícula de germen de trigo en lecho fijo fueron estudiadas, Los coeficientes laminar y turbulento (K_1 y K_2) de la ecuación de Ergun fueron ajustados a los datos experimentales obtenidos y la velocidad de mínima fluidificación de la partícula de germen de trigo fue 0,35±0,02 m/s, determinada a 25°C.

BIBLIOGRAFÍA

AOCS. (2009). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (5th

ed.). Champaign, Illinois, USA.
Barnes HM (1948).5-PentadecylIresorcinol as an oxidation inhibitor of glycerides. US Patent 2,448, 207.
Capitani, M., Mateo, C. M., & Nolasco, S. M. (2011). Effect of temperature and storage time of wheat germ on the oil tocopherol concentration. Braz. J. Chem. Eng, 28(02), 243–250. doi: 10.1590/S0104-66322011000200008
Coulson, J.M., Richardson, J.F., Harker, J.H., Backhurst, J., 1991. Chemical Engineering Volume 2: Particle Technology and Separation Processes, 5th ed, Chemical Engineering Science. Butterworth-Heinemann, Oxford. doi:10.1016/0009-2509(60)80030-9
Delele, M.A., Tijskens, E., Atalay, Y.T., Ho, Q.T., Ramon, H., Nicolaï, B.M., Verboven, P., 2008. Combined discrete element and CFD modelling of airflow through random stacking of horticultural products in vented boxes. J. Food Eng. 89, 33–41. doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.03.026
Ergun, S., 1952. Fluid Flow Through Packed Columns. Chem. Eng. Prog. 48, 89–94.
Escardino, A., Ruiz, F., Barbero, P., 1974. Circulación de aire a través de lechos formados por granos de cereales. Rev. Agroquímica y Tecnol. Aliment. 10, 528–539.
F.A.I.M., 2016. Molienda y producción de Harina [WWW Document]. URL http://www.faim.org.ar/Nacional.aspx (accessed 4.1.16).
Ferrara P.J., Benson, J.T., 1991. Method of producing shelf stable wheat germ. US Patent US5063079 A
Formisani, B., Girimonte, R., Mancuso, L., 1998. Analysis of the fluidization process of particle beds at high temperature. Chem. Eng. Sci. 53, 951–961. doi:10.1016/S0009-2509(97)00370-9
Gastón, A.L., Abalone, R.M., Giner, S. a., 2002. Wheat drying kinetics. Diffusivities for sphere and ellipsoid by finite elements. J. Food Eng. 52, 313–322. doi:10.1016/S0260-8774(01)00121-2
Giner, S. A., Calvelo, a., 1987. Modelling of wheat drying in fluidized beds. J. Food Sci. 52, 1358–1363. doi:10.1111/j.1365-2621.1987.tb14082.x
Grandel, F., 1959. Process of making germ flakes. US Patent 2879167 A
Jha, P.K., Kudachikar, V.B., Kumar, S., 2013. Lipase inactivation in wheat germ by gamma irradiation. Radiat. Phys. Chem. 86, 136–139. doi:10.1016/j.radphyschem.2013.01.018
Kim, Y.S., Flores, R.A., Chung, O.K., Bechtel, D.B., 2003. Physical, chemical, and thermal characterization of wheat flour milling coproducts 2. J. Food Process Eng. 26, 469–488. doi:10.1111/j.1745-4530.2003.tb00613.x
Marti, A., Torri, L., Casiraghi, M.C., Franzetti, L., Limbo, S., Morandin, F., Quaglia, L., Pagani, M.A., 2014. Wheat germ stabilization by heat-treatment or sourdough fermentation: effects on dough rheology and bread properties. LWT - Food Sci. Technol. doi:10.1016/j.lwt.2014.06.039.This
Molenda, M., Montross, M.D., Mcneill, S.G., Horabik, J., 2005. Airflow resistance of seeds at different bulk densities using Ergun's equation. Trans. ASAE 48, 1137–1145.
Rothe, M., 1963. Uber ein neues Stabilisierungsverfahren fur Weizenkeime. Mol. Nutr. Food Res. 7(8), 579-587. doi: 10.1002/food.19630070805
Sau, D.C., Mohanty, S., Biswal, K.C., 2007. Minimum fluidization velocities and maximum bed pressure drops for gas–solid tapered fluidized beds. Chem. Eng. J. 132, 151–157. doi:10.1016/j.cej.2007.01.036
Shurpalekar, S.R., Rao, P.H., 1977. Wheat Germ. Adv. Food Res., 23, 187-304
Sjövall, O., Virtalaine, T., Lapveteläinen, A, Kallio, H., 2000. Development of rancidity in wheat germ analyzed by headspace gas chromatography and sensory analysis. J. Agric. Food Chem. 48, 3522–7.
Torrez Irigoyen, R.M., Giner, S. a., 2011. Fluidisation velocities during processing of whole soybean snack. J. Food Eng. 107, 90–98. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.05.040
Werther, J., 1999. Measurement techniques in fluidized beds. Powder Technol. 102(1), 15-36. doi:10.1016/S0032-5910(98)00202-2
Yang, W.-C., 2003. Handbook of fluidization and fluid-particle systems. China Particuology 1, 137. doi:10.1016/S1672-2515(07)60126-2
Yöndem-Makascioğlu, F., Gürün, B., Dik, T., Kincal, N.S., 2005. Use of a spouted bed to improve the storage stability of wheat germ followed in paper and polyethlyene packages. J. Sci. Food Agric. 85, 1329–1336. doi:10.1002/jsfa.2102

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), a la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba (SeCyT-UNC) y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) por el financiamiento recibido.



Extracción de ortodifenoles de residuos de la industria aceitera del olivo

Gómez P.E.[1], Segovia A.F.[1], Lorenzo M.E.[1], Ribotta P.D.[2]
[1]Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Catamarca. Maestro Quiroga 50, Catamarca, Argentina
[2]ISIDSA, Secretaría de Ciencia y Tecnología, UNC, Juan Filloy s/n, Ciudad Universitaria, Córdoba, Argentina.
analiticafcaunca@gmail.com

RESUMEN

El objetivo fue optimizar el procesamiento de la extracción hidrotérmica de compuestos ortodifenólicos a partir de pulpa de aceituna. Se trabajó con pulpa de *Olea europea L.* variedad Arbequina obtenida de orujo fresco recolectado durante el proceso de industrialización de las campañas 2012 y 2013 en la Planta Piloto de Aceite de Oliva ubicada en el Valle Central de Catamarca. Se aplicó un diseño experimental de Box-Behnken y se generaron superficies de respuesta. Las variables de proceso fueron: concentración de ácido acético (0-5%), tiempo (15–120 min) y temperatura (70-120°C) y las variables respuestas: polifenoles totales (PFT), ortodifenoles (ODF), actividad antirradicalaria (DPPH) y capacidad reductora (FRAP). Los experimentos serealizaron por triplicado, en reactor eléctrico de 10 L, tipo autoclave, de acero inoxidable, con control de temperatura (± 2°C) y tiempo. Se obtuvieron modelos cuadráticos que permitieron explicar la variabilidad de los datos: 97,85% para ODF, 87,25% para DPPH, 80,30% para PFT y 86,23% para FRAP. La optimización múltiple (Deseabilidad= 0,68) sugirió que la combinación de 0,54% de ácido acético, 15 min de tratamiento a 120°C es la combinación óptima para la extracción de ODF de pulpa de oliva. Los valores predichos por el modelo fueron: ODF 13826 µg/g ácido cafeico; DPPH 81,5% de inhibición a los 15 min; PFT 22448 µg/g ácido cafeico; FRAP 3087 µg/g trolox. El modelo se validó con ensayos extras de muestras 2012 y 2014. El error relativo porcentual entre los valores predichos y experimentales para ODF osciló entre 0,50 y 2,74% y para DPPH entre 2,34 y 3,97%. Para PFT y FRAP el error fue cercano al 20%. El proceso de extracción realizado con las condiciones de optimización múltiple permitió extraer el 94,7% de ODF y el 78% PFT.

Palabras claves: Subproductos olivícolas. Antioxidantes naturales. Ortodifenoles. Optimización. Tratamiento hidrotérmico.

ABSTRACT

The aim of this study was to optimize the processing variables for hydrothermal extraction of orthodiphenolic compounds from olive pulp. Pulp of *Olea europea L.* Arbequina were analyzed. They were obtained from fresh pomace samples collected during the industrialization process (2012 y 2013 campaigns) at the Pilot Olive Oil Plant located in Valle Central, Catamarca. To carry out the study, an experimental response surface design Box-Behnken was used. Process variables considered were: acetic acid concentration (0%-5%), time (15-120 min) and temperature (70-120°C). As response variables the following were selected: total polyphenols (PFT); orthodiphenols (ODF) and antioxidant activity of the extracts by the method of DPPH and FRAP. Experiments were performed in a 10 L electric, autoclave type reactor made of stainless steel, with temperature control (± 2°C) and time. Extracts were obtained in triplicate. Results allowed to obtain quadratic models for the different independent variables, which explained data variability: ODF 97.85%, DPPH 87.25%, PFT 80.30% and FRAP 86.23%. Multiple processing optimization (Desirability = 0.68) suggested that the combination of 0.54% acetic acid, 15 min treatment at 120°C of temperature is the optimum combination of processing parameters for extracting ODF from olive pulp. Values predicted by the model equations for each answer are: ODF 13826 mg / kg caffeic acid; DPPH 81.5% inhibition at 15 min; PFT 22448 mg / kg caffeic acid; FRAP 3087 ug / g Trolox. Model validation was

performed by means of extra tests with olive pulp samples (2012 and 2014 campaigns). The percentage relative error between the predicted and experimental values for ODF ranged between 0.50 and 2.74% and DPPH between 2.34 and 3.97% consequently there is a very good setting for both parameters. For PFT and FRAP the prediction was slightly far from the experimental values, the error in these cases was about 20%. Extraction under multiple optimal conditions allowed to extract ODF 94.7% and 78% PFT.
Keywords: Olive by-products. Natural antioxidants. Orthodiphenols. Optimization. Hydrothermal treatment.

INTRODUCCIÓN

Argentina es el principal productor de aceite de oliva de América del Sur. En el 2011 se produjeron alrededor de 200.000 t de aceite de oliva y se generaron cerca de 800.000 t de alperujo, un material constituido por la pulpa, piel, carozo y agua de vegetación de la aceituna después de su industrialización por el método de dos fases, el más difundido en la actualidad (Day 2013). Los efluentes resultantes del proceso de industrialización de aceituna para aceite, no contienen ningún agregado de producto químico, pero no cumplen con la normativa vigente para ser vertido a cauce público o en suelo (Resolución S.A.yA. 65/05), debido a la presencia de restos de aceite y compuestos, provenientes de la aceituna, con actividad antioxidante, antibacteriana y anti fúngica como está reportada para los polifenoles (Gutfinger 1981, Visioli et al. 1998, Ramos Cormenzana et al. 1996).

Cada vez se conoce más acerca de los beneficios del empleo de antioxidantes naturales en la salud y la desventaja de los antioxidantes sintéticos por ser potenciales cancerígenos (Venereo Gutiérrez 2002), por lo que se incrementó el interés por la búsqueda de fuentes de antioxidantes naturales. Numerosas investigaciones, evidencian la presencia de polifenoles con propiedades antioxidantes en distintos órganos del olivo (Romani et al. 1999, Vinha et al. 2004), en los residuos que se generan en su producción primaria (Guinda et al. 2002, Pérez Bonilla et al. 2003, Gómez et al. 2008, Salim Rosales et al. 2012) y en su industrialización (Niaounakis y Halvadakis 2004, Fernández Bolaños et al. 2006, Gómez et al. 2007). Inclusive, en el mercado existen extractos de hoja de olivo debido a la demanda en fitoterapia, cosmética y en industrias farmacológicas y de la alimentación. En los últimos años también ha tomado relevancia el empleo de extractos vegetales, ricos en polifenoles, para el control biológico de plagas y enfermedades en los cultivos (Kagale et al. 2004, Álvarez Gómez 2012). La revalorización de los residuos agroindustriales es una estrategia que presenta beneficios productivos y ambientales. En la industria olivícola hay equipos investigación trabajando en procesos de extracción de compuestos polifenólicos a partir de materiales residuales del olivo (Fernández Bolaños et al. 2006) que desarrollaron patentes de tratamientos hidrotérmicos, empleando ácido sulfúrico, calentamiento a temperaturas por encima de los 200°C, con despresurización explosiva. Ballesteros Perdices et al. (2004) patentaron un procedimiento para extraer compuestos fenólicos del alperujo con tratamiento hidrotérmico, pero sin descompresión explosiva. El objetivo del presente trabajo es optimizar, a través de la metodología de superficie de respuesta, el proceso hidrotérmico de extracción de los compuestos fenólicos de la pulpa de aceituna proveniente del alperujo, empleando condiciones menos severas que las reportadas en las patentes existentes, con la finalidad de obtener un extracto acuoso, con actividad antioxidante y rico en compuestos fenólicos de valor comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con muestras de pulpa de *Olea europea L.* variedad Arbequina obtenidas a partir de orujo fresco recolectado durante el proceso de industrialización de las campañas 2012 y 2014 en la Planta Piloto "Olivares del Valle" de la Cooperativa 12 Olivos y la Universidad Nacional de Catamarca, ubicada en el complejo industrial El Pantanillo, Valle Central, Catamarca. El orujo se recolectó a la salida de la centrífuga horizontal en recipientes plásticos perfectamente identificados y se conservaron a 4-5 ºC. Inmediatamente se separaron las fracciones pulpa y carozo.

Con el fin de estudiar los efectos de las condiciones de procesamiento sobre la capacidad de extracción de ortodifenoles y la determinación de las combinaciones de variables se realizó un diseño experimental de

Box- Behnken (Ferreira et al. 2007). Las condiciones óptimas de operación del sistema se determinaron usando como herramienta la metodología de superficie de respuesta (Vuong et al. 2011). Se realizó análisis de varianza, análisis de correlación y optimización del diseño experimental utilizando el software Statgraphics Centurion XVI. El diseño contempló tres factores experimentales porcentaje de ácido acético (% HAc), tiempo y temperatura de tratamiento, en dos bloques, con cuatro variables respuestas (polifenoles totales PFT, ortodifenoles ODF, actividad antirradicalaria DPPH y actividad reductora FRAP), en 32 corridas que incluyeron 4 puntos centrales por bloque, para determinar el error del método. El orden de los experimentos fue completamente aleatorizado. Los niveles de las variables de diseño se seleccionaron sobre la base de referencias citadas y experimentos preliminares: concentración de ácido acético (0-5%), tiempo de tratamiento (15–120 min) y la temperatura (70-120°C).

Los experimentos se realizaron en un reactor eléctrico de 10 L, tipo autoclave, de acero inoxidable, con control de temperatura (±2°C) y tiempo en minutos. El tiempo se midió a partir del momento en que se alcanza la temperatura programada para el ensayo. Los extractos se obtuvieron por triplicado a partir de alrededor de 3 gramos de muestra húmeda colocada en tubos tipo Falcon con tapa, con adición de 15 mL de agua destilada ó solución ácida, según las condiciones del ensayo. La humedad de las muestras se determinó mediante el secado en un horno eléctrico a 105°C hasta peso constante. La fracción líquida (extracto) se separó de la sólida por centrifugación durante 15 min a 5000 rpm. El extracto se conservó a -20°C en recipiente de vidrio oscuro.

El contenido en polifenoles totales (PFT) y ortodifenoles (ODF) se determinaron por el método de Folin Ciocalteau a 725 nm y de molibdato de sodio al 5% a 370 nm, respectivamente (Singleton y Rossi 1965, Vásquez et al. 1973, Blainski et al. 2013). Los resultados se expresaron en µg de ácido cafeico/g de pulpa seca.

El poder reductor de los extractos sobre el catión Fe^{+3} se cuantificó por el método FRAP descripto por Benzie y Strain (1996). El resultado se expresó en µmol de trolox/g de pulpa seca.

La capacidad de captura de radicales libres de los extractos se midió por el método del DPPH (Rojano 2008) determinando el porcentaje de inhibición de radicales libres (PI) a los 15 min de reacción, por disminución de la absorbancia a 515 nm.

Las determinaciones se realizaron por triplicado.

La calidad de los modelos de extracción de ODF de la pulpa de aceituna proveniente del alperujo se evaluó mediante ANOVA (Statgraphics Centurion). Los resultados experimentales se aplicaron para obtener los modelos de regresión. El ajuste del modelo a los datos experimentales fue dado por el coeficiente de determinación, R^2. Las ecuaciones de regresión múltiple incluyeron la totalidad de los coeficientes. Se generaron diagramas tridimensionales de superficie de respuesta para cada variable dependiente. El cálculo de los parámetros de procesamiento óptimos para la extracción de compuestos ortodifenólicos de pulpa de aceituna se realizó utilizando el método de optimización de múltiples respuestas (Ferreira et al. 2007). La validación del modelo se realizó a través de ensayos extras, por triplicado, con las condiciones optimizadas de las variables independientes a partir de muestras de pulpa de olivas de las campañas 2012 y 2014.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ensayos se realizaron de acuerdo al diseño de Box- Behnken en dos bloques y en cada punto experimental se determinaron los parámetros indicadores de la eficiencia del proceso de extracción de compuestos ortodifenólicos a partir de pulpa de aceituna proveniente de la industria aceitera del olivo (**Tabla 1**).

Para cada grupo de variable respuesta, se generó una ecuación cuadrática con todos los términos. La ecuación de segundo orden polinominal generalizada usada en el análisis de superficie de respuesta se muestra en la ecuación (1):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{n} \beta_i X_i + \sum_{\substack{i=1 \\ i<j}}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^{n} \beta_{ii} X_i^2 \qquad (1)$$

Donde β0, βi, βii y βij son los coeficientes de regresión para los términos de intercepción, lineal, cuadrático y de interacción respectivamente y Xi y Xj son las variables independientes (Vuong et al., 2011). En base a estas ecuaciones, el comportamiento de cada variable puede predecirse dentro del área experimental y presentado como una superficie de respuesta.

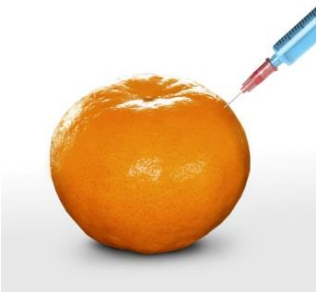


Tabla 1. Diseño experimental y resultados experimentales para el tratamiento hidrotérmico de pulpa de aceituna proveniente de los subproductos de la industria aceitera.

Bloque	*Condiciones Experimentales*			*Resultados Experimentales*			
	Variables independientes			*Variables dependientes*			
	ÁCIDO (% HAc)	***TIEMPO (min)***	***TEMP (°C)***	***ODF (µg ácido cafeico/g muestra)***	***DPPH (PI a 15 min)***	***PFT (µg ácido cafeico/g muestra)***	***FRAP (µmol trolox/g muestra)***
1	5	120	95	10775,9	67,4	18112,1	2249,5
1	2,5	15	120	12688,6	79,9	23303,7	3288,4
1	2,5	67,5	95	9245,1	81,4	17593,4	2083,3
1	5	67,5	70	10120,5	68,0	18843,1	2260,0
1	0	67,5	120	13826,2	69,3	22401,0	2722,9
1	2,5	120	70	9591,9	77,9	18450,0	2180,1
1	5	67,5	120	13349,5	63,0	20640,8	2910,3
1	2,5	15	70	11080,8	65,9	19647,9	1910,2
1	0	120	95	12456,3	57,2	20977,0	2524,3
1	2,5	67,5	95	9293,4	73,4	17623,4	2188,1
1	0	15	95	12774,8	68,9	19155,5	2330,1
1	2,5	67,5	95	9398,0	72,9	19301,1	2347,0
1	2,5	67,5	95	9251,3	81,6	17668,6	2027,5
1	2,5	120	120	11085,5	68,2	30362,4	3856,6
1	5	15	95	11408,8	65,4	17451,3	2504,1
1	0	67,5	70	12259,6	59,2	21818,6	1976,3
2	5	120	95	10757,6	67,2	19207,1	2297,8
2	2,5	15	120	12500,7	83,0	23574,4	3406,8
2	2,5	67,5	95	9494,0	73,4	17534,8	2199,3
2	5	67,5	70	9922,4	68,0	18843,1	2262,5
2	0	67,5	120	13715,5	68,9	22447,2	2596,0
2	2,5	120	70	9615,0	79,4	18604,2	2208,7
2	5	67,5	120	13571,3	62,4	20264,6	2903,9
2	2,5	15	70	10377,6	65,7	17700,4	1900,1
2	0	120	95	12690,9	65,4	20977,0	2541,6
2	2,5	67,5	95	9327,2	72,9	18787,6	2283,5
2	0	15	95	12745,5	69,6	19595,9	2362,3
2	2,5	67,5	95	9255,3	72,9	19098,5	2107,0
2	2,5	67,5	95	9398,0	71,9	18787,6	2347,0
2	2,5	120	120	11453,0	59,2	31051,9	3792,9
2	5	15	95	11374,1	66,1	17897,7	2421,2
2	0	67,5	70	12629,8	57,2	21079,7	1759,8

En la **Tabla 2** se presenta un resumen estadístico de cada una de las variables respuestas, independientes del

tratamiento aplicado como para dimensionar la variabilidad de los resultados.

Tabla 2. Resumen estadístico de las variables respuestas.

Variables	*Recuento*	*Promedio*	*DS*	*CV*	*Mínimo*	*Máximo*	*Rango*
ODF *(µg ácido cafeico/g muestra)*	32	11169,8	1568,28	14,04%	9245,05	13826,2	4581,14
DPPH *(PI a 15 min)*	32	69,4697	6,98487	10,05%	57,20	82,99	25,78
PFT *(µg ácido cafeico/g muestra)*	32	20275	3238,02	15,97%	17451,3	31051,9	13600,6
FRAP *(µmol trolox/g muestra)*	32	2460,91	511,83	20,80%	1759,82	3856,61	2096,78

Los coeficientes de regresión y el coeficiente cuadrado del modelo de ajuste (R^2) estimado por el análisis de ANOVA se muestran en la **Tabla 3**.

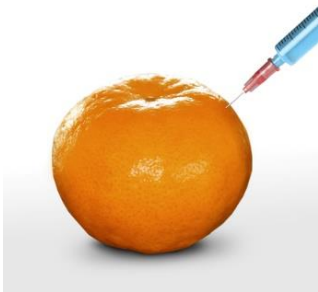
Tabla 3. Coeficientes de regresión del diseño del modelo de ajuste y significancia del efecto de las condiciones de trabajo sobre las variables dependientes.

Coeficiente Estimado	*ODF*	*DPPH*	*PFT*	*FRAP*
constante	27571,20	-15,27	64285,30	4865,51
A:Acidez	-2608,16**	12,08	-122,86*	203,72
B:Tiempo	-30,60**	0,51	-179,57*	-14,49
C:Temperatura	-321,78**	1,20	-940,06**	-75,73**
AA	313,23**	-1,3630**	-93,78	-15,04
AB	-0,83	0,0180*	-1,17	-0,72
AC	8,45**	-0,0651*	2,54	-0,58
BB	0,21**	-0,0002	0,53*	0,11**
BC	-0,04	-0,0058**	1,41**	0,04
CC	1,81**	-0,0032*	4,93**	0,51**
R^2	**97,85%**	**87,25%**	**80,30%**	**86,23%**
R^2 ajustada	**96,83%**	**81,17%**	**70,93%**	**79,67%**
SRE	279,20	3,03	1745,96	230,79
MAE	162,42	1,80	1204,60	153,74

SRE (error relativo del estimado); MAE (error medio absoluto del estimado); * significativos 95% intervalo de confianza; ** significativos 99% intervalo de confianza.

Contenido en ortodifenoles (ODF)

Los efectos de las condiciones experimentales del tratamiento hidrotérmico sobre los ortodifenoles extraídos se ajustaron a un modelo cuadrático que explicó el 97,85 % de la variabilidad de los datos (**Tabla 3**). Siete de los efectos evaluados tuvieron un p-valor menor a 0,05 es decir que incidieron de manera significativa en



el contenido de ortodifenoles del extracto obtenido, con un nivel de confianza del 95,0%. Los efectos lineales de A (% de ácido), B (tiempo) y C (temperatura) fueron negativos sobre ODF; mientras que las funciones cuadráticas AA, AC, BB y CC resultaron positivas.

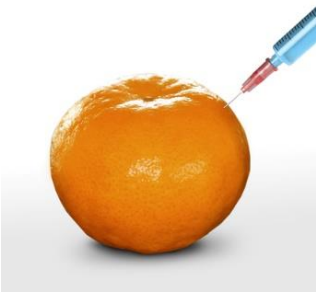
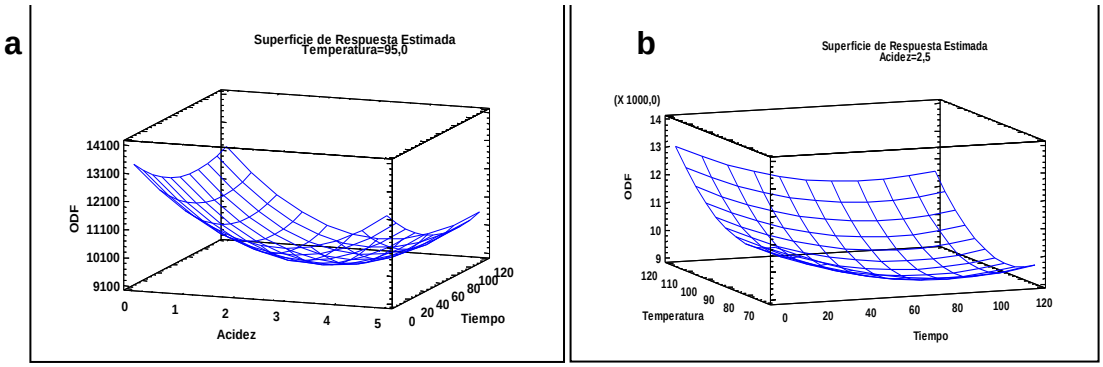


Fig. 1. Influencia de la concentración de ácido y el tiempo (a) y de la temperatura y el tiempo (b) en la extracción de ODF.

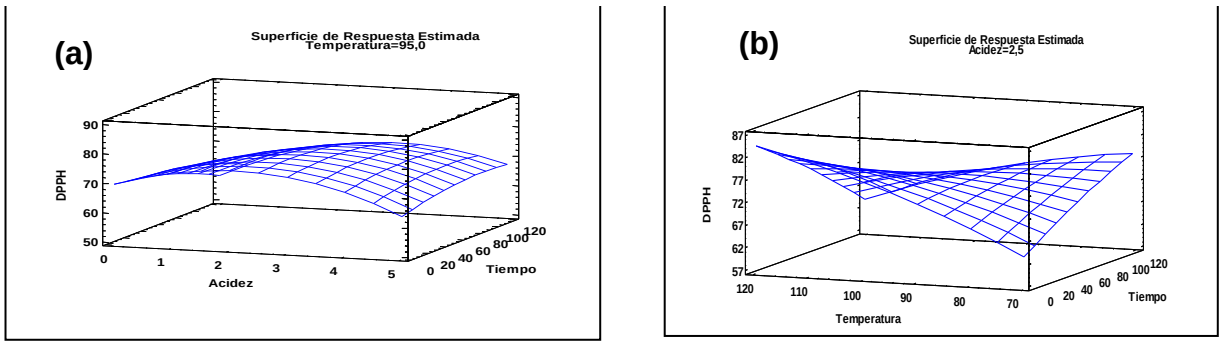


La **figura 1(a)** muestra que el contenido de ODF disminuye a medida que aumenta la concentración de ácido pasando por un mínimo en concentraciones intermedias; en la **figura 1(b)** se ve claramente que la región de máxima extracción se produjo a altas temperaturas y cortos tiempos de tratamiento. Ambas superficies de respuesta evidencian que el factor tiempo tiene menos incidencia sobre la extracción de ODF que la concentración de ácido y la temperatura de proceso. Las condiciones óptimas señaladas por el programa para la extracción de compuestos ortodifenólicos de pulpa de aceituna fueron: 0,00225% de ácido acético y 15 min de tratamiento a 120°C. Con esta combinación de variables el modelo predijo un nivel de extracción de ODF de 14598,9 µg ácido cafeico/g muestra seca.

Actividad antirradicalaria (DPPH)

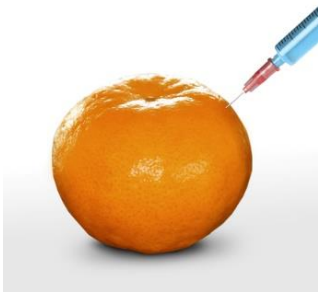
El ensayo del DDPH mide la capacidad de los extractos de atrapar radicales libres, inhibiendo la oxidación (Hseu et al. 2008). El estadístico R^2 de la actividad antirradicalaria representó el 87,25% de la variabilidad de los datos (**Tabla 3**). Solo los coeficientes cuadráticos resultaron significativos, incidiendo de manera negativa sobre la capacidad de atrapar radicales libres, con excepción de la combinación AB. Las condiciones que maximizan la respuesta de la actividad antirradicalaria fueron: 1,66% de ácido acético, 15 min y 120°C. La combinación óptima de variables predijo un extracto con un 83,20% de inhibición de radicales libres.

Fig. 2. Influencia de la concentración de ácido y el tiempo (a) y de la temperatura y el tiempo (b) sobre la capacidad antirradicalaria.



Los diagramas de superficie evidencian una máxima actividad alrededor de la concentración señalada de ácido (**Fig 2a**), a altas temperaturas y cortos tiempos de tratamiento (**Fig 2b**). También se desprende que el tiempo tiene menor incidencia sobre este parámetro, que la concentración de ácido y la temperatura.

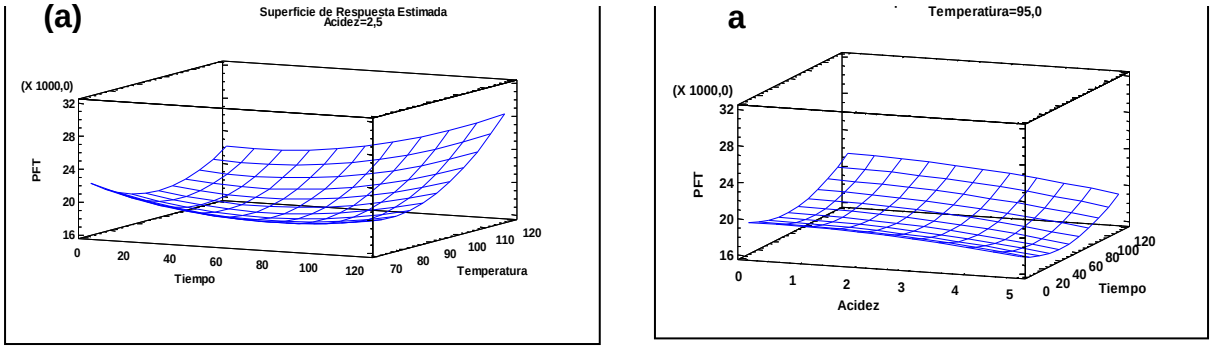
Contenido en polifenoles totales (PFT)



Seis de los efectos tuvieron una valor-p menor que 0,05 indicando que afectan significativamente el contenido de polifenoles totales en los extractos: efectos lineales negativos de A (% de ácido), B (tiempo) y C (temperatura) y efectos cuadráticos positivos de tiempo (BB), temperatura (CC) y tiempo*temperatura (BC).

Las superficies de respuestas mostraron un máximo de rendimiento extractivo para compuestos polifenólicos a altas temperaturas (**Fig. 3a**), con baja concentración de ácido acético (**Fig. 3b**) y en tiempos de calentamiento prolongados (**Fig. 3a y 3b**).

Fig. 3. Influencia de temperatura y tiempo (a) y de la concentración de ácido y tiempo (b) en la extracción de PFT.



La combinación óptima de variables que maximizó la respuesta fue de 0,25 % de ácido, 120 min de tratamiento y a 120°C, con lo que el modelo predijo un valor óptimo de PFT de 28827,8 µg ácido cafeico/g muestra seca.

Actividad reductora (FRAP)

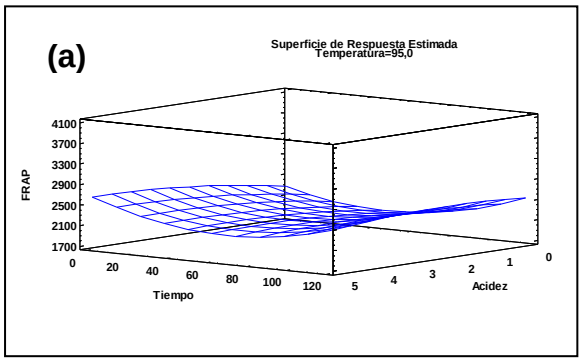
El ensayo de FRAP mide la capacidad reductora de los extractos (Benzie y Strain, 1996) y es una medida de la actividad antioxidante, complementaria de la capacidad antirradicalaria. El estadístico R^2 indicó que el modelo explica 86,23% de la variabilidad en FRAP. Solo la temperatura, el cuadrado del tiempo y el cuadrado de la temperatura incidieron de manera significativa sobre la capacidad reductora de los extractos, con una confianza del 95,0%. Los diagramas de superficie (**Fig. 4a y 4b**) muestran el incremento de la actividad con el aumento de temperatura y la poca incidencia de la acidez y el tiempo sobre este parámetro.

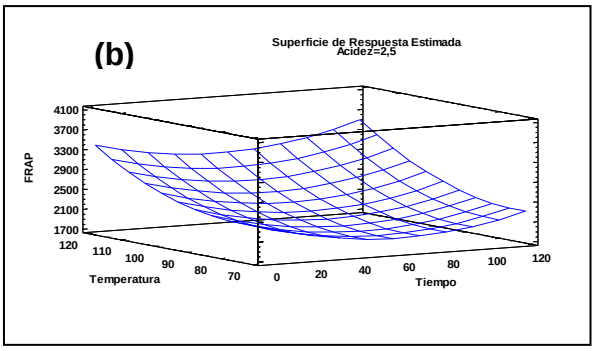
Las condiciones óptimas para generar extractos reductores a partir de pulpa de aceituna fueron: 1,59% de ácido acético, 120 min de tratamiento y 120°C. El valor predicho de actividad del extracto así generado fue de 3536,31 ug/g trolox.

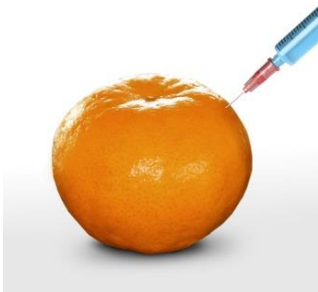
Optimización múltiple

Además de explicar el comportamiento de las variables por las curvas de nivel, los modelos obtenidos permiten realizar un procedimiento de optimización múltiple mediante la función de deseabilidad (Ferreira et al. 2007). Para ello se maximizaron los valores de ODF, DPPH, PFT y FRAP. Los resultados sugirieron que un 0,54% de ácido acético, 15 min de tratamiento y 120°C de temperatura resulta ser la combinación óptima, con un valor de deseabilidad de 0,68. Los valores predichos por el modelo para cada variable respuesta fueron: ODF: 13826,2 µg ácido cafeico/g pulpa seca; DPPH: 81,47 PI a 15 min; PFT: 22447,9 µg ácido cafeico/g pulpa seca; y FRAP: 3087,5 ug/g trolox.

Fig. 4. Influencia de la concentración de ácido y el tiempo (a) y de la temperatura y el tiempo (b) en la capacidad reductora.


(a)
Superficie de Respuesta Estimada
Temperatura=95,0
FRAP
4100
3700
3300
2900
2500
2100
1700
0
20
40
60
80
100
120
Tiempo
5
4
3
2
1
0
Acidez


(b)
Superficie de Respuesta Estimada
Acidez=2,5
FRAP
4100
3700
3300
2900
2500
2100
1700
120
110
100
90
80
70
Temperatura
0
20
40
60
80
100
120
Tiempo



Validación del modelo

Para validar la capacidad predictiva del modelo se llevaron a cabo experimentos adicionales con muestras de pulpa de olivas 2012 y 2014. En la **Tabla 4** se presentan las medias y desviaciones estándares de los valores experimentales de las variables dependientes para las muestras de cada campaña, los valores predichos por el modelo para cada una de las variables dependientes en las condiciones de optimización múltiple y la media de los porcentajes de error entre los valores experimentales y los estimados por el modelo.

Tabla 4. Valores promedios del porcentaje de error entre valores predichos en condiciones de optimización múltiple y valores experimentales.

	ODF *(µg ácido cafeico/g pulpa seca)*			***DPPH*** *(PI a 15 min)*			***PFT*** *(µg ácido cafeico/g pulpa seca)*			***FRAP*** *(µg trolox /g pulpa seca)*		
Muestra	***Exper.***	***Est.***	***E%***	***Exper.***	***Est.***	***E%***	***Exper.***	***Est.***	***E%***	***Exper.***	***Est.***	***E%***
Pulpa 2012	13852 ±209	13812	1,42	79,49 ±1,01	81,2	-3,47	28238 ±189	22513,78	20,27	3787 ±22	3091	19,30
Pulpa 2014	14042 ±226	13812	1,63	78,72 ±0,88	81,2	-3,15	24668 ±3942	22513,78	8,73	3735 ±35	3091	17,24

El porcentaje de error entre los valores predichos y experimentales para ODF osciló entre 0,50% y 2,74% y para DPPH entre 2,34% y 3,97%, indicando una muy buena capacidad predictiva para ambos parámetros. Para PFT y FRAP el nivel de predicción fue menor ya que el porcentaje de error en estos casos fue cercano al 20%.

Comparación con extractos orgánicos

Los valores de ODF, DPPH, PFT y FRAP de los extractos obtenidos en las condiciones óptimas de extracción del tratamiento hidrotérmico se compararon con los de extracciones con metanol y con etanol: agua 50% sobre la misma pulpa de aceituna. En las cuatro variables dependientes evaluadas el extracto hidrotérmico presentó valores significativamente superiores (**Tabla 5**), lo que lo coloca en una posición ventajosa frente a los solventes orgánicos en lo que respecta al rendimiento extractivo, sin dejar de considerar además el beneficio que implica reducir el volumen de solventes en la industria alimentaria. La eficiencia del extracto hidrotérmico puede atribuirse a que la alta temperatura del agua mejora la solubilidad de compuestos bioactivos lo que se traduce en mayor rendimientos de extracción (Davidov-Pardo et al. 2011).

Tabla 5. Comparación de extracto de pulpa por tratamiento hidrotérmico en condiciones de optimización múltiple (EPTH) con extractos la misma pulpa en etanol-agua 50% (EPE) y en metanol (EPM).

Extractos	***ODF*** *(µg ácido cafeico/g pulpa seca)*	***DPPH*** *(PI a 15 min)*	***PFT*** *(µg ácido cafeico/g pulpa seca)*	***FRAP*** *(µg trolox /g pulpa seca)*
EPE	7730,39 A	67,12 A	11334,86 A	754,03 A
EPM	6102,23 A	51,92 B	8603,88 B	672,24 A
EPTH	13909,4 B	79,05 C	28512,27 C	3822,09 B
Letras distintas, en una misma columna, indican diferencias significativas al 1%				

Los extractos EPTH tuvieron un 44,42 % más de ODF que el EPE y un 56,13% más que el EPM. En cuanto a PFT, el tratamiento hidrotérmico optimizado extrajo un 60,25% más polifenoles que el sistema etanol-agua y un 69,82% más que el metanol. En lo que respecta a capacidad antirradicalaria de los extractos, el EPTH inhibió un 15,09% más radicales libres que el EPE y un 34% más que el EPM. Los resultados del ensayo del FRAP mostraron, EPTH tuvieron un poder reductor un 80,27% mayor que el EPE y un 82,41% superior al EPM.

CONCLUSIONES

El diseño experimental de Box-Behnken resultó eficaz para evaluar el efecto de la concentración de ácido acético, la temperatura de extracción y el tiempo de reacción en el rendimiento extractivo de ortodifenoles a partir de pulpa proveniente de los residuos del proceso de industrialización de aceituna para aceite por el método de dos fases y permitió optimizar las condiciones de extracción.

Los resultados de la optimización múltiple sugirieron la siguiente combinación de los parámetros de procesamiento: 0,54 % de ácido acético, 15 min y 120°C.

El tratamiento hidrotérmico optimizado, empleando condiciones menos severas que las reportadas en patentes existentes, puede ser un tratamiento eficaz para la preparación de extractos, ricos en compuestos ortodifenolicos, con propiedades antioxidantes.

La evaluación del modelo con muestras diferentes a las usadas en el diseño y la comparación con extracciones orgánicas a partir del mismo material reforzaron la propuesta y la colocaron en una posición ventajosa frente a los métodos con solventes orgánicos en lo que respecta tanto al rendimiento extractivo como al beneficio que implica reducir el volumen solventes en la industria alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

Álvarez Gómez, TB. 2012. Biocontrol de *Botrytis cinerea* a partir de extractos fenólicos de fresa. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Jiquilpan, Michoacán. México.

Ballesteros Perdices M, Negro Álvarez M, Manzanares Secades P, Ballesteros Perdices I, Oliva Domínguez J. 2004. Procedimiento de extracción de compuestos fenólicos a partir de material vegetal residual mediante un tratamiento hidrotérmico. Patente: WO 2004/009206

Benzie IF, Strain, J J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239: 70-76.

Blainski A, Lopes G y Palazzo de Mello J. 2013. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the determination of the total phenolic content from *Limonium Brasiliense L*. Molecules, 18: 6850-6864.

Candrawinata VI, Golding BJ, Roach DP, Stathopoulos CE. 2015. Optimisation of the phenolic content and antioxidant activity of apple pomace aqueous extracts. CyTA - Journal of Food, 13: 293-299.

Day Jorge A. Una Argentina Competitiva, Productiva y Federal. Actualidades y desafíos en la cadena olivícola de Argentina. Año 19 - Edición Nº 128 - 10 de Diciembre de 2013. Disponible en: http://www.ieral.org/images_db/noticias_archivos/2757-Cadena%20oliv%C3%ADcola.pdf

Davidov Pardo G, Arozarena I, Marín Arroyo RM. (2011). Stability of polyphenolic extracts from grape seeds after thermal treatments. European Food Research and Technology, 232: 211–220.

Gómez P, Dalla Lasta M, Porcú E, Bravo M, Nieto S, Kaen R. 2007. Evaluación de la actividad antioxidante de extracto fenólico de alperujo. Aceites y Grasas, 67 (2): 336 - 341.

Guinda A, Lanzón A, Ríos JJ, Albi T. 2002. Aislamiento y cuantificación de los componentes hoja del olivo: Extracto de hexano. Grasas y Aceites, 53: 419-422.

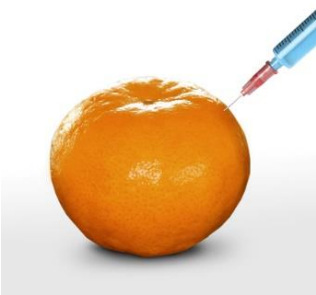
Fernández-Bolañoz J, Rodríguez G, Rodríguez R, Guillén R, Jiménez A. 2006. Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste. Grasas y Aceites, 57 (1): 95-106.

Ferreira SLC, Bruns RE, Ferreira HS. 2007. Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. Anal Chem Acta 597:179–186.

Hseu Y, Chang W, Chen C, Liao J.,Huang C, Lu F, Chia Y, Hsu H, Wu J, Yang H. 2008. Antioxidant activities of Toona Sinensis leaves extracts using different antioxidant models. Food Chem. Toxicol. 46:

105-114.
Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. Molecules, 18: 2328–2375.
Metodología de superficie de respuesta. Capítulo 2. [en línea]. 2006. Citado el 15 de marzo de 2010. Disponible en:
http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lii/peregrina_p_pm/capitulo2.pdf
Montgomery, D. 2005. Design and analysis of experiments. New York: John Wiley & Sons Inc.
Niaounakis M, Halvadakis CP. 2004. Olive-Mill Waste Management: Literature Reviex and Patent Survey. Ed.: Typothito-George Dardanos Publications. JSBN 960-402-123-0.
Pérez Bonilla M, Salido S, Linares P, van Beek T, Altarejos J, Nogueras M, Sánchez A. 2003. La madera de olivo como nueva fuente de antioxidantes naturales. Foro de la tecnología oleícola y la calidad. Código TEC-26. Disponible en: http://www.expoliva.com/expoliva2003/simposium/com.asp?anio=2003&codigo=TEC
Ramos Cormenzana A, Juarez Jimenez B, García Pareja MP. 1996. Antimicrobial activity of olive mil waste-waters (Alpechin) and biotransformed olive oil mil wastewater. Int.Biodet.Biodeg.38: 283-290.
Resolución S.A.yA. 65/05. Reglamentación control de vertidos de líquidos residuales provincia de Catamarca. Secretaría del Agua y el Ambiente. Gobierno de la Provincia de Catamarca. 2005.
Rojano B, Saez J, Schinella G, Quijano J, Vélez E, Gil A. 2008. Experimental and theoretical determination of the antioxidant properties of isoespintanol (2-isopropyl-3,6-dimethoxy-5- methylphenol). J Mol Struct., 877 (1-3): 1-6.
Romani A., Mulinacci N., Pinelli P., Cimato A. 1999. Polyphenolic Content in Five Tuscany Cultivars of Olea Europaea L. J Agric. Food Chem., 47: 964 - 967.
Salím Rosales C, Gómez P, Gómez E, Rodríguez N y Bravo M. 2012. Potencial antioxidante de extractos de madera de poda de olivos cv. Arbequina, procedentes de Catamarca. Argentina. Olivae 118:32-46
Singleton VL, Rossi JA. 1965. Jr. Colorunetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Amer. J. Enol. Viticult. 16:144-158.
Superficies de respuesta. Métodos y diseño [en línea]. 2008. Citado el 15 de marzo de 2010. Disponible en: http://bellman.ciencias.uniovi.es/d_experimentos/d_experimentos_archivos/sr.pdf
Vázquez Roncero A, Janer del Valle C, Janer del Valle ML. 1973. Determinación de los polifenoles totales en aceite de oliva. Grasas y Aceites, 24: 350-35.
Vinha A, Ferreres F, Silva B, Valentao P, Goncalves A, Pereira J, Oliveira B, Seabra R, Andrade P. 2004. Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (Olea europea L.): Influences of cultivar and geographical origin. ELSEVIER. Food Chemistry, 89: 561-568.
Vuong VQ, Stathopoulos EC, Golding BJ, Nguyen MH, Roach DP. 2011. Optimum conditions for the water extraction of L-theanine from green tea. Journal of Separation Science, 34: 2468–2474.

AGRADECIMIENTOS
Esta investigación se lleva a cabo en el marco del Programa Agrovalor 2013: **"*Valor agregado a la cadena productiva del olivo con aprovechamiento económico de los productos residuales y restituyendo la salud ambiental*"** financiado por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, el Ministerio de Educación - Secretaria de Políticas Universitarias y el Consejo Interuniversitario Nacional.



Efecto de la molienda del almidón de arroz en molino planetario sobre las propiedades de hidratación y cristalinidad

González L.C., Loubes M.A., Tolaba M.P.

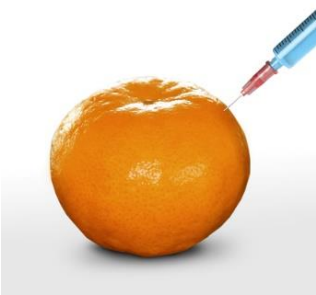
Universidad de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ, UBA-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Buenos Aires, Argentina.
mtolaba@di.fcen.uba.ar

RESUMEN
Se modificó almidón de arroz en un molino planetario a 400 rpm, variando la energía de molienda entre 0 kJ/g (control) y 4,08 kJ/g. Se investigó el efecto de la energía específica de molienda (E) sobre el grado de cristalinidad, el índice de solubilidad en agua (ISA) y el poder de hinchamiento (PH) a distintas temperaturas (55°C - 85°C). Las propiedades de hidratación y el grado de cristalinidad fueron afectados por la molienda. No obstante, la cristalinidad y el poder de hinchamiento no mostraron diferencias significativas ($p<0,05$) por encima de 1,99 kJ/g. Los valores de ISA y PH aumentaron con el incremento de la energía y de la temperatura. Para el mayor nivel de energía y temperatura, el valor de ISA varió entre 0,1-29,7% y el PH entre 2,1-16,4 g/g, respecto al control a la menor temperatura. Se encontró una relación lineal entre ISA-E ($R^2>0,97$) y una relación polinómica, entre PH-E ($R^2>0,93$), en todas las temperaturas ensayadas. El grado de cristalinidad disminuyó con el aumento de la energía de molienda. A su vez, la cristalinidad evidenció una relación exponencial negativa ($R^2>0,9$) con el ISA y una relación lineal negativa ($R^2>0,9$) con el PH. La molienda de alto impacto generó cambios estructurales en los almidones tratados mecánicamente, que le confirieron mayor capacidad de absorción y solubilidad en agua respecto al almidón nativo, y la posibilidad de ampliar sus aplicaciones en las industrias cosmética, farmacéutica y de alimentos.

Palabras claves: almidón modificado, energía de molienda, solubilidad, poder de hinchamiento, pérdida de cristalinidad.

ABSTRACT
Rice starch was modified in a planetary mill at 400 rpm, varying the milling energy between 0 kJ/g (control) and 4.08 kJ/g. The effect of the specific milling energy (E) on the degree of crystallinity, the water solubility index (WSI) and swelling power (SP) was investigated, at different temperatures (55ºC – 85ºC). The hydration properties as well as the degree of crystallinity were affected by the milling process. However, the crystallinity and swelling power did not show significant differences ($p<0.05$) above 1.99 kJ/g. WSI and PH values increased with increasing both energy and temperature. For the greatest energy and temperature level, WSI value varied between 0.1-29.7% and SP value between 2.1-16.4g/g, relative to the control at the lowest temperature. A linear relationship between WSI-E ($R^2>0.97$) and a polynomial relationship between SP-E ($R^2>0.93$) were found in all temperatures tested. The degree of crystallinity diminished with the increase of milling energy. At the same time, the crystallinity showed a negative exponential relationship ($R^2>0.9$) with WSI and a negative linear relationship ($R^2>0.9$) with SP. The high impact milling generated structural changes in mechanically treated starches, which gave a greater capacity for water absorption and water solubility compared to native starch, and the possibility to extend their applications in the cosmetic, pharmaceutical and food industries.

Keywords: modified starch, milling energy, solubility, swelling power, loss of crystallinity.



INTRODUCCIÓN

Los almidones se caracterizan por tener una gran versatilidad para su aplicación en la industria de alimentos y bebidas, como un ingrediente multifuncional y de fácil utilización. Su uso permite simplificar el etiquetado al sustituir el uso de ciertos aditivos, reducir los costos de formulación y asegurar ciertos atributos de textura en el producto final (Taggart 2004). Particularmente el almidón de arroz tiene la característica de ser libre de gluten y por lo tanto, apto para la elaboración de productos destinados a personas celíacas. Los almidones presentan cierta limitación para su aplicación, debido a la tendencia a la retrogradación y a la baja solubilidad en agua, que restringen sus propiedades funcionales. Por esta razón, rara vez son consumidos y utilizados industrialmente en estado nativo, por lo que surge la necesidad de modificarlos para mejorar sus atributos (Alcázar-Alay y Meireles 2015).

La industria de la modificación de almidones se encuentra en constante progreso. Se han desarrollado diversos métodos: químicos, físicos, enzimáticos o sus combinaciones; para llevar a cabo cambios en la funcionalidad de los mismos. Sin embargo, hay una tendencia creciente a utilizar métodos físicos, que resultan menos costosos y amigables con el medio ambiente. A su vez, debido a que no emplean agentes químicos o biológicos, son técnicas más seguras para obtener productos alimenticios (Ashogbon y Akintayo 2014). El tratamiento a altas presiones, la irradiación gamma, el uso de microondas y la molienda de alto impacto (Błaszczak et al. 2007, He et al. 2014, Deka y Sit 2016, Zhu 2016), son algunos ejemplos de los métodos físicos actualmente utilizados, con baja o nula producción de residuos, como alternativas para modificar las propiedades fisicoquímicas de los almidones. Dentro de la molienda de alto impacto, el molino planetario de bolas se presenta como una tecnología novedosa, aplicada recientemente, a través de la molienda seca y húmeda, a los cereales y sus derivados (He et al. 2014, Loubes y Tolaba 2014).

Se ha visto que la molienda, en molino planetario de bolas, puede lograr modificaciones significativas en la morfología y en la estructura cristalina de los gránulos de almidón, confiriéndoles cambios en las propiedades fisicoquímicas, para diversas aplicaciones industriales. El nivel de modificación que le otorga el molino, depende tanto de la intensidad del proceso como de la naturaleza del almidón, y está asociado con la distorsión de la estructura ordenada y el aumento de la fase amorfa (Tan et al. 2015). Algunos investigadores demostraron que la alteración conferida por el molino planetario puede alcanzar no sólo a las regiones estrictamente cristalinas, sino también a las estructuras de doble hélice ubicadas en zonas menos ordenadas (Liu et al. 2011). Se ha visto que las modificaciones estructurales y el daño provocado al almidón, resultantes del proceso de molienda, se ven reflejados en cambios en las propiedades de hidratación (Chiang y Yeh 2002).

Por lo expuesto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el potencial del molino planetario de bolas para obtener almidón de arroz modificado físicamente, y producir mejoras en sus propiedades fisicoquímicas. Se estudiaron las modificaciones alcanzadas en su estructura cristalina y el impacto de las mismas sobre las propiedades de hidratación del almidón a diferentes temperaturas en función de la energía de molienda.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material

El almidón de arroz nativo, grado alimenticio (Remy B7, Beneo GmbH, Alemania), fue suministrado por Saporiti S.A. (Buenos Aires, Argentina).

Tratamiento de molienda

Un molino planetario de bolas de alto impacto (modelo PM 100, Retsch GmbH, Alemania), con jarra y bolas de óxido de zirconio, fue utilizado para realizar la molienda seca del almidón de arroz.

Se trabajó a una velocidad fija de 400 rpm, variando la energía de molienda en el rango 0,26 kJ/g - 4,08 kJ/g, con pausas de 40 minutos cada 10 minutos de molienda, para permitir el descenso de la temperatura, la cual en ningún caso superó los 55ºC. Se estableció un cambio en la dirección de giro de la jarra cada 30 segundos, y una relación bolas: almidón de 5:1 (g/g). La elección de los parámetros previamente mencionados se basó en el trabajo de Loubes (2014). Luego de la molienda, se realizó un tamizado manual para separar el almidón de los elementos de molienda. El almidón de arroz nativo (0 kJ/g de energía de molienda) se consideró como

la muestra control.

Difracción de rayos X (DRX)

Para el análisis de difracción de rayos X se utilizó un difractómetro Philips modelo X'Pert MPD (PANalytical B.V., Almelo, Holanda) con radiación Kα de Cu (λ=0,154 nm). Las muestras se registraron en el intervalo comprendido entre 6 y 32º (2θ), con un paso angular de 0,03º y un tiempo de conteo por paso de 2 s.

El grado de cristalinidad se calculó como un porcentaje a partir de la relación entre las áreas total (A_T) y amorfa (A_A), obtenidas del difractograma, según:

$$GC(\%)=((A_T-A_A)/A_T)*100 \quad (1)$$

Donde A_T-A_A representa el área correspondiente a los picos cristalinos.

Propiedades de hidratación

El poder de hinchamiento (PH) y el índice de solubilidad en agua (ISA) se determinaron por triplicado, según la metodología descripta por Vandeputte et al. (2003), con algunas modificaciones. El almidón (1 g b.s.) se dispersó en 30 mLde agua destilada y se calentó durante 30 minutos con agitación, en un baño termostatizado a 55ºC, 65ºC, 75ºC y 85ºC. Luego se centrifugó a 700 x *g* durante 15 minutos. El sobrenadante se retiró y se secó hasta peso constante. La masa de sólidos secos y del sedimento se registró para calcular el PH y el ISA, de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$PH(g/g)=masa\ del\ sedimento/(masa\ de\ sólidos\ secos–masa\ de\ sobrenadante\ seco) \quad (2)$$

$$ISA(\%)=(masa\ de\ sobrenadante\ seco/masa\ de\ sólidos\ secos)*100 \quad (3)$$

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza simple (ANOVA) para determinar las diferencias significativas entre los parámetros de las muestras, mediante el programa estadístico Statgraphics Centurion versión XVI (Statistical graphics Corporation, EE. UU.), comparando las medias por el test de mínima diferencia significativa de Fisher (LSD), con un nivel de confianza del 95 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Difracción de rayos X

Los difractogramas de rayos X correspondientes a los almidones de arroz control y modificados, presentaron patrones cristalinos tipo-A, con picos de difracción (2θ) destacados a 15º, 17º, 18º y 23º, característicos de los almidones de cereales (Fig. 1). Como se observa en la figura, los picos cristalinos fueron disminuyendo su intensidad al incrementar la energía del tratamiento, hasta alcanzar un patrón difuso, luego de someter a las muestras a energías superiores a 1,99 kJ/g. Este comportamiento refleja la disminución de la porción cristalina de los gránulos y el consiguiente aumento de la fracción amorfa a medida que progresa la molienda. El grado de cristalinidad (GC) de la muestra control fue del 46%. Dicho valor pudo reducirse un 30% con la condición más suave (0,26 kJ/g) y un 86% con las condiciones más drásticas (1,99-4,08 kJ/g), alcanzando un GC mínimo de 6% (Fig. 1). A partir de 1,99 kJ/g no se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) en el GC. La Figura 2 muestra el ajuste a un modelo potencial (R^2 = 0,97) de la variación de GC con la energía de molienda. Estos resultados demuestran que la molienda seca en el molino planetario logró generar cambios en la estructura del almidón, en función de la severidad del tratamiento, destruyendo las zonas cristalinas y promoviendo el aumento de las zonas amorfas.

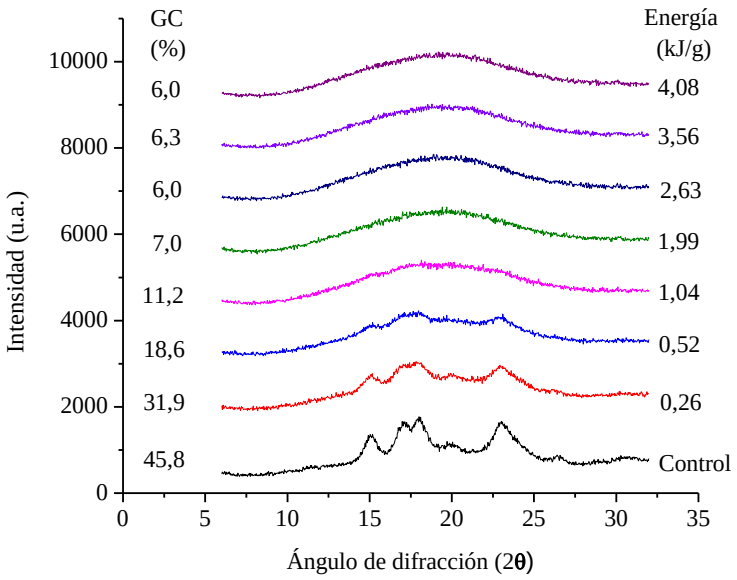


Figura 1. Espectros de difracción de rayos X y grado de cristalinidad (GC), de los almidones de arroz control y modificados, en función de la energía específica de molienda.

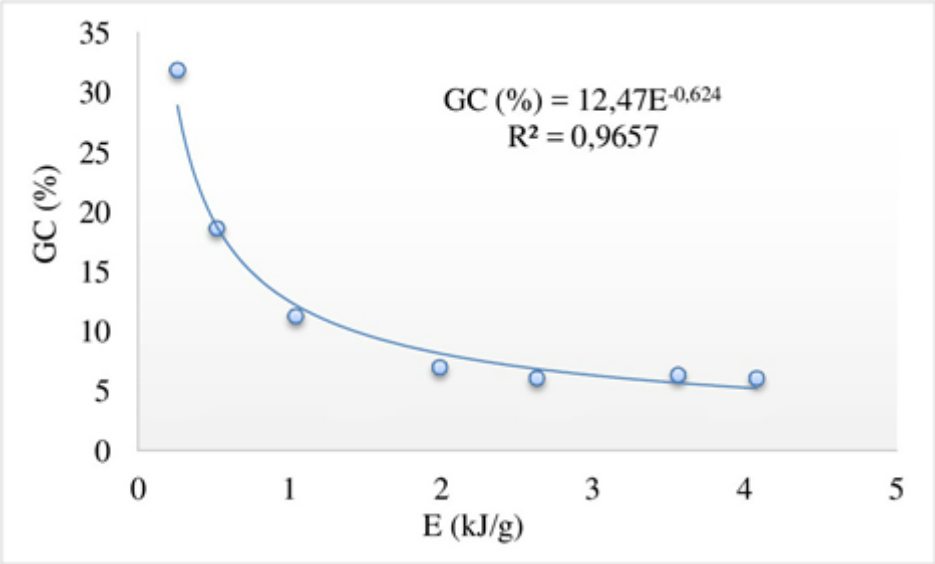


Figura 2. Relación del grado de cristalinidad (GC) y la energía específica de molienda (E).

Propiedades de hidratación

El poder de hinchamiento, indicador de la capacidad de absorción de agua del almidón durante el calentamiento, junto con el índice de solubilidad en agua, brindan información sobre la magnitud de la interacción entre las cadenas de amilosa y de amilopectina, presentes en las zonas amorfas y cristalinas, dentro de los gránulos de almidón.

En las **Tablas 1** y **2** se presentan los resultados del índice de solubilidad en agua (ISA) y del poder de

hinchamiento (PH), respectivamente, de los almidones de arroz control y modificados, en función de la energía específica de molienda y de la temperatura del ensayo. Para los mayores niveles de energía y temperatura, el valor de ISA varió entre 0,07-29,70% y el PH entre 2,12-16,38 g/g, respecto al almidón control a la menor temperatura (55°C). Los valores de ISA y PH de los almidones tratados por molienda resultaron siempre mayores a los del control, a la misma temperatura, y los valores más altos correspondieron a la condición más severa de molienda. Se puede observar que para energías mayores a 1,99 kJ/g, los cambios en el PH provocados por variaciones de la energía de molienda fueron comparativamente menores a los observados en el rango 0 -1,99 kJ/g. En cambio, en el caso del ISA los valores variaron proporcionalmente con la energía de molienda en todo el rango de energía estudiado. Además se encontró, para un valor fijo de energía de molienda, un aumento de estas propiedades con el incremento de la temperatura ensayada, siendo los resultados de PH de este trabajo similares a los informados por Li y Yeh (2001). Los mayores valores de ISA y PH fueron hallados para los ensayos a mayor temperatura. La información sobre las propiedades de hidratación aquí obtenida, puede ser útil al momento de diseñar el tratamiento de molienda para obtener almidones con aplicaciones específicas.

Tabla 1. Índice de solubilidad en agua (ISA) de los almidones de arroz nativo y modificados, en función de la energía específica de molienda (E) y de la temperatura del ensayo.

	Índice de Solubilidad en Agua (%)			
Energía (kJ/g)	**ISA 55ºC**	**ISA 65ºC**	**ISA 75ºC**	**ISA 85ºC**
Control	0,07 ±0,00^{a,1}	0,94 ±0,19^{a,2}	1,28 ±0,24^{a,3}	1,54 ±0,05^{a,3}
0,26	3,32 ±0,16^{b,1}	4,19 ±0,08^{b,2}	5,93 ±0,24^{b,3}	6,42 ±0,03^{b,4}
0,52	5,68 ±0,03^{c,1}	4,16 ±0,31^{b,1}	7,86 ±0,30^{b,2}	8,58 ±0,29^{c,2}
1,04	10,04 ±0,14^{d,1}	8,76 ±1,00^{c,2}	11,79 ±0,25^{c,3}	13,13 ±0,11^{d,4}
1,99	16,88 ±0,47^{e,1}	15,93 ±1,38^{d,1}	18,74 ±0,61^{d,2}	19,22 ±0,47^{e,2}
2,63	20,41 ±0,11^{f,1}	21,13 ±0,62^{e,1}	22,78 ±0,62^{e,2}	23,60 ±0,33^{f,2}
3,56	24,13 ±0,62^{g,1}	24,63 ±0,59^{f,1}	26,01 ±0,55^{f,2}	28,20 ±0,30^{g,3}
4,08	26,36 ±0,30^{h,1}	25,39 ±3,18^{f,1}	29,08 ±0,08^{g,1,2}	29,70 ±0,42^{h,2}

Los valores expresados son la media ± la desviación estándar.
Las medias en las columnas con diferentes letras en el superíndice son significativamente diferentes respecto a la energía de molienda ($p<0,05$). Las medias en las filas con diferentes números en el superíndice son significativamente diferentes respecto a la temperatura de tratamiento ($p<0,05$).

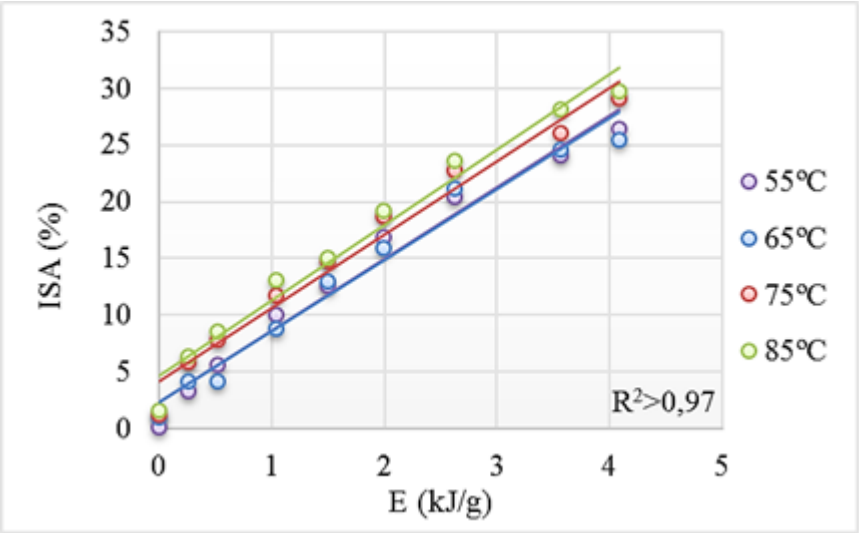
Tabla 2. Poder de hinchamiento (PH) de los almidones de arroz nativo y modificados, en función de la energía específica de molienda (E) y de la temperatura del ensayo.

	Poder de Hinchamiento (g/g)			
Energía (kJ/g)	**PH 55ºC**	**PH 65ºC**	**PH 75ºC**	**PH 85ºC**
Control	2,12 ±0,05^{a,1}	2,61 ±0,05^{a,2}	5,97 ±0,13^{a,3}	7,43 ±0,13^{a,4}
0,26	3,74 ±0,06^{b,1}	5,10 ±0,23^{b,2}	9,83 ±0,11^{b,3}	12,72 ±0,50^{b,4}
0,52	5,69 ±0,10^{c,1}	6,79 ±0,53^{c,2}	10,59 ±0,33^{c,3}	13,46 ±0,84^{b,4}
1,04	8,03 ±0, 08^{d,1}	9,35 ±0,37^{d,2}	12,29 ±0,13^{d,3}	15,92 ±0,42^{c,4}
1,99	9,41 ±0,16^{e,1}	10,92 ±0,67^{e,2}	13,49 ±0,17^{e,3}	16,43 ±0,67^{c,d,4}
2,63	9,89 ±0,14^{f,1}	11,24 ±0,04^{e,2}	13,69 ±0,05^{e,3}	16,42 ±0,31^{c,d,4}
3,56	10,11 ±0,23^{f,g,1}	11,78 ±0,48^{e,2}	13,74 ±0,37^{e,3}	17,08 ±0,26^{d,4}

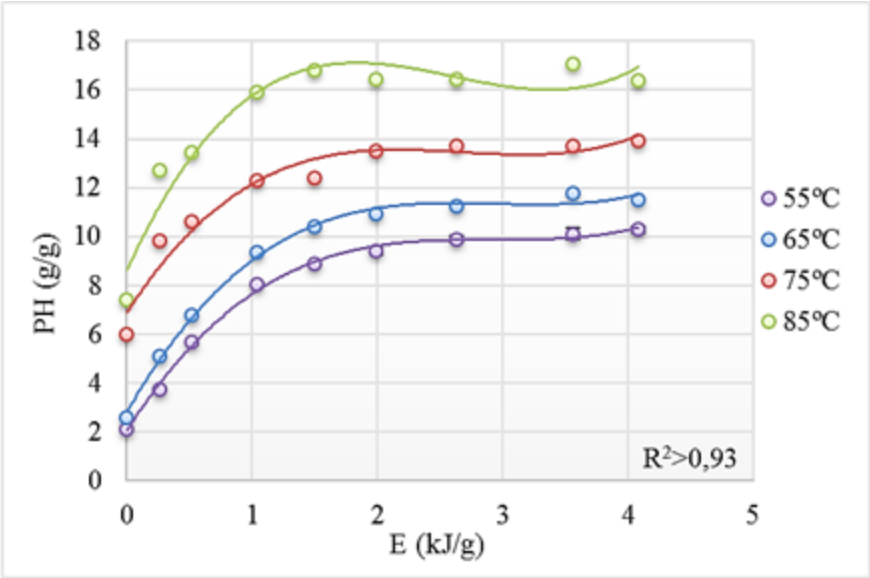
4,08	10,28 ±0,14[g,1]	11,49 ±1,80[e,1]	13,93 ±0,91[e,2]	16,38 ±0,60[c,d,3]

Los valores expresados son la media ± la desviación estándar.
Las medias en las columnas con diferentes letras en el superíndice son significativamente diferentes respecto a la energía de molienda ($p<0,05$). Las medias en las filas con diferentes números en el superíndice son significativamente diferentes respecto a la temperatura de tratamiento ($p<0,05$).

Al evaluar cuantitativamente el efecto de la energía de molienda en las propiedades de hidratación, se encontró una relación lineal entre ISA y E ($R^2>0,97$), y una relación no lineal, polinómica, entre PH y E ($R^2>0,93$), para todas las temperaturas ensayadas, como puede apreciarse en las Figuras 3a y 3b, respectivamente.

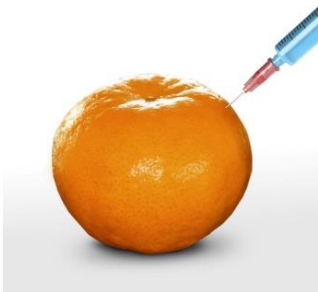


(a)



(b)

Figura 3. Relación entre la energía específica de molienda (E) y a) el índice de solubilidad en agua (ISA), b)

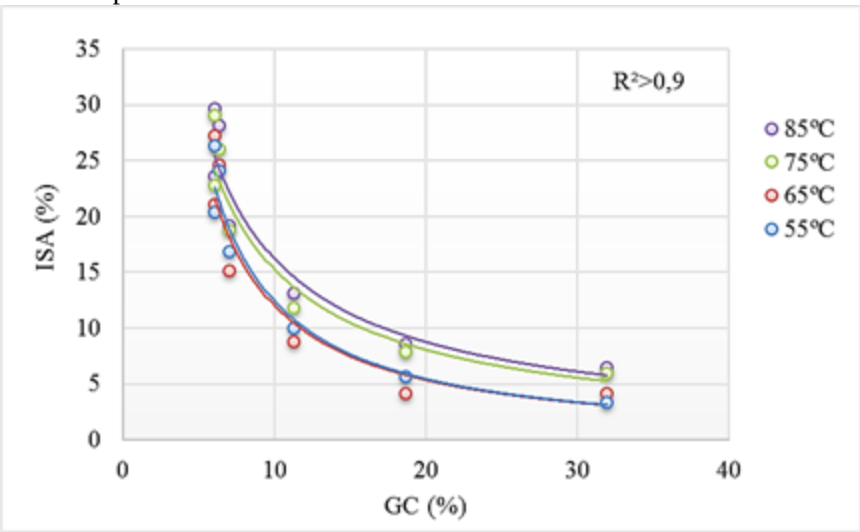


el poder de hinchamiento (PH); en función de la temperatura del ensayo.

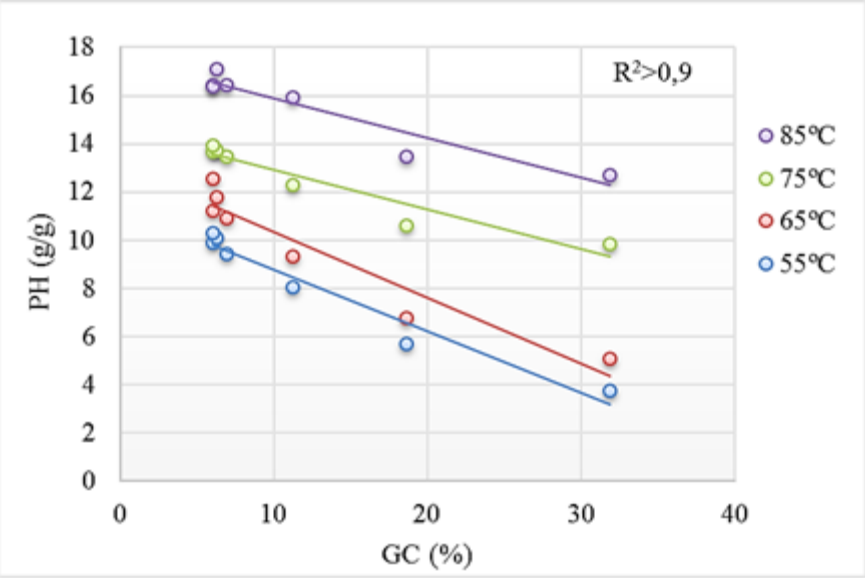
a) **55ºC**: ISA = 6,34*E+2,29; **65ºC**: ISA = 6,27*E+2,27; **75ºC**: ISA = 6,46*E+4,17; **85ºC**: ISA = 6,66*E+4,64

b) **55ºC**: PH = $0,31*E^3-2,74*E^2+8,01*E+2,07$; **65ºC**: PH = $0,35*E^3-3,07*E^2+8,92*E+2,83$; **75ºC**: PH = $0,39*E^3-3,10*E^2+7,97*E+6,89$; **85ºC**: PH = $0,61*E^3-4,76*E^2+11,31*E+8,62$

Las propiedades de hidratación están asociadas con la integridad y cristalinidad de los gránulos de almidón (Chiang y Yeh 2002). La disminución de la fracción cristalina y el aumento de la amorfa, cuantificados como la disminución en el grado de cristalinidad, mostraron tener influencia sobre las propiedades de hidratación estudiadas. Como se observa en la Figura 4 (a y b), el GC evidenció una relación exponencial negativa (R^2>0,9) con la solubilidad y una relación lineal negativa (R^2>0,9) con el poder de hinchamiento. En otras palabras, el aumento de la proporción de la fase amorfa (mayor desorden), facilita el ingreso del agua y su interacción con las cadenas del polímero, favoreciendo la solubilidad de los gránulos de almidón en agua y propiciando su capacidad de hinchamiento.



(a)



(b)

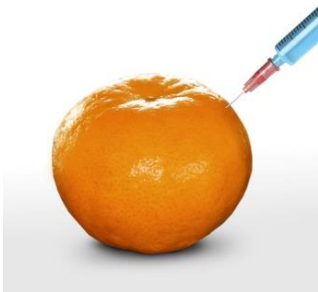


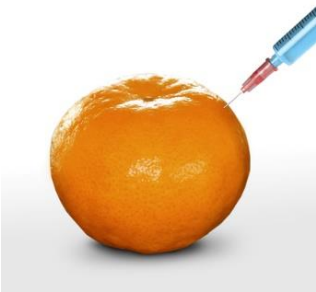
Figura 4. Relación entre el grado de cristalinidad (GC) y a) el índice de solubilidad en agua (ISA), b) el poder de hinchamiento (PH); en función de la temperatura del ensayo.
a) **55ºC**: ISA = $191{,}81*GC^{1{,}19}$; **65ºC**: ISA = $176{,}29*GC^{1{,}17}$; **75ºC**: ISA = $126{,}41*GC^{0{,}92}$; **85ºC**: ISA = $125{,}31*GC^{0{,}89}$
b) **55ºC**: PH = -0,25*GC+11,33; **65ºC**: PH = -0,27*GC+13,06; **75ºC**: PH = -0,16*GC+14,56; **85ºC**: PH = -0,16*GC+17,54

CONCLUSIONES

El trabajo demostró que la molienda seca en un molino planetario de bolas es especialmente apta para producir cambios estructurales en el almidón, que inciden significativamente sobre su comportamiento. Con el método propuesto fue posible modificar las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón de arroz nativo, sin generar residuos durante el proceso. Se comprobó que es posible obtener almidón amorfo o con diferentes niveles de cristalinidad mediante la adecuada selección de las condiciones de molienda. Las propiedades de hidratación se incrementaron, con el aumento de la severidad del tratamiento de molienda y con la temperatura de los ensayos de hidratación. La mayor capacidad de absorción y solubilidad en agua que presentaron los almidones modificados, respecto al control, le confieren interesantes características que amplían sus posibles aplicaciones en la industria cosmética, farmacéutica y de alimentos que, a su vez, se ven favorecidas por ser un ingrediente funcional libre de gluten.

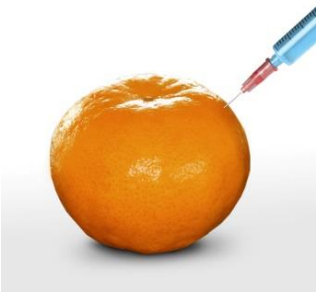
BIBLIOGRAFÍA

Alcázar-Alay SC, Meireles MAA. 2015. Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. Food Science and Technology, 35: 215-236.
Ashogbon AO, Akintayo ET. 2014. Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources: A review. Starch - Stärke, 66: 41-57.
Błaszczak W, Fornal J, Kiseleva VI, Yuryev VP, Sergeev AI, Sadowska J. 2007. Effect of high pressure on thermal, structural and osmotic properties of waxy maize and Hylon VII starch blends. Carbohydrate Polymers, 68: 387-396.
Chiang PY, Yeh AI. 2002. Effect of Soaking on Wet-milling of Rice. Journal of Cereal Science, 35: 85-94.
Deka D, Sit N. 2016. Dual modification of taro starch by microwave and other heat moisture treatments. International Journal of Biological Macromolecules, 92: 416-422.
He S, Qin Y, Walid E, Li L, Cui J, Ma Y. 2014. Effect of ball-milling on the physicochemical properties of maize starch. Biotechnology Reports, 3: 54-59.
Li J-Y, Yeh A-I. 2001. Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. 50: 141-148.
Liu TY, Ma Y, Yu SF, Shi J, Xue S. 2011. The effect of ball milling treatment on structure and porosity of maize starch granule. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 12: 586-593.
Loubes MA. 2014. Molienda seca y húmeda de arroz en molino planetario. Cinética de la molienda,efecto de las condiciones de molienda en las propiedades funcionales de la harina y del almidón y diseño de mezclas para pastas sin gluten. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
Loubes MA, Tolaba MP. 2014. Thermo-mechanical rice flour modification by planetary ball milling. LWT - Food Science and Technology, 57: 320-328.
Taggart P. 2004. Starch as an ingredient: manufacture and applications. En: A.-C. Eliasson. Starch in Food: Structure, Function and Applications. 1ra ed. Cambridge: Woodhead Publishing. pag 363-392
Tan X, Zhang B, Chen L, Li X, Li L, Xie F. 2015. Effect of planetary ball-milling on multi-scale structures and pasting properties of waxy and high-amylose cornstarches. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 30: 198-207.



Vandeputte GE, Deryckea V, Geeromsb J, Delcour JA. 2003. Rice starches. II. Structural aspects provide insight into swelling and pasting properties. Journal of Cereal Science, 53-59.
Zhu F. 2016. Impact of γ-irradiation on structure, physicochemical properties, and applications of starch. Food Hydrocolloids, 52: 201-212.

AGRADECIMIENTOS
A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires por el apoyo financiero, proyecto UBACYT 20020130100442BA y PME-2006-01685. A la empresa Saporiti S.A. por brindar generosamente el material para la realización del presente trabajo.



Estimación de la eficiencia de hornos eléctricos

Goñi S.M.[1,2], Salvadori V.O.[1,2]

[1] Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), CCT-CONICET La Plata. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
[2] Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
smgoni@quimica.unlp.edu.ar

RESUMEN

En los últimos años, en nuestro país se ha extendido el uso de hornos eléctricos, los cuales no poseen clasificación energética. Al mismo tiempo, en general el horneado de alimentos posee un elevado consumo energético y baja eficiencia. En este sentido, existe una necesidad de estudiar su eficiencia para avanzar en su clasificación energética. En este trabajo se realizaron determinaciones de consumo de energía de dos hornos eléctricos domésticos. En los experimentos se determinó el factor de uso de energía, el cual es el cociente entre el tiempo durante el cual las resistencias eléctricas están encendidas y el tiempo total, una vez alcanzado un estado de régimen estable. Se realizaron experiencias con los hornos en su estado de fábrica, y colocando aislamientos térmicos en diferentes localizaciones del horno. Al 1º horno se le colocó aislante en la pared del fondo y en el piso, no obteniéndose una mejora en el factor de uso de energía. Para el 2º horno se construyeron paredes secundarias y se colocó aislante en la pared del fondo, el piso, el techo y el lateral izquierdo. En este caso se obtuvo una mejora del factor de uso de energía de 5,3% en promedio.

Palabras clave: hornos eléctricos, consumo de energía, eficiencia energética.

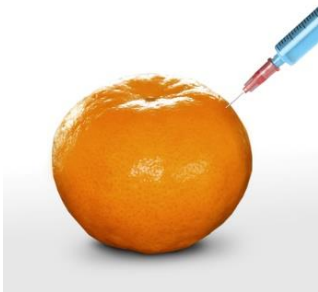
ABSTRACT

In the recent years, the use of electric ovens has increased in our country. This type of oven does not have an energy rating. At the same time, food roasting in general presents high energy consumption and low efficiency. In this sense, there is a need to study its efficiency to advance on the energy rating of the ovens. With this aim, in this work the energy consumption of two domestic electric ovens were determined. In the experiments the energy factor of use was measured, this factor is defined as the ratio of the heating time respect to the total time, after reaching a regime state. Measurements were performed using the factory setup of the ovens, and adding insulation material. The insulation material was placed on the back wall and the floor of the 1st oven; not improved values of the energy factor of use were measured. For the 2nd oven additional walls were built and the insulation material was placed in the back wall, floor, ceiling and the left side. In this case a better performance of the oven was observed, and the factor of use decreases 5.3% in average.

Keywords: electric ovens, energy consumption, energy efficiency.

INTRODUCCIÓN

El horneado de alimentos es una técnica de cocción ampliamente utilizada en nuestro país y en muchos otros, utilizada tanto a nivel doméstico, como comercial e industrial. El horneado se aplica a productos de consumo habitual y masivo, como son los productos panificados y cárneos, principalmente. La demanda de energía necesaria para cocinar el producto es alta, y se usa principalmente para calentarlo, y para evaporar parcialmente parte de su contenido de agua. Para productos cárneos y panificados se puede tener una demanda de energía del orden de 10^2 kJ/kg de masa inicial (Goñi y Salvadori 2014, Ploteau at al. 2015). Al mismo tiempo, el consumo de energía de los hornos es también alto (Le-Bail et al. 2010, Bansal et al. 2011, Purlis 2012, Khatir et al. 2012, Hager et al. 2013, Goñi y Salvadori 2012, 2014), y mucho mayor que la



demanda del producto, pudiendo alcanzar fácilmente valores del orden de 10^3 kJ/kg, dado que una parte importante de la energía erogada por los mismos se puede absorber en el equipo (paredes, bandejas, rejillas, etc.), se pierde hacia el ambiente, ya sea a través de las paredes o asociada a flujos de materia que salen del mismo (principalmente para hornos a gas). Goñi y Salvadori (2014) encontraron eficiencias (definida como la demanda de energía del producto dividido el consumo de energía del horno) menores al 20% durante la cocción de productos cárneos usando un horno eléctrico; Bansal et al. (2011) informaron una eficiencia de hornos eléctricos de 12,5%, con pérdidas hacia el ambiente de 40%; Hager et al. (2013) reportaron una eficiencia de hornos eléctricos normales de 12,15%. El uso de hornos eléctricos en nuestro país se ha incrementado en los últimos años, y continúa en ascenso, debido a diversos factores. En primer lugar, el gas natural o el gas licuado son combustibles no renovables, por lo cual se tiende a disminuir su uso. Numerosas poblaciones no poseen redes de distribución de gas natural, y su instalación es onerosa, por lo cual se emplea gas envasado; su uso se distribuye entre calefacción, acondicionamiento de agua, y elaboración de alimentos, preferentemente usando otras técnicas diferentes al horneado. Por otro lado, la instalación de redes de distribución de energía eléctrica es más barata, y el precio de una nueva clase de hornos eléctricos disponibles en el mercado en los últimos años, es más barato en comparación con cocinas a gas. Esta clase de hornos eléctricos tienen una serie de características interesantes y ventajosas; gran variedad de tamaños (de unos 15 L a más de 100 L), control de temperatura (en general), temporizador, selector de resistencias, potencias, spiedo, ventilador, doble piso removible para limpieza, anafes superiores, precios accesibles, son livianos, portátiles, se pueden usar en diferentes lugares, etc. Al mismo tiempo, las instalaciones son considerablemente más simples, y para emprendimientos comerciales son más fáciles de implementar y habilitar; etc. Sin embargo, la mayoría de los hornos disponibles están formados por una cámara y una carcasa de una lámina metálica simple y fina, con una puerta de vidrio simple, y sin ningún aislamiento adicional. Por lo tanto, se prevé que este tipo de hornos tengan elevadas pérdidas de energía hacia el ambiente. La tendencia mundial de clasificación, identificación y rotulado energético de equipos (ver por ej. UE 66 2014, para hornos de mayor tamaño) no se aplica al tipo de hornos portátiles disponibles en el mercado. Considerando todos estos aspectos en forma conjunta, se percibe una oportunidad y una necesidad de realizar estudios de eficiencia energética de este tipo de equipos, tendiente a incorporar una clasificación energética de los mismos. Más allá del diseño y funcionamiento de un horno particular, es importante mencionar que el último factor, y no menos importante, en el consumo de energía del proceso, es el propio usuario. En este sentido, DeMerchant (1997) encontró que el comportamiento del usuario puede llegar a duplicar el consumo de energía para preparar el mismo alimento. Por lo tanto es importante dar toda la información que se pueda al usuario, no solo sobre el consumo de energía de los equipos, sino también sobre buenas prácticas en la cocina, etc. El objetivo de este trabajo fue analizar la influencia de la incorporación de material aislante en el consumo de energía de hornos eléctricos domésticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se realizaron determinaciones de consumo de energía de dos hornos eléctricos domésticos. En primer lugar, se utilizó un horno “1” (Winco, origen China) para realizar una determinación preliminar del consumo de energía. El mismo posee una potencia de 2,6 kW (1,6 kW horno y 1 kW anafe) nominal y una capacidad de 36 lt. Se estableció una temperatura de operación de 200 ºC en el control del horno, y se midió su temperatura interna durante media hora, tiempo suficiente para que se alcance un estado de régimen. Posteriormente se repitió el experimento, aislando el exterior del piso y la pared del fondo del horno con una capa de fibra de vidrío de baja densidad de 1 cm de espesor; el techo y las paredes laterales no se recubrieron dado que poseen parte de los circuitos eléctricos del horno, y se usó la puerta original del horno. En ambos casos la temperatura en el centro de la cámara del horno se monitoreó usando un adquisidor de temperatura FieldLogger (NOVUS, Brasil). En ambas experiencias, luego que se alcanzó un estado de régimen estable, se determinó el factor de uso de energía, definido como el cociente entre el tiempo durante el cual los elementos calefactores permanecen encedidos, valor que es determinado a partir de las curvas de temperatura, y el tiempo total. Este valor provee una medida de la eficiencia del horno (Goñi y Salvadori

2012, 2014), siendo deseables valores los más bajos posibles, lo que implica que las resistencias deben estar encendidas poco tiempo para mantener una temperatura estable dentro de la cámara del horno. Posteriormente, se adquirió un horno eléctrico "2" (ATMA, origen China), de 1,8 kW de potencia y 50 lt de capacidad. El mismo representa mejor el universo de hornos disponibles en el mercado. En este caso, las mediciones de temperatura se realizaron en 4 puntos del plano horizontal central del horno: en el centro de la cámara, en las cercanías de la pared posterior, en las cercanías de la puerta, y en las cercanías de la pared lateral (**Fig. 1**). Adicionalmente, se colocó una termocupla en la parte central de la puerta, desde el lado exterior, y otra termocupla en la parte central del piso, también del lado exterior. Estas mediciones se realizaron teniendo en cuenta que la puerta es la parte más probable que el usuario puede tocar ocasionalmente, y que podría producir algún tipo de lesión, y que por otro lado el piso del horno está muy cercano a la base donde se apoya el horno, por lo cual podría afectarlo.

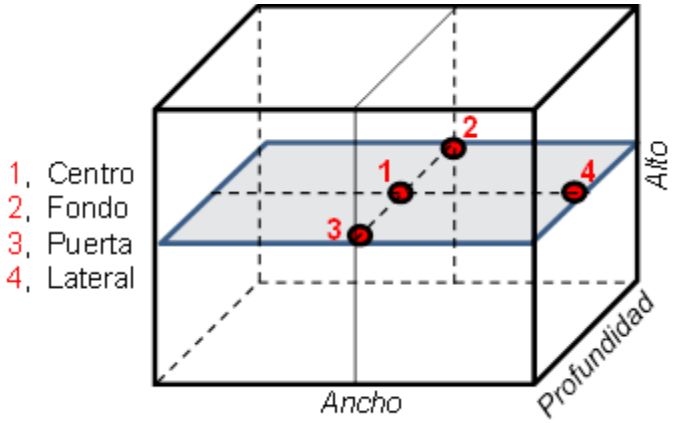


Figura 1. Disposición esquemática de los puntos de medición de temperatura interna del horno.

Con este horno se trabajó a temperaturas nominales de 150, 200 y 250ºC. Las mediciones se iniciaron a 150ºC; luego de alcanzar el estado de régimen, se continuó el experimento el tiempo suficiente para que se produzcan algunos ciclos de encendido/apagado del sistema de control del horno, de manera de estimar el factor de uso de energía. Luego se aumentó la temperatura a 200ºC, y se repitió el procedimiento, y finalmente a 250ºC. Posteriormente, se procedió a incorporar aislación a este equipo. Para esto se construyeron diversas paredes adicionales en aluminio. Una pared externa adicional se usó para recubrir el piso y el fondo del horno. Similarmente, otras paredes internas se usaron para recubrir el lateral izquierdo y el techo. La puerta se dejó sin modificaciones, y la pared lateral derecha se dejó sin aislamiento. Esta decisión se tomó en virtud de que el sensor de temperatura del sistema de control del horno está dentro del panel de instrumentos del horno, y no dentro de la cámara o en contacto con la pared el horno; si se colocara aislante el sensor de temperatura no se calentaría y se podría dañar el equipo. El espacio dejado entre las paredes de la cámara del horno y las nuevas paredes fue de 2 cm, y fueron rellenados con fibra de vidrio. También se midió la temperatura de las superficies exteriores de ambos hornos usando una cámara termográfica (TESTO 875, Alemania).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Tabla 1** resume los resultados obtenidos para el horno "1" usado en las pruebas preliminares. Tanto para el horno normal como para el horno con aislante, se encontró que el factor de uso de energía fue igual a 0,485; esto se debe a que menos del 35% de la superficie de la cámara del horno fue recubierta con aislante. Una vez logrado el estado de régimen, este factor representa el tiempo efectivo de resistencias encendidas

sólo para mantener el valor deseado de temperatura, ya que en estas pruebas el horno está vacío, sin productos. En términos equivalentes, se puede afirmar que el horno pierde casi el 50% de la energía suministrada por las resistencias eléctricas, y que el aislamiento no redundó en una disminución del consumo de energía.

Tabla 1. Efecto del aislamiento para el horno "1", temperatura nominal de 200ºC.

	Horno normal	Horno aislado
Temperatura en el centro (ºC)	200,3	205,6
Factor de uso	0,485	0,485

El aislamiento no logró aumentar la eficiencia en forma directa, sin embargo se obtuvo una mejora indirecta. Esto se debe a que se produjo un aumento de la temperatura de la cámara del horno de 5,3ºC y disminuyó el tiempo de puesta en régimen. Para lograr mejoras más directas y sustanciales de la eficiencia se deberían aislar todas las superficies del horno y modificar su puerta. La **Figura 2** muestra la temperatura en la parte exterior de la puerta del horno; como puede verse, se alcanzan temperaturas considerablemente altas. Éstas temperaturas tan elevadas son clara muestra de las considerables pérdidas de energía que se producen.

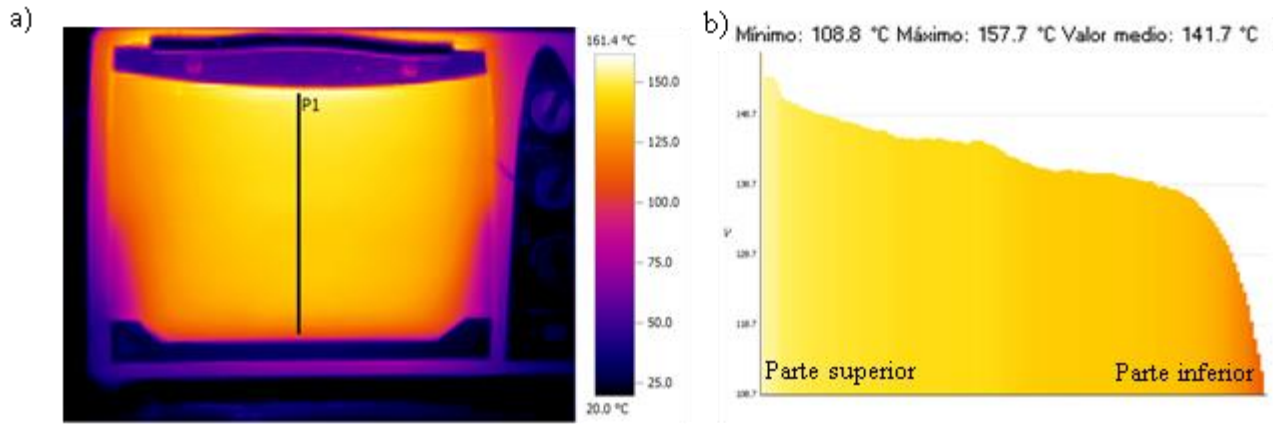


Figura 2. Distribución de temperaturas en a) la parte exterior de la puerta de vidrio del horno "1" luego de media hora de funcionamiento, y b) detalle de la variación de temperatura a lo largo de una línea vertical en el centro de la puerta.

La **Figura 3** muestra detalles del aislamiento realizado en el horno "2"; la 2º pared incorporada en el techo y el lateral izquierdo queda cubierta por la carcasa original del horno. Se cubrieron 4 de las 6 caras de la cámara del horno, en términos de área esto representa aproximadamente el 70% de la superficie de la cámara (~0,63 m^2 cubiertos de ~0,9 m^2 totales).

Figura 3. Diferentes vistas del horno "2" con el aislamiento.

La **Figura 4** muestra la temperatura registrada usando el horno "2". Al comienzo la temperatura aumenta hasta que comienza a actuar el sistema de control del horno. Luego la temperatura oscila (±3,2ºC de desviación estándar promedio para todas las medidas) alrededor de un valor determinado, el cual no necesariamente es cercano a la temperatura nominal; a 150ºC de temperatura nominal, la temperatura de funcionamiento del horno es más de 40ºC más baja. Para el horno "1" se obtuvo un comportamiento similar, pero con un rango de variación considerablemente menor (±1,6ºC de desviación estándar).

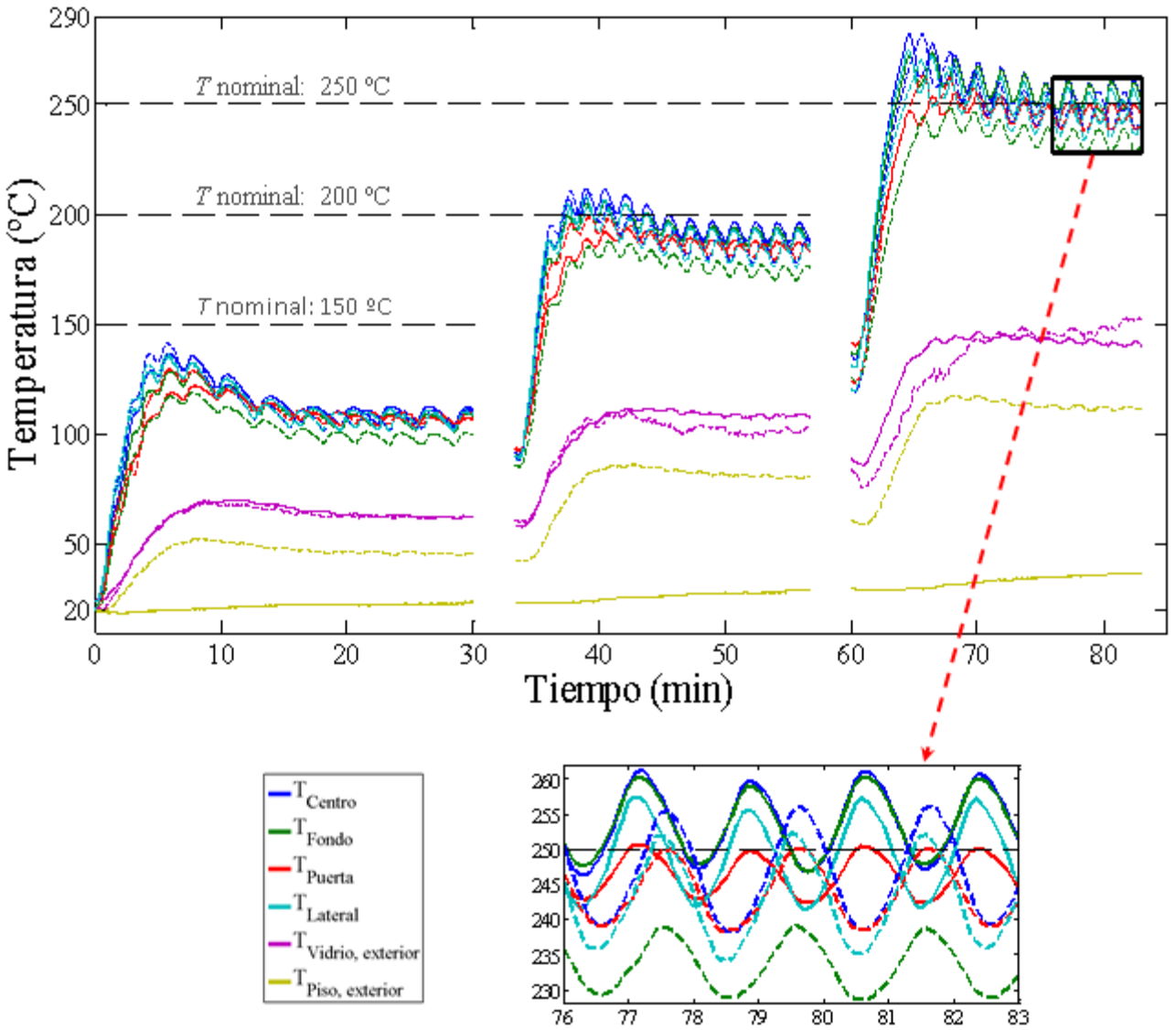


Figura 4. Temperaturas medidas en diferentes puntos del horno "2", a diferentes temperaturas nominales. Líneas punteadas: horno normal. Líneas continuas: horno aislado.

La **Tabla 2** presenta un resumen de los resultados obtenidos para el horno "2". Como es de esperar, conforme aumenta la temperatura del horno aumenta la pérdida de energía, lo cual se refleja en el aumento del factor de uso, tanto para el horno normal como para el horno aislado. Para este horno, al usar aislamiento sí se observó una disminución del factor de uso, dado que el aislamiento se aplicó a una fracción del área del horno mucho mayor. La reducción del factor de uso fue de 8,47, 3,33 y 4,11%, para 150, 200 y 250ºC de temperatura nominal, respectivamente.

Simultáneamente, nuevamente se obtiene una mejora indirecta de la eficiencia, dado que se verificó un aumento de la temperatura en la mayoría de los puntos interiores, de hasta casi 10% en algunos puntos. En particular, en el fondo se registraron las mayores diferencias, donde se instaló una segunda pared con aislante. Es importante mencionar que en otras partes del horno podrían producirse mayores diferencias de temperatura, pero aquí se midieron solamente los lugares mencionados.

Tabla 2. Efecto del aislamiento en las temperaturas internas del horno "2", a diferentes temperaturas nominales.

Temperatura (ºC)	Horno normal			Horno aislado			Diferencia (aislado-normal)		
Nominal	150	200	250	150	200	250	150	200	250
Centro	107,5	184,1	243,2	109,4	192,4	253,9	1,9	8,3	10,7
Fondo	98,6	174,2	232,8	106,3	190,4	253,8	7,7	16,2	21,0
Puerta	107,9	183,9	243,4	106,4	185,7	246,5	-1,5	1,8	3,1
Lateral	106,8	182,5	242,6	107,5	188,7	249,2	0,7	6,2	6,6
Máxima diferencia (ºC)	9,3	9,9	10,6	3,1	6,7	7,4			
Factor de uso	0,354	0,406	0,481	0,324	0,392	0,461			

Adicionalmente, el aislamiento produjo una mejora en la uniformidad de la distribución de temperaturas en la cámara del horno; la diferencia de temperatura dentro de la cámara del horno siempre fue menor usando aislamiento. La **Figura 5** muestra gráficamente la variación de temperatura (para 3 de los 4 puntos medidos) y el cambio de uniformidad mencionado; al usar aislamiento en el fondo, la variación de temperatura entre el fondo y el centro resultó mucho más baja. La resistencia que ofrece una pared a la transferencia de energía depende de su espesor y su conductividad térmica (Bird, 2006). La pared posterior (fondo) tiene un espesor mucho menor que la puerta de vidrio, y una conductividad térmica considerablemente más alta, por lo cual pierde mayor energía por unidad de área. Debido a esto la temperatura disminuye desde el centro del horno hacia el fondo. Al incorporar el aislante se limitan las pérdidas y la temperatura en el fondo aumenta entre 7,7 y 21ºC, lo que también determina que aumente el resto de las temperaturas medidas en el interior de la cámara del horno.

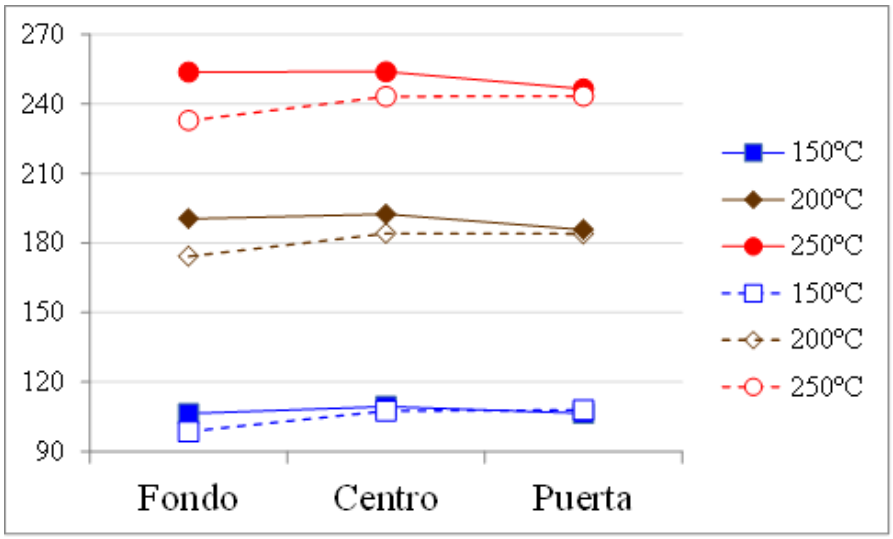


Figura 5. Distribución de temperatura a lo largo de la línea central del horno (ver **Figura 1**), a diferentes temperaturas nominales. Símbolos vacíos: horno normal. Símbolos llenos: horno aislado.

La temperatura en las superficies exteriores se determinó usando la cámara termográfica y/o termocupla. La **Tabla 3** presenta los valores obtenidos. La temperatura de la puerta alcanzó valores considerables (independientemente del instrumento usado para la medición), los cuales requieren tener especial cuidado en el uso de este tipo de hornos. La Figura 6 muestra la distribución de temperaturas de distintas superficies del horno "2"; diferentes materiales tienen emisividades diferentes, por lo cual se debe establecer correctamente su valor para medir temperatura en la región particular de interés.

Tabla 3. Temperatura de las superficies exteriores del horno "2", a diferentes temperaturas nominales.

Temperatura (ºC)	Instrumento	Horno normal			Horno aislado		
Nominal		150	200	250	150	200	250
Puerta, desde el exterior	Termocupla	62,6	101,5	150,3	63,1	108,5	141,8
	Termografía	74,7	124,4	165,2	72,9	124,8	166,03
Piso, desde abajo	Termocupla	46,0	80,4	111,8	23,0	28,2	36,2
Fondo, desde atrás	Termografía	49,6	81,9	117,3	33,1	42,6	61,2

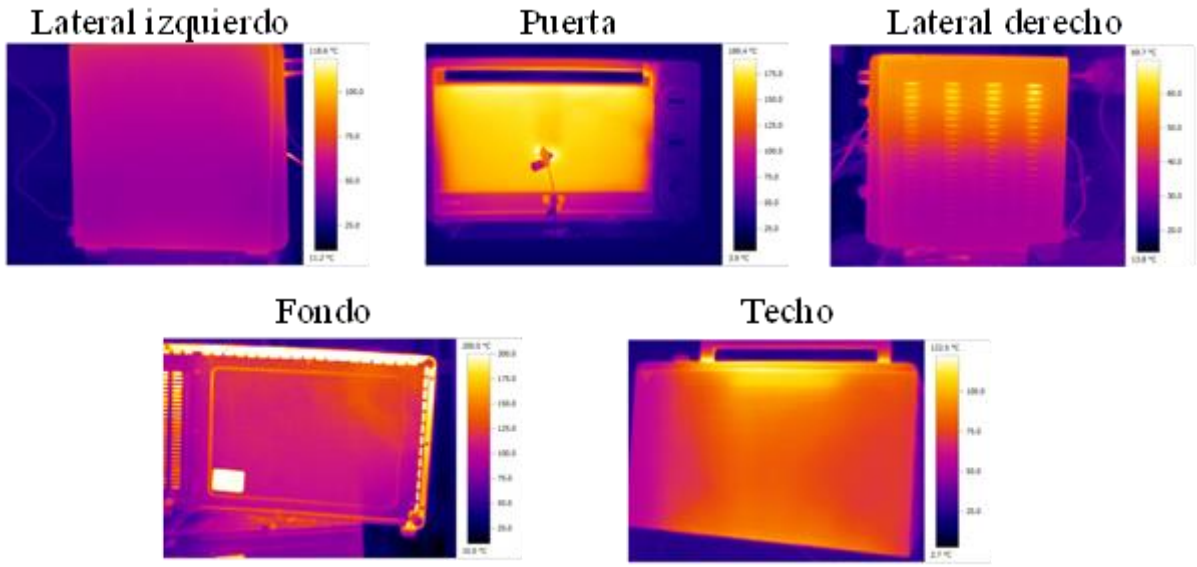


Figura 6. Distribución de temperatura en las superficies exteriores del horno "2", sin usar aislamiento, a una temperatura nominal de 250ºC.

Si bien se obtuvieron mejoras directas e indirectas de la eficiencia del horno, la elevada difusividad térmica del material de las paredes del horno podría estar limitando la reducción en el consumo de energía. Esto se debe a que el calor que absorben las paredes de la cámara del horno se transfiere muy rápidamente hacia regiones más frías, donde se disipa hacia el ambiente. La **Figura 7** compara la distribución de temperatura en el techo del horno con y sin aislamiento, y como puede verse, el aislamiento reduce la temperatura. La cámara del horno está físicamente unida al techo por el frente y el fondo (no por los laterales), y la forma de la distribución de temperatura observada, es compatible con la suposición de un importante efecto de la transmisión de energía por conducción a lo largo de la pared.

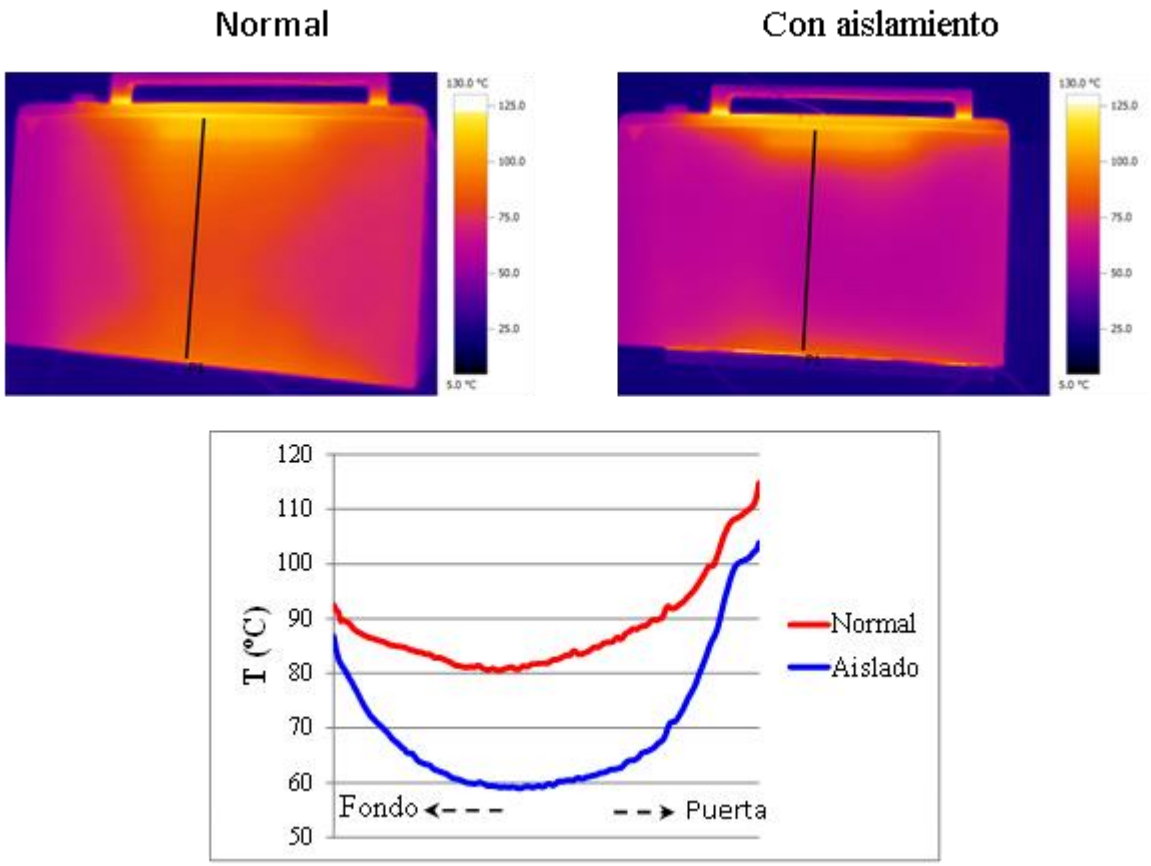


Figura 7. Distribución de temperatura en el techo del horno "2", a una temperatura nominal de 250ºC, y variación a lo largo de una línea central.

La **Figura 8** muestra una simulación (COMSOL Multiphysics® 3.5, COMSOL AB, Suecia) donde se observa el fenómeno descrito; el material de la pared es aluminio de 1 mm de espesor, la puerta es vidrio de 3,5 mm de espesor, y el material aislante es fibra de vidrio de 28 mm de espesor. La temperatura en las superficies interiores fue impuesta, variando de 20 a 250ºC en 5 min, y en las superficies exteriores se establecieron pérdidas por convección, usando un coeficiente efectivo de transferencia de energía h = 6 W/(m^{2}ºC), y una temperatura ambiente de 20ºC. La simulación predice que el techo va a estar más caliente que el aislante, debido a la transferencia de energía a lo largo de la pared metálica. A tiempos largos (estado estacionario), el techo va a estar más frío, pero para alcanzar tal estado se requieren tiempos mucho más largos que los habitualmente usados en una cocción típica. Se requieren determinaciones experimentales adicionales para poder caracterizar satisfactoriamente este comportamiento. Por otro lado, la pared metálica de alta difusividad térmica es necesaria y conveniente, tanto en la cámara del horno como en las paredes externas, para que la energía se transfiera rápidamente y evitar puntos o zonas de excesiva temperatura.

Desde el punto de vista de diseño y construcción, se podrían realizar varias modificaciones, las cuales sirven al propósito de disminuir el consumo energético:

- en primer lugar, como se demuestra en este trabajo, se puede incorporar aislación a los hornos. Cuanto más baja difusividad térmica posea el aislante utilizado tanto mejor, aunque además hay que considerar el peso y el costo del mismo.
- se podría usar puerta de doble vidrio, no solo para disminuir el consumo de energía, sino también para disminuir los riesgos de lesiones del usuario, dado que al aumentar el espesor se alcanzarán temperaturas

exteriores más bajas. A partir de los datos de las **Tablas 2** y **3**, se observa que la disminución promedio de temperatura entre las cercanías de la puerta (desde el interior), y el exterior, fue de 44,3, 79,8 y 98,9ºC, para temperaturas nominales de 150, 200 y 250ºC, respectivamente.

- se podría utilizar otro material, de baja difusividad térmica, para conectar estructuralmente la cámara del horno con las paredes exteriores o carcasa del horno, de manera tal de retrasar el calentamiento de la carcasa del horno.

La incorporación de aislante, partes metálicas para paredes dobles, doble vidrio, etc., va a incrementar el peso del equipo. En este sentido, se puede aprovechar el espacio entre la cámara del horno y la carcasa del mismo para contener el aislante sin realizar mayores modificaciones. Por otro lado, estas partes adicionales requerirán energía adicional para calentarse, aunque serán bajas.
Otros aspectos que pueden considerarse en el diseño incluyen:

- la ubicación del sensor de temperatura del sistema de control del horno, el cual podría colocarse en contacto o cerca de alguna de las paredes del horno, de manera tal de poder colocar aislante en todas las paredes.
- usar recubrimientos antiadherentes, antioxidantes, etc., en el interior de la cámara del horno, de manera tal de aumentar su vida útil.

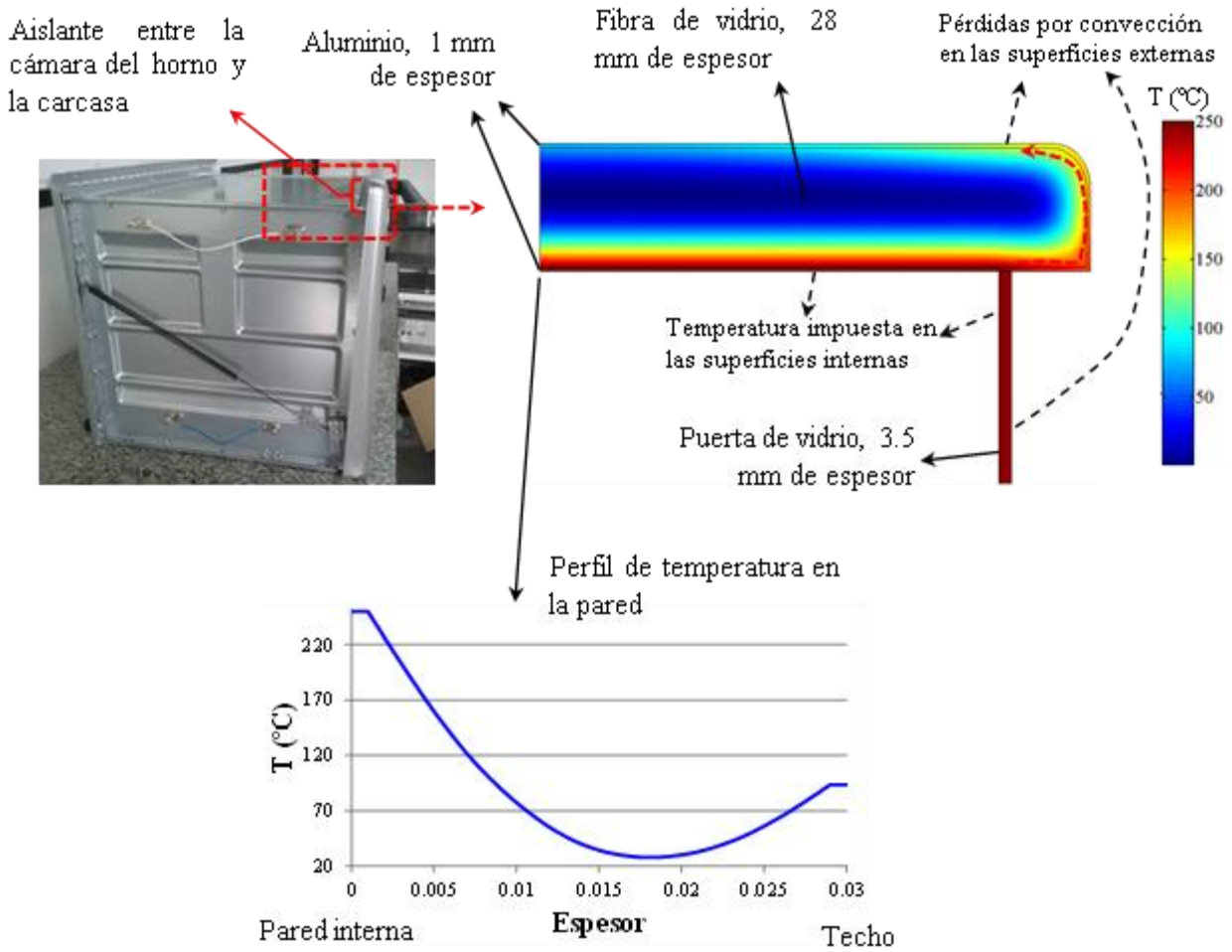


Figura 8. Perfil de temperatura simulado en un sistema modelo durante media hora.

CONCLUSIONES

En este trabajo se determinó la influencia de la incorporación de material aislante en el consumo de energía de hornos eléctricos domésticos. Se encontró que la incorporación de aislamiento disminuye el consumo de energía del horno y simultáneamente produce un aumento de la temperatura efectiva de funcionamiento del mismo. Por lo tanto, se produce un doble efecto que va a mejorar la eficiencia de los hornos. Por otro lado, se encontró que la incorporación de aislamiento disminuye las diferencias de temperatura dentro de la cámara del horno, por lo cual podrían lograrse cocciones más uniformes. Este tipo de estudios puede servir para informar al consumidor, y para desarrollar regulaciones sobre el rotulado energético y establecer estándares mínimos de eficiencia energéticos a los fabricantes e importadores de equipos.

BIBLIOGRAFÍA

Bansal P, Vineyard E, Abdelaziz O. 2011. Advances in household appliances - A review. Applied Thermal Engineering, 31: 3748-3760.

Bird RB, Stewart WE, Lightfoot EN. 2006. Fenómenos de Transporte. 2º Ed., Limusa Willey, México.

DeMerchant EA. 1997. User's Influence on Energy Consumption with Cooking Systems Using Electricity, Doctoral Thesis. Último acceso 26/10/2016: http://scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-119142139711101/unrestricted/edemerch.etd.pdf

Goñi SM, Salvadori VO. 2012. Model-based multi-objective optimization of beef roasting. Journal of Food Engineering, 111: 92-101.

Goñi SM, Salvadori VO. 2014. Energy Consumption Estimation during Oven Cooking of Food. En Reiter, S., Ed., Energy Consumption: Impacts of Human Activity, Current and Future Challenges, Environmental and Socio-Economic Effects. Nova Science Publishers, Inc., New York. pp. 99-116.

Hager TJ, Morawicki R. 2013. Energy consumption during cooking in the residential sector of developed nations: A review. Food Policy, 40: 54-63.

Khatir Z, Thompson H, Kapur N, Toropov V, Paton J. 2012. Multi-objective Computational Fluid Dynamics (CFD) design optimisation in commercial bread-baking. Applied Thermal Engineering, 60: 480-486.

Le-Bail A, Dessev T, Jury V, Zuniga R, Park T, Pitroff M. 2010. Energy demand for selected bread making process: conventional versus part baked frozen technologies. Journal of Food Engineering, 96: 510-519.

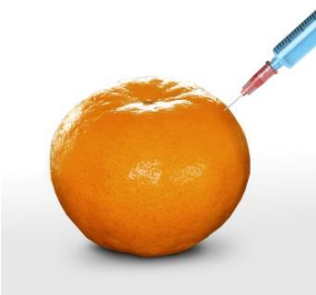
Ploteau JP, Glouannec P, Nicolas V, Magueresse A. 2015. Experimental investigation of French bread baking under conventional conditions or short infrared emitters. Applied Thermal Engineering, 75: 461-467.

Purlis E. 2012. Baking process design based on modelling and simulation: Towards optimization of bread baking. Food Control, 27: 45-52.

UE 66, 2014. Diseño ecológico aplicables a los hornos, las placas de cocina y las campanas extractoras de uso domestic. Último acceso 26/10/2016:
http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0066&from=EN

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se financió con fondos provenientes de la UNLP (11I183), ANPCyT (PICT 2013-1637), y CONICET (PIP-180).



Comparación del comportamiento reológico de los galactomananos de la *"Gleditsia triacanthos"* con las gomas espina corona, guar y garrofín

Ibarra G.J., Bitenc M.L., Masci F.T., Schelover P., Ramos N.A.G.

Fisicoquímica, Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Luján, Ruta 5 y Av. Constitución, Luján, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
nelsi.guadalupe.ramos@gmail.com

RESUMEN

De las semillas de la especie *Gleditsia triacanthos* (Gt) se obtuvo un extracto rico en galactomananos. El objetivo fue determinar su comportamiento reológico y cotejarlo con goma Espina Corona (*Gleditsia amorphoides)* (EC), goma Guar (Gu) y goma Garrofín (Ga) al 0,6% (p/p). Para el análisis reológico se empleó un reómetro Anton Paar Physica MCR 301, con sensor de platos paralelos de 50 mm y gap de 1 mm a 25ºC. Se realizó un barrido de flujo entre 0 y 500 s^{-1}. Con el propósito de determinar los módulos G´ y G´´, se efectuó un barrido de frecuencia entre 0,1 y 10 Hz con una deformación de 6,5%. Las gomas presentaron un comportamiento que ajustó al modelo de la potencia presentando el índice de consistencia, "*K"*: Gu>Ga>Gt>EC y el índice de comportamiento al flujo "*n"*: Gu<Gt<Ga<EC. Todos los hidrocoloides presentaron un G´´ > G´ evidenciando el predominio del comportamiento viscoso. Los valores obtenidos de G´ y G´´ mostraron el siguiente orden: Gu>Gt≥Ga>EC. Se concluye que la goma Gt presenta un comportamiento reológico similar a las gomas guar, garrofín y espina corona, por lo que es factible su utilización en la formulación de alimentos.

Palabras Clave: *Gleditsia triacanthos*, *Gleditsia amorphoides*, Goma Guar, Goma Garrofín, Comportamiento reológico.

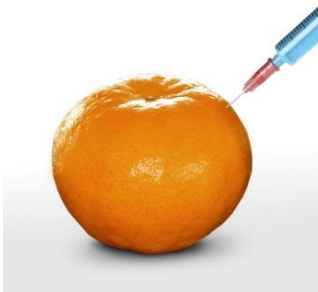
ABSTRACT

From the seeds of species *"Gleditsia triacanthos",* (Gt) an extract rich in galactomannan was obtained. The aim of this work was to determine their rheological behavior and compare it against Espina Corona gum (*Gleditsia amorphoides)* (EC), Guar gum (Gu) and Garrofín gum (Ga) to 0.6% (w/w). The rheological analysis was determined by using a rheometer Anton Paar Physica MCR 301, with sensor 50 mm parallel plates and 1mm gap at 25 °C. A flow sweep from 0 to 500 s^{-1} was performed. In order to determine the G' and G" modules, a frequency sweep from 0.1 to 10 Hz with a deformation of 6.5% was made. Gums presented a behavior which adjusted the power model presenting the consistency index, "K": Gu>Ga>Gt>EC and behavior index flow "n": Gu<Gt<Ga<EC. All hydrocolloids presented a G´´ > G´ showing the predominance of viscous behavior. The values of G' and G´´ showed the following order: Gu>Gt≥Ga>EC. We conclude Gt gum presents a rheological behavior similar to guar, garrofín and espina corona, so its use in food formulation is feasible.

Keywords: *Gleditsia triacanthos*, *Gleditsia amorphoides*, Guar gum, Garrofín gum, Rheological behavior.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la tendencia a mantener «costumbres sanas» en la alimentación se está perdiendo debido al sistema de vida occidental. Así, por ejemplo, el consumo de frutas y verduras frescas, fuentes de fibra, soluble e insoluble, se ha visto reducido de forma considerable. Frente a esta problemática, la industria incorpora una serie de compuestos e ingredientes, entre ellos los hidrocoloides o "fibra soluble", en la elaboración de sus productos. Así, los patrones de consumo de fibra dietaria se están incrementando en la población gracias al



desarrollo de nuevos alimentos funcionales ricos en estos componentes de fibra. Cabe destacar que los galactomananos como "fibra soluble", tienen efectos beneficiosos sobre la salud retrasando la captación de glucosa, haciendo más plano el pico glucémico y eliminando colesterol. Los mecanismos de acción son varios: aumento del contenido gastrointestinal, que interfiere en la formación de micelas y absorción de lípidos; aumento y excreción de esteroles y ácidos biliares e inhibición de síntesis de colesterol hepático, debido a la absorción del ácido propiónico formado en la fermentación (Brown et al. 1999, Molina Montes et al. 2007).

Producto de la industrialización de los alimentos surgen los aditivos, como es el caso de los hidrocoloides que contribuyen a mantener la estabilidad y las características físico-químicas por más tiempo, o durante su tiempo de vida útil. Además, poseen propiedades reológicas que se traducen en un aumento de la viscosidad, en la formación de geles, en la modificación e inhibición de la cristalización y en la estabilización de emulsiones, espumas y dispersiones. Existen en el mercado local gran variedad de hidrocoloides como la goma xántica, goma guar, goma garrofín, agar-agar, alginato de sodio, pectinas y carrageninas, todos de origen importado y de muy alto precio.

La *Gleditsia triacanthos*, conocida como acacia negra, es una leguminosa, originaria de EUA y es considerada invasora y se encuentra ampliamente distribuida en la Región Pampeana de la República Argentina. Es una especie que tolera a distintos tipos de climas, suelos y cuenta con múltiples estrategias que favorecen su rápida propagación, como su gran producción de semillas (en promedio 22 por fruto) (Esteves et al. 2012, Leggieri 2010). La composición de las semillas es 27% pericarpio, 29% germen y 37% endosperma (Manzi et al. 1984). El pericarpio está compuesto mayoritariamente por carbohidratos como lignina, el endosperma contiene principalmente carbohidratos y en menor proporción proteínas y péptidos de bajo peso molecular. El germen presenta un gran contenido de proteínas, el 70% del total de la semilla (Sciarini et al. 2009). A partir del endosperma de las semillas se aísla el galactomanano.

La estructura de este galactomanano ha sido fijada como una cadena lineal de β (1→4)-D-tri-manosa (48,4%) unidas a α (1→6) -D-galactosa (15,5%), estructura similar a otros galactomananos (Sciarini et al. 2009). La relación manosa/galactosa depende del método de extracción (Cengiz et al. 2013), además de las condiciones de crecimiento de la planta,(Sciarini et al. 2009) y, a su vez, determina las propiedades de interacción y sinergismo con otros hidrocoloides (Wu et al. 2012).

Los métodos reológicos permiten, esencialmente, apreciar el poder espesante de los hidrocoloides. Se ha establecido que la sensación de consistencia percibida por el consumidor, depende fuertemente de las propiedades de fluidez del producto.

La goma de Gt demostró ser un hidrocoloide con propiedades espesantes que ofrece una excelente alternativa como reemplazo de goma guar (Bourbon et al. 2009). Además, posee capacidad de sinergismo con la goma xántica, carrageninas, alginatos y carboximetilcelulosa (Cengiz et al. 2013).

Sciarini et al. (2009) realizaron estudios comparativos de las propiedades reológicas de la Gt con goma xántica y goma guar.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el comportamiento reológico del extracto rico en galactamanano de la *Gleditsia Triacanthos* y cotejarlo con las gomas espina corona, de origen nacional, guar y garrofín de procedencia importada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se obtuvo un extracto rico en galactomananos, de las semillas de la especie *Gleditsia Triacanthos* que fueron recolectadas en la localidad de Luján, Pcia. de Buenos Aires. Se utilizaron marcas comerciales de grado alimenticio de las gomas guar, garrofín y espina corona (*Gleditsia Amorphoides*).

Extracción de Galactomananos

Las semillas de Gt fueron separadas manualmente de sus vainas y almacenadas en lugar fresco y seco. Las semillas fueron trituradas en un molinillo. Luego, con la finalidad de inactivar enzimas y eliminar compuestos

de bajo peso molecular (Cerqueira et al. 2009, Sciarini et al. 2009), al polvo resultante, se le agregó etanol en proporción 1:3 (semilla : alcohol) y se llevó a 70ºC durante 15 minutos agitando manualmente cada 5 minutos. Se dejó decantar y se separó el alcohol. Al producto obtenido se le agregó agua destilada a 85º C en una proporción 1:5, se homogeneizó y se dejó en reposo a 8ºC por 24 h. Se separó el pericarpio por filtración a 85°C y se descartó. Al pasante del filtrado se le agregó etanol 96% en proporción 1:2 (suspensión : etanol) para insolubilizar los polisacáridos. El floculo obtenido se secó por liofilización a -54 ºC, $30*10^{-3}$ mbar, durante 72 h. se realizaron cuatro lotes.

Determinación de macronutrientes

El contenido de humedad se realizó por deshidratación de las muestras molidas, en estufa a 105°C, (925.10-AOAC).

Las cenizas se determinaron por calentamiento en mufla a 525°C, con calcinación previa (923.03 AOAC)

Proteínas fueron determinadas por el método de Kjeldahl. Factor de conversión de 6,25 (46.12 AOAC).

Los lípidos totales se cuantificaron mediante método de Soxhlet (920.85 AOAC).

Los Carbohidratos totales se calcularon por diferencia. Los ensayos se realizan por duplicado.

Determinación de Minerales y Arsénico

Preparación de las muestras

Para la determinación de Cobre, Cromo, Cadmio y Plomo se pesaron exactamente en balanza analítica 5 gramos de muestra. Las porciones analíticas se calcinaron primero en mechero y finalmente en mufla a 500ºC hasta obtener cenizas blancas que luego fueron solubilizadas con HNO_3 (1:1) y trasvasadas a matraces de 25 mL enrazando con agua ultrapura (18MΩ). Para la determinación de Arsénico se pesaron exactamente en balanza analítica 5 gramos de muestra, se agregaron 5 ml de solución de $MgNO_3$ 20% (m/v) y MgO 5% (m/v) y se calcinaron lentamente con una llama fría (250-300ºC) y luego en un horno mufla a 450ºC hasta la obtención de cenizas. Posteriormente fueron solubilizadas con HNO_3 (1:1) y trasvasadas a matraces de 25 ml enrazando con agua ultrapura (18MΩ).

Metodología analítica

El contenido de Cobre se determinó por absorción atómica en un espectrofotómetro marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 200 con llama aire acetileno y operado en condiciones estándar (Método AOAC Official Method 999.11).

Las concentraciones de Cromo, Cadmio y Plomo se determinaron por absorción atómica con atomización electrotérmica (horno de grafito) utilizando un espectrofotómetro marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 200 y horno de grafito marca Perkin Elmer, modelo HGA 900 (Método AOAC Official Method 999.11).

El Arsénico se determinó por absorción atómica con generación de hidruros en el mismo espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo AAnalyst 200 y un FIAS marca Perkin Elmer, modelo FIAS 100 (Método AOAC Official Method 986.15).

En todos los casos se utilizaron reactivos Merck de calidad p.a. y estándares para Absorción Atómica (Titrisol, Merck) con los que se efectuaron las calibraciones. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

Elaboración de las dispersiones

Se elaboraron dispersiones al 1% p/p mediante agitación con equipo Ultraturrax a 20 rpm , en agua destilada a 85°C, de las gomas de Gt, EC, Gu y Ga al 0,6% (p/p) por duplicado.

Propiedades reológicas de las dispersiones

El análisis reológico fue llevado a cabo empleando un reómetro de estrés controlado Anton Paar Physica MCR 301, con temperatura controlada, de 25ºC, por un sistema “Peltier Hood”, con sistema de sensor de platos paralelos de 50 mm de diámetro y con un gap de 1 mm.

Con la finalidad de caracterizar el comportamiento reológico de las dispersiones de las gomas se realizó un barrido de flujo entre 0 y 500 s^{-1}. Un barrido de deformación, con la finalidad de determinar el intervalo de viscoelasticidad lineal. Con el propósito de determinar los módulos G´ y G´´, se efectuó un barrido de frecuencia entre 0,1 y 10 Hz con una deformación de 6,5%.

Propiedades rotacionales de las dispersiones

La velocidad de deformación varió desde 0,01 a 100 s^{-1} en un intervalo de 200 s y la distancia entre platos fue

1 mm. El comportamiento reológico de los fluidos pseudoplásticos puede modelarse en un intervalo limitado de velocidad de deformación, $\dot{\gamma}$ empleando la Ley de la potencia de Ostwald (Ecuación 1).

$$\tau = K\,\dot{\gamma}^{n} \quad (1)$$

Siendo τ el esfuerzo de corte, K el índice de consistencia y n el índice de comportamiento al flujo (Vázquez-Solorio et al. 2011).
Los valores de n aportan información con respecto a las interacciones entre los polímeros, valores mayores indican una mayor interacción entre los polímeros. El grado de dependencia de G´ y G´´ con la frecuencia puede ser expresado por la ley de la potencia según las siguientes Ecuaciones 2 y 3 (Stading y Hermansson 1990).

$$\log G' = a \log f + b \quad (2)$$

$$\log G'' = a \log f + b \quad (3)$$

Donde, G' es el módulo de almacenamiento y G'' es el modulo viscoso, f es la frecuencia de oscilación y b es una constante. La dependencia del módulo elástico con la frecuencia da información sobre el tipo de estructura que presenta. Para geles fuertes, la pendiente a es igual a cero, mientras que para geles débiles $a > 0$ (Stading y Hermansson 1990).

Análisis estadístico
Análisis de los resultados por aplicación de la prueba de Tukey a $p < 0{,}05$ utilizando el GraphPad Prims v6.0 (Software GraphPad, San Diego, CA, EE.UU.). Los resultados presentados son el promedio de cuatro mediciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Tabla 1** se muestran los resultados del análisis composicional del extracto obtenido, dónde se puede observar un alto contenido de polisacáridos. La cuantificación de los metales y arsénico, arrojó los siguientes resultados: 0,004 ppm de Cr, 0,018 ppm de Cd, 0,007 ppm de Cu 0,207 ppm de Pb, y < 0,05 ppm de As; reflejando niveles inferiores a los permitidos por la Comisión del Codex Alimentarius, para la goma guar (**Tabla 2**).

Tabla 1. Contenido de nutrientes en el extracto rico en galactomananos de la *Gleditsia triacanthos.*

DETERMINACIÓN	%
Humedad	13,89 ± 0,22
Grasas Totales	0,41 ± 0,08
Proteínas	5,27 ± 0,52
Cenizas	0,58 ± 0,03
Carbohidratos	79,85 ± 0,31

Tabla 2. Contenido de metales y arsénico en el extracto rico en galactomananos de la *Gleditsia triacanthos,* comparados con los valores máximos permitidos por el CODEX, para la goma guar.

Micro-constituyentes	***Gleditsia Triacanthos* (ppm)**	**Goma Guar** (CODEX) **(ppm)**
As	< 0,050	< 3
Cu	0,007	< 20

Cr	0,004	< 20
Cd	0,018	< 20
Pb	0,207	< 10

Por observación de la **Figura 1** podemos afirmar que el comportamiento de la Gt es del tipo pseudoplástico, al igual que las gomas guar, garrofín y espina corona.

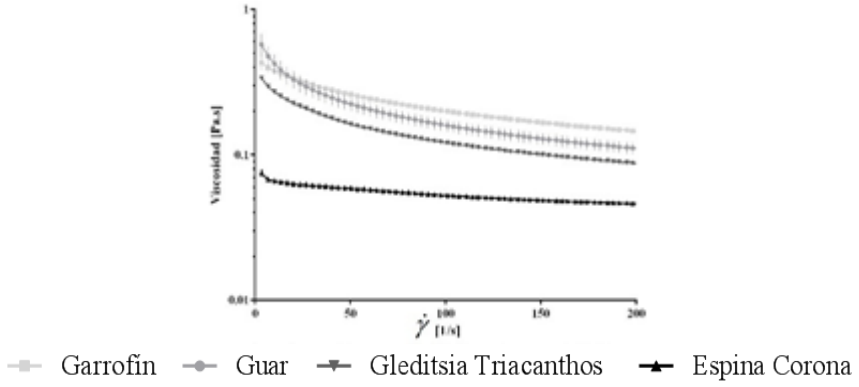


Figura 1: Curvas de flujo de las dispersiones al 0,6% (p/p) de las gomas de *Gleditsia triacanthos*, guar garrofín y espina corona a 25°C.

El ajuste a Ley de la potencia de Ostwald de los parámetros obtenidos, esfuerzo de corte y velocidad de cizalla, se muestra en la **Tabla 3**.

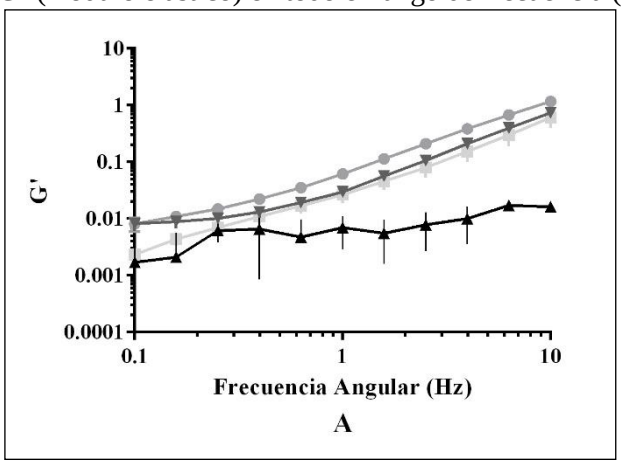
Los ensayos rotacionales revelaron los siguientes resultados para el índice de consistencia, "*K*": Gu > Ga > Gt > EC y el índice de comportamiento al flujo "*n*": Gu < Gt < Ga < EC. Los perfiles de las curvas de viscosidad aparente coinciden con los informados por Cengiz et al (2013) y Bourbon et al (2010).

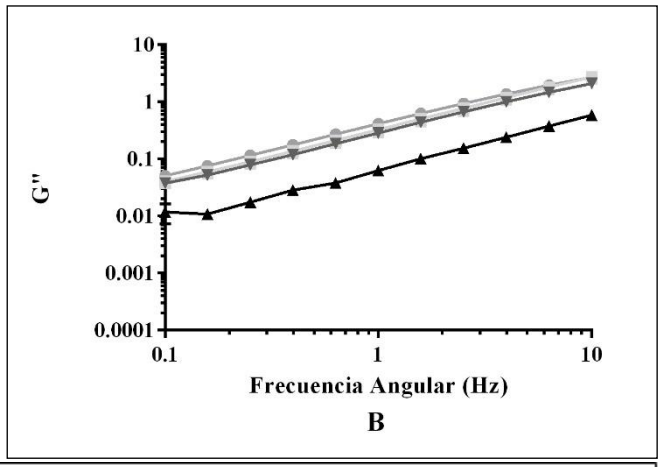
Tabla 3. Parámetros reológicos de las dispersiones de las distintas gomas al 0,6% p/p.

Goma	*K* (Pa.s^n)	*n*	R^2
Guar	1,50 ± 0,08	0,51 ± 0,01	0,938
Garrofín	1,22 ± 0,22	0,60 ± 0,01	0,996
Gleditsia Triacanthos	0,88 ± 0,01	0,57 ± 0,01	0,998
Espina Corona	0,11 ± 0,01	0,83 ± 0,01	0,995

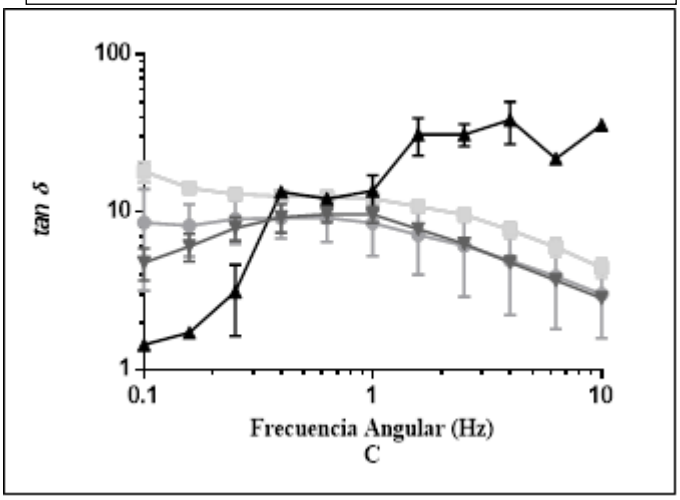
"*K*": índices de consistencia y "*n*" de flujo, correspondientes al modelo de la potencia.

Los espectros mecánicos de las dispersiones de los hidrocoloides se muestran en la **Figura 2**. La Gt al 0,6 % (p/p) presentó un comportamiento viscoso con predomino del módulo *G´´* (módulo viscoso) superior a los de *G´* (módulo elástico) en todo el rango de frecuencia (**Figura 2 A y B**).




10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
G''
0.1
1
10
Frecuencia Angular (Hz)

B


100
10
1
tan δ
0.1
1
10
Frecuencia Angular (Hz)

C

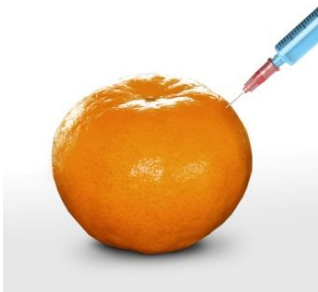


Figura 2. Espectros mecánicos de G' (A), G" (B) y *tan δ* (C) de las dispersiones al 0,6% (p/p) a 25°C (los resultados exhibidos son el promedio de cuatro mediciones).

El barrido de frecuencia de una dispersión provee información acerca de su estructura. Los valores de G´ y G´´ crecieron con la frecuencia por lo que presentaron un perfil de solución diluida, *G´´ > G´*. En todo el rango de frecuencia estudiado no se observó un cruce entre *G´´* y *G´*, esto también fue observado por Bourbon et al (2010).
Los valores del módulo G´ mostraron el siguiente orden: Gu > Gt > Ga > EC y para el módulo G´´: Gu > Gt > Ga > EC. La diferencia tanto del módulo elástico como del módulo viscoso observada entre Gu, Gt y Ga no fue significativa, esto también fue desmostrado por Bourbon et al (2010).
Un parámetro frecuentemente analizado para caracterizar sistemas, es la tangente del ángulo de desfasaje δ (*tan δ*). La *tan δ* representa la viscoelasticidad relativa del gel (*G''/G'*) (Aguilera et al. 1993). La *tan δ* es considerada un indicador de la organización estructural del material. Valores de *tan δ* >1 indican un predominio del comportamiento viscoso, mientras que valores de *tan δ* < 1 indican predominio del comportamiento elástico, típico de los geles. Para todas las muestras se observaron valores de *tan δ* >1 en todo el rango de frecuencia ensayado indicando el predominio del comportamiento viscoso (**Figura 2 C**).
Mediante la linealización de la Ecuación 3 se realiza el gráfico del log G´´ en función del log frecuencia (Figura 3), a partir de la cual se obtienen los parámetros *a* y *b*. El valor de *a* para la dispersión de goma Gt al 0,6% (p/p) resultó 0,89 0,01 (R^2 = 0,999) lo que define un comportamiento de disolución diluida **Tabla 4**.

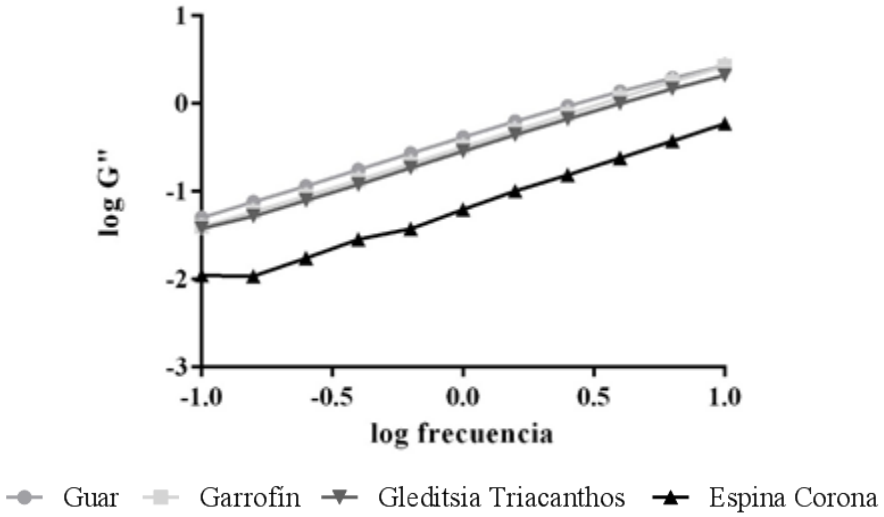


Figura 3. Gráficos del logaritmo de G" en función del logaritmo de la frecuencia de oscilación de las dispersiones al 0,6% (p/p) a 25°C.

Tabla 4. Determinación de los parámetros reológicos de las dispersiones de las gomas al 0,6% a 25°C.

Goma	*a*	*b*	R^2
Guar	0,88 ± 0,01	-0,42 ± 0,01	0,995
Garrofín	0,92 ± 0,02	-0,49 ± 0,01	0,976
Gleditsia Triacanthos	0,89 ± 0,01	-0,55 ± 0,01	0,999
Espina Corona	0,91 ± 0,02	-1,17 ± 0,01	0,982

Para la ecuación: $\log G'' = a \log f + b$

La goma de la *Gleditsia triacanthos*, al igual que las gomas guar, garrofín y espina corona, presentaron valores de *a* mayores que cero, evidenciando un comportamiento viscoso de la disolución.

CONCLUSIONES

Se concluye que el extracto obtenido de *Gleditsia triacanthos* presenta un elevado porcentaje de polisacáridos.

La goma Gt presenta un comportamiento reológico del tipo pseudoplástico similar a las gomas guar, garrofín y espina corona, por lo que es factible su utilización en la formulación de alimentos.

La explotación de este recurso natural posibilitaría un mayor desarrollo de la industria nacional.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilera JM, Xiong YL, Kinsella JE. 1993. Viscoelastic properties of mixed dairy gels. Food Research International, 26:11-17.

Bourbon AI, Pinheiro AC, Ribeiro C, Miranda C, Maia MJ, Texeira JA, Vicente AA. 2010. Characterization of galactomannans extracted from seeds of Gleditsia triacanthos and Sophora japonica through shear and extensional rheology: Comparison whit guar gum and locust bean gum. Food Hydrocolloids, 24: 184-192.

Brown L, Rosner B, Willet W, Sacks F. M. 1999. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. American Journal of Clinical Nutrition, 69: 30-42.

Cengiz E, Dogan M, Karaman S. 2013. Characterization of rheological interactions of Gleditsia triacanthos gum with some hidrocolloids: Effect of hydration temperature. Food Hydrocolloids, 32: 453-462.

Cerqueira MA, Pinheiro AC, Souza BWS, Lima AMP, Ribeiro C, Miranda C, Texeira JA, Moreira RA, Coimbra MA, Gonçalves MP, Vicente AA. 2009. Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. Carbohydrate Polymers, 75: 408-414.

Estéves AM, Escobar B, Sepúlveda M. 2012, Physical and rheological characterization of seeds of three legum trees. Idesia, 30:83-91

Leggieri RL. 2010. Invasión de Gleditsia triacanthos en los corredores de los sistemas fluviales de la Pampa Ondulada y su efecto sobre la distribución de Myocastor coypus. Ecologia Austral. 20: 201-208.

Manzi AE, Manzzini MN, Cerezo AS. 1984. The galactomannan system for the endosperm of the seed of Gleditsia triacanthos. Carbohydrate Research, 125: 127-143

Montes Molina ME, Islán M A. 2007. La fibra dietética procesada como un alimento funcional. Ámbito Farmacéutico-Nutrición, 26: 70-77.

Sciarini LS, Mardonado F, Ribotta PD, Pérez GT, León AE. 2009. Chemical composition and functional properties of Gleditsia triacanthos gum. Food Hydrocolloids, 23: 306-313.

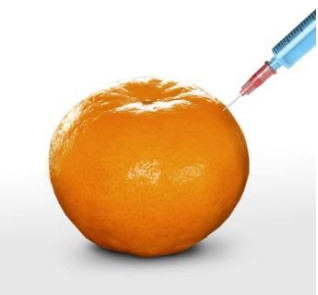
Stading M, Hermansson AM. 1990. Viscoelastic behaviour of b-lactoglobulin gel structures. Food Hydrocolloids, 4: 121-135.

Vázquez-Solorio SC, Vega-Méndez DD, Sosa-Herrera MG, Martínez-Padilla LP. 2011. Rheological properties of emulsions containing milk proteins mixed with xanthan gum. Procedia Food Science, 1: 335-339.

Wu Y, Li A, Cui W, Eskin NAM, Golf HD. 2012. Molecular modeling approach to understand conformation–functionality relationships of galactomannans with different mannose/galactose ratios. Food Hidrocolloids, 26:359-364.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el Ministerio de Educación. Secretaria de Políticas Universitarias. Programa Diseño y Desarrollo Productivo 2015. Se agradece además la participación del equipo de



Analítica de la UNLu.

Reducción de azúcares calóricos en uva mediante inmersión asistida por ultrasonido

Laborde M.B.[1,2,3], Barreto G.P.[1,3], Pagano A.M.[2,3]

[1]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)
[2] Núcleo TECSE, Depto. Ingeniería Química – Facultad de Ingeniería (FIO-UNICEN)
[3]Depto. Ingeniería Química – Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN), Olavarría, Argentina.
apagano@fio.unicen.edu.ar

RESUMEN

En este trabajo se investigó la aplicación de ultrasonido como método para mejorar la transferencia de masa durante la primera etapa ósmosis de un proceso de deshidratación combinada con secado para la obtención de uvas reducidas en azúcares calóricos. La fruta fresca se sometió a inmersión en agua destilada a temperatura ambiente con asistencia de ultrasonido (40 kHz) empleando una relación en peso fruta:solvente de 1:4 durante intervalos regularmente espaciados en el rango 0-30 minutos; comparativamente se condujo un tratamiento testigo sin aplicación de ultrasonido (0 kHz). Posteriormente, las uvas se estabilizaron mediante secado a 70°C. Se realizó el seguimiento del proceso evaluando el cambio en el contenido de azúcares de la uva por refractometría (°Brix), y confirmándose los resultados por HPLC. El análisis de la varianza evidenció efecto significativo del tratamiento sobre el contenido de sólidos solubles a todos los tiempos. Las mayores reducciones de azúcares se lograron cuando se empleó ultrasonido. El mejor tratamiento que permitió reducir significativamente ($p<0,05$) el contenido de los azúcares mayoritarios en la fruta fresca (el 30% de la fructosa y el 27% de la glucosa) resultó ser 25 minutos de inmersión asistida por US.

Palabras Clave: uva, reducción de azúcares, ultrasonido, inmersión.

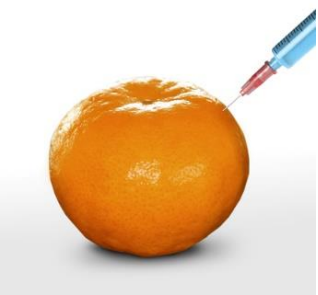
ABSTRACT

In this paper the application of ultrasound was investigated as a method for improving mass transfer during the first stage of a process of osmosis combined with dehydration drying to obtain grapes reduced in high calorie sugars. The fresh fruit was subjected to immersion in distilled water at room temperature with assistance ultrasound (40 kHz) using a weight ratio fruit: solvent of 1: 4, during regularly spaced intervals in the range 0-30 minutes; comparatively a control treatment without application of ultrasound (0 kHz) was conducted. Subsequently, the grapes were stabilized by drying at 70°C. Process monitoring was conducted by assessing the change in the sugar content of grapes by refractometry (°Brix), and confirming the results by HPLC. The analysis of variance showed significant influence of treatment on the soluble solids content at all times. The greatest sugars reductions were achieved when ultrasound was used. The best treatment that significantly reduced ($p <0.05$) the content of the major sugars in fresh fruit (30% fructose and 27% glucose) turned out to be 25 minutes immersion assisted by ultrasound.

Keywords: grape, sugars reduction, ultrasound, immersion.

INTRODUCCIÓN

El Departamento de Desarrollo Productivo y Tecnológico de la Universidad Nacional de Lanús (Co-Director Lic. Mariana Ugarte, Ing. José María Aulicino y Ing. Juan Manuel Alderete), a través de una investigación cuantitativa determinó que 9 de cada 10 personas incorpora dulces en su alimentación diaria, siendo las galletitas las que encabezan la lista, y el desayuno, el momento del día de mayor consumo. Este alimento



consumido generalmente por los adultos mediante un picoteo para aquellos momentos de toma energética o placer, tiene la practicidad para ser llevado al trabajo.

Los argentinos consumen en promedio tres veces más azúcar agregada en alimentos dulces que lo que recomienda la Organización Mundial de la Salud (OMS), ya sea a través de la ingesta de gaseosas, alimentos procesados, golosinas, endulzando infusiones. El consumo de azúcar no debería superar el 10% del total de energía consumida en un día por persona (lo que equivale a 50 g ó 12 cucharaditas para una dieta promedio de 2.000 calorías).

El consumo en exceso de azúcar a lo largo de los años atenta contra la salud favoreciendo el desarrollo de caries dental, aumento de la demanda de las vitaminas del complejo B, hipertrigliceridemia, obesidad y diabetes mellitus, entre otras complicaciones (Blanco Anesto 2002). Es posible reducir la ingesta de azúcar, incorporando a la dieta, o bien priorizando, el consumo de alimentos saludables (fruta, verduras, frutas secas, semillas, yogurt, etc.)

Antecedentes bibliográficos (Fernandes y Rodrigues 2007; Fernandes et al. 2008a,b,c; Rodrigues y Fernandes 2008; García Noguera et al. 2010; Oliveira et al. 2012; Nowacka et al. 2014) demuestran que es posible reducir el contenido de los azúcares propios de las frutas mediante la deshidratación osmótica con aplicación de ultrasonido. El tratamiento consiste en la inmersión de la fruta en una solución acuosa hipertónica al que se le aplica ondas ultrasónicas. La ventaja de utilizar ultrasonido es que el proceso se puede llevar a cabo a temperatura ambiente y no se requiere calefacción, reduciendo la probabilidad de degradación de los alimentos (Mason 1998).

Atendiendo esta problemática, y en base a los resultados reportados por investigadores en diferentes frutas, banana (Fernandes y Rodrigues 2007), melón (Fernandes et al. 2008a), ananá (Fernandes et al. 2008b), papaya (Fernandes et al. 2008c) y kiwi (Nowacka et al. 2014), el presente trabajo brinda una alternativa saludable y menos calórica, para remplazar el alimento dulce más consumido en Argentina, las galletitas. El sustituyente que se propone, es un snack de uva obtenido a partir de la transformación de una fruta rica en azúcares calóricos (glucosa y fructosa principalmente) (Eyéghé-Bickong et al. 2012) en un producto natural de bajo contenido calórico, que puede ser consumido en distintos momentos del día (desayuno, merienda, colación) y a su vez puede ser transportado con mayor facilidad y menor probabilidad de descomposición que la fruta fresca, otorgando los beneficios de la misma.

La uva (*Vitis vinífera* L.) es el fruto de la vid que crece formando racimos. Si bien la composición química final de la uva varía dependiendo del genotipo de la variedad, de las condiciones ambientales (suelo, clima, manejo del cultivo, etc.) y de la interacción entre estos factores (Carbonell Bejerano y Martínez Zapater 2013), de forma general es rica en agua y en azúcares. Además contiene vitaminas, minerales y otros compuestos saludables, como los polifenoles con potente acción antioxidante, que la hacen muy beneficiosa para el consumidor. Algunos de los compuestos fenólicos que son originarios de la fruta, son los flavonoles, quercetina y kaempferol, y los ácidos fenólico, caftárico y cutárico, junto con algunos otros productos que se forman durante el procesamiento. Los polifenoles aportan beneficios para salud, ya que presentan efecto preventivo contra enfermedades cardiovasculares y accidentes cerebrovasculares (Williamson y Carughi 2010), mejoran los conductas nutricionales en pacientes con diabetes tipo II (Kanellos et al. 2014), y poseen la capacidad de inhibir la proliferación de una amplia variedad de células tumorales (de colon, mama, renales y de tiroides) (Sun et al. 2012; Sahpazidou et al. 2014).

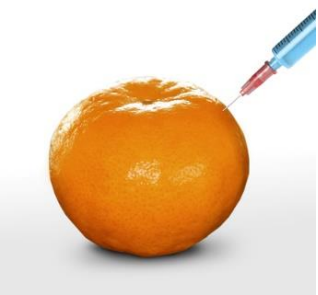
MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los ensayos se efectuaron a partir de uva rosada (*Vitis vinífera* L.) de la variedad *Red Globe* seleccionada por tamaño, color y estado de maduración, adquirida en el mercado Central Tandil (Provincia de Buenos Aires, Argentina) y almacenadas en refrigeración (2-5°C) hasta el momento de su procesado.

Diseño experimental

Para la obtención de uvas pasas de bajo contenido calórico mediante deshidratación osmótica, basada en la remoción de los azúcares principales de la fruta, glucosa y fructosa, se planteó un diseño experimental



factorial considerando los siguientes factores y niveles:

- Tipo de tratamiento: con ultrasonido (40 kHz) y sin ultrasonido (0 kHz),
- Tiempo de tratamiento por ósmosis: intervalos regulares en el rango 0-30 minutos,

con tres repeticiones, finalizando el proceso con secado por aire caliente a 70 ºC hasta alcanzar una humedad final del producto menor al 18% b.h.(base húmeda) (Codex Alimentarius 1981).

Procedimiento experimental

Caracterización de la fruta

Las muestras fueron caracterizadas en cuanto a su peso promedio con/sin semilla (balanza analítica METTLER AE240, precisión ± 0,0001 g), longitudes características (calibre manual, precisión ± 0,01 mm), contenido de humedad (AOAC, 1990), contenido de sólidos solubles (refractómetro ABBE, Japón, precisión ± 0,05 °Brix), composición de azúcares mayoritarios (HPLC).

Preparación de las muestras y procedimiento experimental

Las muestras de uvas frescas fueron lavadas por inmersión con agua potable a temperatura ambiente durante 10 minutos a fin de eliminar las ceras superficiales y posteriormente escurridas. A continuación –como primera fase de un proceso combinado de deshidratación basado en ósmosis y secado por aire caliente para la obtención de uvas pasas bajas calorías- las frutas fueron sometidas a un tratamiento de inmersión en solución acuosa asistido por ultrasonido para la remoción de los azúcares naturales de la uva. Finalmente las muestras con azúcares removidos se llevaron a una etapa de secado por aire caliente a 70ºC para estabilizar los productos.

En la etapa de ósmosis, las muestras fueron sumergidas en agua destilada a temperatura ambiente empleando una relación fruta:solvente de 1:4 en peso a los tiempos de proceso de 10, 20 y 30 minutos, con aplicación de ultrasonido. Comparativamente se condujo un tratamiento testigo sin aplicación de ultrasonido. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Las muestras que se llevaron a ultrasonido se trataron a una frecuencia de 40 kHz. A los tiempos prefijados, las muestras fueron extraídas de la solución, escurridas, colocadas sobre papel absorbente, y evaluadas en peso, contenido de humedad, contenido de sólidos solubles y composición de azúcares mayoritarios.

Como etapa final para la estabilización de los productos reducidos en azúcares calóricos se empleó secado por aire caliente en estufa de tiro forzado a una temperatura de 70 ± 1°C.

Determinación del contenido de sólidos solubles

El contenido de sólidos solubles (expresado como °Brix) se midió mediante refractómetro ATAGO, Japón (precisión ± 0,05) a partir del de jugo de la uva obtenido por procesado (Nordey et al. 2014).

Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó mediante el método de secado en estufa de convección forzada a 70 ± 1°C, hasta peso constante, sobre una muestra de 5 g, por triplicado (adaptación del Método 934.06, AOAC 1996).

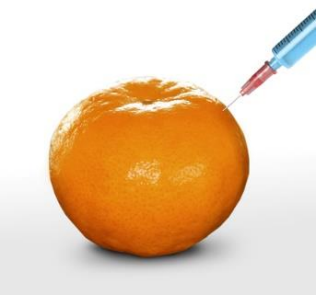
Determinación del contenido de azúcares mayoritarios

La identificación y cuantificación de los azúcares principales de la uva (glucosa, fructosa) se realizó por cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) utilizando un cromatógrafo UHPLC DIONEX UltiMate 3000 Alemán equipado con una bomba LPG-3400SD y detector de Índice de Refracción RI-101. Como fase estacionaria se empleó una columna Phenomenex Luna-5-NH2 (250 x 4,6 mm). Se utilizó la fase móvil en condiciones isocráticas con un flujo de 1 mL/min, compuesta por CH_3CN-H_2O en proporción 65:35 (v/v). El loop de inyección fue de 20 µL.

Para dicha determinación se utilizaron extractos obtenidos mediante una adaptación del método descrito por Muñoz-Robredo et al. (2011), que consistió en mezclar 10 g de uva cortadas en pequeños trozos con 25 mL de etanol al 95% en frío, los cuales se llevaron a baño ultrasónico durante 5 min. La muestra se centrifugó a 5000 rpm durante 20 min y se filtró a través de papel de 28 µm. Se recogió el extracto y se repitió el proceso nuevamente. El extracto final se llevó a 50 mL de volumen final. Antes de proceder a la inyección en HPLC se filtró una alícuota con filtro 0,45µl.

Análisis estadístico de resultados

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante ANOVA (análisis de la varianza) empleando el



software SYSTAT V12, a fin de evaluar la influencia (α=0,5) del tiempo de tratamiento de inmersión y de la frecuencia de ultrasonido aplicada sobre el contenido de azúcares calóricos (fructosa y glucosa).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la materia prima

En la **Tabla 1** se presentan algunas de las características de la uva fresca empleada en los tratamientos.

Tabla 1. Caracterización de la materia prima.

Humedad (% b.h)	Sólidos solubles (°Brix)	Azúcares mayoritarios (mg/g)	
		Glucosa	Fructosa
81,80 ± 0,85	16,32 ± 0,24	34,12 ± 4,44	40,44 ± 4,11

Análisis del proceso

Los resultados de contenido de sólidos solubles expresados en ºBrix (con sus correspondientes barras de error) de las muestras sometidas a la etapa de eliminación de los azúcares propios de la fruta con y sin aplicación de ultrasonido (US) a diferentes tiempos inmersión en agua destilada se presentan en la **Figura 1**.

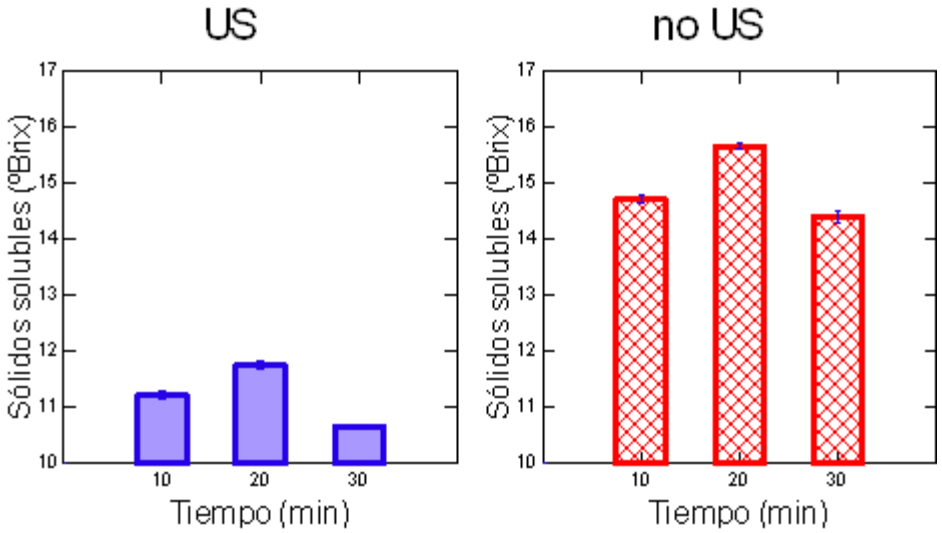


Figura 1. Contenido de sólidos solubles de la uva durante la etapa de eliminación de los azúcares naturales de la fruta por inmersión en agua destilada con ultrasonido (US) y sin ultrasonido (no US).

Se obtuvieron diferentes valores para el contenido de sólidos solubles de las muestras procesadas tanto por efecto de diferentes tiempos de inmersión como en función del tipo de tratamiento aplicado.

Comparativamente se observó que el empleo de ondas ultrasónicas en la ósmosis facilitó la remoción de mayor cantidad de sólidos solubles de las muestras que el tratamiento sin asistencia de ultrasonido para todos los tiempos de proceso considerados.

Este comportamiento de pérdida de sólidos solubles en el proceso fue similar al reportado por otros autores en otras matrices de trabajo como banana, melón y ananá (Rodrigues y Fernandes 2008).

Con el fin de determinar los factores significativos del proceso de eliminación de azúcares calóricos de la uva sobre el contenido de sólidos solubles (°Brix), el conjunto completo de datos experimentales fue analizado mediante análisis de la varianza (ANOVA) (α=0,05) a través SYSTAT v12. Los resultados se muestran en la **Tabla 1**.

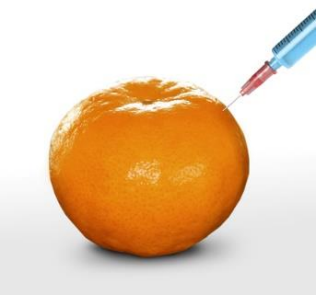


Tabla 1. Análisis de la varianza del efecto de los factores sobre el contenido de sólidos solubles durante la remoción de azúcares de la uva por inmersión en agua destilada.

Factor	grado de libertad	F	p
Tiempo	3	17,975	$3{,}04 \times 10^{-6}$
Tratamiento	1	50,170	$3{,}42 \times 10^{-7}$
Tiempo × Tratamiento	3	5,700	0,002
Error	16	0,728	

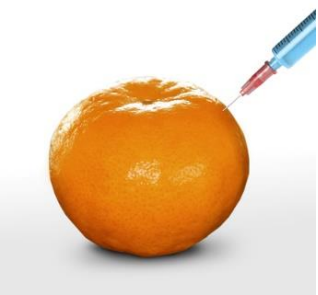
(Significativo para α=0,05)

Este análisis demostró que durante el proceso ocurre una reducción de los sólidos solubles de la fruta fresca significativa en el rango temporal evaluado para ambos tratamientos ($p<0{,}05$). También, para cada tiempo de proceso, el tratamiento tuvo influencia significativa ($p<0{,}05$) sobre °Brix. Y la interacción entre ambos factores evidenció la existencia de un efecto combinado que afecta significativamente ($p<0{,}05$) el contenido de sólidos solubles durante el proceso.

Entre los tiempos de tratamiento consecutivos no se encontraron diferencias significativas en cuanto al contenido de sólidos solubles de las muestras en ambos tratamientos, pero sí fueron significativas las diferencias entre ºBrix de las muestras a cada tiempo de proceso y las de la fruta fresca.

Comparativamente, para todos los tiempos los contenidos de sólidos solubles de las muestras del tratamiento con ultrasonido resultaron menores a los del tratamiento testigo sin ultrasonido. La mayor eliminación relativa porcentual de los azúcares propios de la fruta (34%) se presentó en el tratamiento asistido por ultrasonido para un tiempo de inmersión de 30 minutos, alcanzándose un contenido final de sólidos solubles de 10,69 ± 0,065 °Brix. Mientras tanto, mediante el tratamiento testigo sin aplicación de US sólo se logró reducir los azúcares originales de la fruta hasta un contenido final de 14,42 ± 1,50 °Brix, representando una pérdida de sólo un 12%. Por lo tanto se seleccionó el empleo de ultrasonido en el tratamiento como más ventajoso para la reducción de azúcares.

A fin de corroborar el comportamiento de eliminación de azúcares en las muestras con mayor grado de detalle se realizó la determinación cuali-cuantitativa de los principales azúcares de la uva (fructosa y glucosa) mediante HPLC a diferentes estadios del tratamiento con US, incluyéndose intervalos adicionales de evaluación a tiempos intermedios (5, 15 y 25 minutos). Los resultados se presentan en la **Figura 2**.



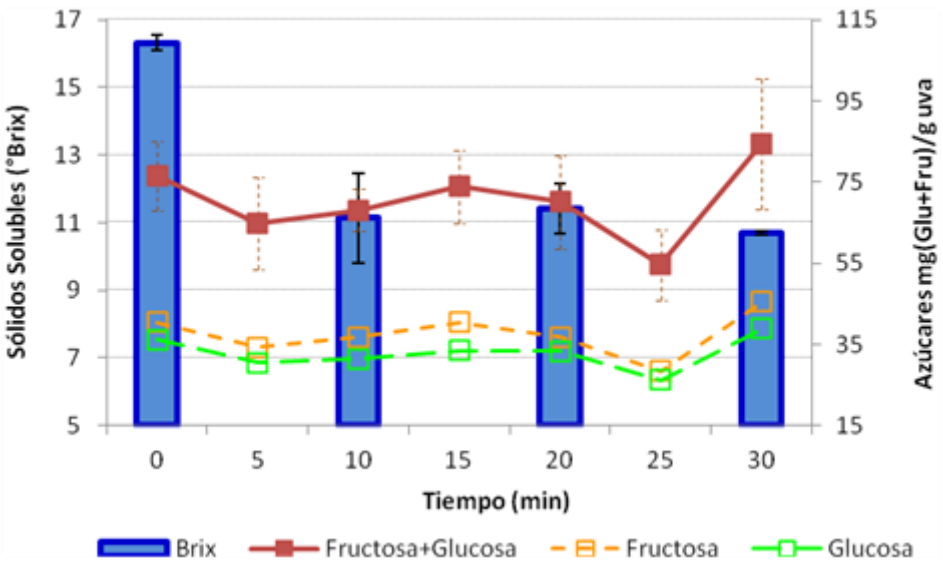


Figura 2. Evolución temporal de la relación entre el contenido de sólidos solubles y el contenido de azúcares mayoritarios (glucosa y fructosa) durante el tratamiento asistido por ultrasonido.

Como se observa en la **Figura 2**, la uva fresca presentó mayor contenido de Fructosa que de Glucosa, y, si bien el contenido de los azúcares mayoritarios fue variando en las muestras a lo largo del tratamiento, la relación másica entre ambos carbohidratos (R^2=0,95) se mantuvo prácticamente constante (1,140 ± 0,045 mg Fructosa/mg Glucosa).

Con el objetivo de analizar la influencia del tiempo de proceso sobre la remoción de azúcares, se llevó a cabo un análisis estadístico de la varianza del contenido de Fructosa y Glucosa de las muestras tratadas durante el proceso. Como resultado de ello se encontraron diferencias significativas (α=0,05) entre el contenido de carbohidratos de la fruta fresca (t=0) y el de las muestras a un tiempo final de 25 minutos de inmersión en agua destilada con aplicación de ultrasonido, tanto en el caso de la Glucosa (p=0,041) como en la Fructosa (p=0,032).

En la **Figura 2** puede notarse que bajo estas condiciones se logró remover la mayor proporción de los azúcares principales presentes en la uva fresca, representando esta reducción el 30% de la Fructosa y el 27% de la Glucosa. **Por lo que se selecciona como mejor tratamiento para disminuir el contenido de los azúcares mayoritarios de la uva, un tiempo de proceso de 25 minutos de ósmosis asistida por ultrasonido**.

La ventaja comparativa de utilizar esta tecnología de US como método para mejorar la transferencia de masa durante la ósmosis podría atribuirse al efecto de las ondas ultrasónicas cuando atraviesan la matriz de la fruta induciendo la compresión y expansión del material, lo que provoca el denominado "efecto esponja" (Nowacka et al. 2012). Este fenómeno conduce a la formación de microcanales en la estructura celular, lo que conlleva a facilitar la pérdida de sólidos solubles desde la región intracelular hacia el medio.

Considerando que en las pasas de uva la mayor contribución de calorías proviene de los carbohidratos y que cada gramo de este macronutriente aporta 4 kcal, mediante el tratamiento seleccionado se consiguió una reducción de 8,8 kcal por cada 100 g de uva pasa, representando un cambio significativo (α=0,05) de contenido energético entre la uva fresca y la pasa de uva reducida en calorías. El resultado obtenido permite revalidar que el tratamiento con ultrasonido permite obtener un producto final con bajo contenido calórico ya que el mismo disminuye un 28,73%, teniendo en cuenta sólo el aporte de los azúcares. La uva fresca aporta 30,63 kcal/100 g mientras que la uva pasa reducida en calorías aporta 21,83 kcal/100 g.

CONCLUSIONES

Se investigó la aplicación de ultrasonido como método para mejorar la transferencia de masa en la etapa de remoción de los azúcares calóricos de la uva por ósmosis, como parte del proceso deshidratación combinada para la obtención de uva pasa reducida en calorías.

Como resultado del estudio se concluye que es posible reducir el 28,7% de los carbohidratos mayoritarios de la uva (fructosa y glucosa) mediante inmersión de la fruta fresca en agua destilada a temperatura ambiente con asistencia de ultrasonido (40 kHz) empleando una relación en peso fruta:solvente de 1:4 durante un tiempo de 25 minutos.

Mediante el tratamiento seleccionado se consigue una reducción significativa del valor energético de la uva fresca de 8,8 kcal por cada 100 g de uva pasa.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC. (1996). Association of Official Agricultural Chemists. Método 934.06.

Blanco Anesto J. 2002. Consumir azúcar con moderación, Revista Cubana Alimentación y Nutrición, 16(2):142-145.

Carbonell Bejerano P, Martínez Zapater JM. 2013. Estructura y composición de la uva y su contribución al vino, ACENOLOGIA, Revista de Enología Científica y Profesional, 139.

Codex Alimentarius. CODEX STAN 67-1981.

Eyéghé-Bickong HA, Alexandersson EO, Gouws LM, Young PR, Vivier MA. 2012. Optimisation of an HPLC method for the simultaneous quantification of the major sugars and organic acids in grapevine berries, Journal of Chromatography B, 885– 886: 43– 49.

Fernandes FAN, Gallão MI, Rodrigues S. 2008. Effect of osmotic dehydration and ultrasound pre-treatment on cell structure: Melon dehydration, Food Science and Technology, 41(4):604-610.

Fernandes FAN, Linhares FE, Rodrigues S. 2008b. Ultrasound as pretreatment for drying of pineapples, Ultrasonics Sonochemistry, 15(6):1049−1054.

Fernandes FAN, Oliveira F.I.P, Rodrigues S. 2008c. Use of ultrasound for dehydration of papayas, Food Bioprocess Technology, 1:339–345.

Fernandes FAN, Rodrigues S. 2007. Ultrasound as pre-treatment for drying of fruits: Dehydration of banana, Journal of Food Engineering, 82(2):261–267.

García-Noguera J, Weller CL, Oliveira FIP, Rodrigues S, Fernandes FAN. 2010. Dual-stage sugar substitution in strawberries with a Stevia-based sweetener, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11(1):225–230.

Kanellos PT, Kaliora AC, Tentolouris NK, Argiana V, Perrea D, Kalogeropoulos N, Kountouri AM, Karathanos VT. 2014. A pilot, randomized controlled trial to examine the health outcomes of raisin consumption in patients with diabetes, Nutrition, 30(3), 358–364.

Laborde MB, Barreto GP, Pagano AM. 2015. Pasas de uva de bajas calorías obtenidas por deshidratación combinada: optimización del proceso y evaluación de la eficiencia antioxidante, Avances en Ciencias e Ingeniería, 6(1):17-30.

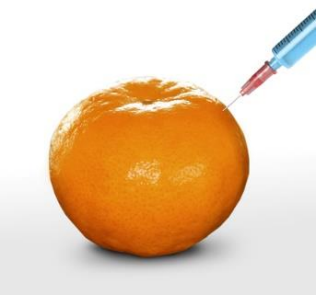
Mason TJ. 1998. Power ultrasound in food processing – the way forward. En: M. J. W. Povey y T. J. Mason (Eds.), Ultrasounds in food processing (pp. 105–125). Glasgow: Blackie Academic and Professional.

Muñoz-Robredo P, Robledo P, Manríquez D, Molina R, Defilippi BG. 2011. Characterization of sugars and organic acids in commercial varieties of table grapes, Chilean Journal of Agricultural Research, 71(3): 452-458.

Nordey T, Léchaudel M, Génard M, Joas J. 2014. Spatial and temporal variations in mango colour, acidity, and sweetness in relation to temperature and ethylene gradients within the fruit, Journal of Plant Physiology, 171(17): 1555–1563.

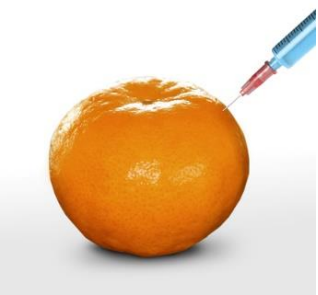
Nowacka M, Tylewicz U, Laghi L, Dalla Rosa M, Witrowa-Rajchert D. 2014. Effect of ultrasound treatment on the water state in kiwifruit during osmotic dehydration, Food Chemistry, 144:18–25.

Nowacka M, Wiktor A, Sledz M, Jurek N, Witrowa-Rajchert D. 2012. Drying of ultrasound pretreated apple



and its selected physical properties. Journal of Food Engineering, 113(3):427-433.
Oliveira FIP, Rodrigues S, Fernandes FAN. 2012. Production of low calorie Malay apples by dual stage sugar substitution with Stevia-based sweetener, Food and Bioproducts Processing, 90(4):713–718.
Rodrigues S, Fernandes FAN. 2008. Ultrasound in fruit processing. In: New Food Engineering Research Trends. Editor: Alan P. Urwaye. pp. 103-135. ISBN: 978-1-60021-897-2
Sahpazidoua D, Geromichalosa GD, Stagos D, Apostolouc A, Haroutounianc SA, Tsatsakisd AM, Tzanakakise GN, Hayesf AW, Kouretas D. 2014. Anticarcinogenic activity of polyphenolic extracts from grape stems against breast, colon, renal and thyroid cancer cells, Toxicology Letters, 230(2): 218-224.
Sun T, Chen QY, Wu LJ, Yao XM, Sun XJ. 2012. Antitumor and anti metastatic activities of grape skin polyphenols in a murine model of breast cancer, Food and Chemical Toxicology, 50(10): 3462–3467.
Williamson G, Carughi A. 2010. Polyphenol content and health benefits of raisins, Nutrition Research, 30(8):511–519.

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen a CONICET, a la UNICEN y al Programa Universidad, Diseño y Desarrollo Productivo de la Secretaría de Políticas Universitarias (SPU) del Ministerio de Educación de la Nación por el financiamiento del proyecto y de la beca doctoral de la Lic. Laborde.



Pasteurización de leche por microondas. Desarrollo de un modelo de simulación para el análisis, diseño y evaluación del proceso.

Lespinard A.R. [1], Arballo J.R. [2], Mascheroni R.H[2].

[1] Centro de Investigación y Transferencia Villa María (CIT VM), CONICET - Universidad Nacional de Villa María, Villa María, Córdoba, Argentina.
[2] Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), CONICET-Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
alespinard@conicet.gov.ar

RESUMEN

La pasteurización es el proceso térmico más ampliamente utilizado para inactivar microorganismos patógenos y enzimas presentes en la leche, sin embargo durante su aplicación se producen en el alimento pérdidas de componentes nutricionales y organolépticos. La pasteurización por microondas se presenta como una alternativa que reduce los daños en la calidad de los alimentos en comparación con el tratamiento térmico tradicional. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un modelo de simulación que permita predecir y evaluar la distribución de la temperatura, el patrón de flujo, localización de la zona de calentamiento más lento (SHZ), distribución del campo electromagnético, el tiempo de procesamiento y los cambios de calidad en la leche durante la pasteurización por microondas (PM) y por inmersión (PI). Los resultados obtenidos indicaron que la PM logra un calentamiento más uniforme y una reducción de 28,6% en el tiempo de proceso en comparación con la PI. Los cambios de color fueron de 35,5 y 37,0% para PM y PI respectivamente, mientras que las pérdidas de tiamina resultaron inferiores a 1% para ambos casos. El modelo desarrollado podría ser utilizado para optimizar las condiciones de PM que permitan disminuir las pérdidas de calidad en relación a PI.

Palabras Clave: Leche, Pasteurización, Microondas, Simulación, Calidad.

ABSTRACT

Pasteurization is the most widely used thermal process to inactivate pathogenic micro-organisms and enzymes present in the milk, however its application produces losses of nutritional and organoleptic components in foods. In this sense, microwave pasteurization provides an alternative to reduces damaged on food quality in comparison traditional thermal treatment. Based on the above, the aim of this work was to develop a simulation model to predict and evaluate the temperature distribution, flow pattern, slowest heating zone (SHZ) location, electromagnetic field distribution, processing time and quality changes in milk during pasteurization by microwave (PM) and immersion (PI).The results obtained indicated that PM achieves a more uniform heating and, consequently, a reduction of 28.6% in processing time, in comparison with PI. Color changes were 35.5 and 37.0% for PM and PI, respectively; while thiamine losses were lower than 1% in both cases. The model developed could be used to optimize processing conditions of PM which allowing also decrease quality losses regarding PI.

Keywords: Milk, Pasteurization, Microwaves, Simulation, Quality.

INTRODUCCIÓN

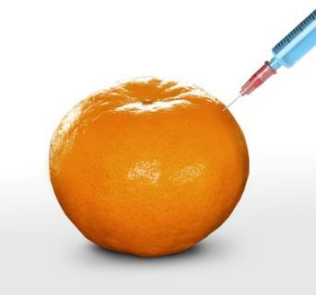
La pasteurización por calor es uno de los procesos más utilizados para extender el período de aptitud de la leche y hacerla más segura para el consumo humano. Sin embargo durante la aplicación del mismo se producen en dicho alimento, de manera inevitable, pérdidas de componentes nutricionales y organolépticos.

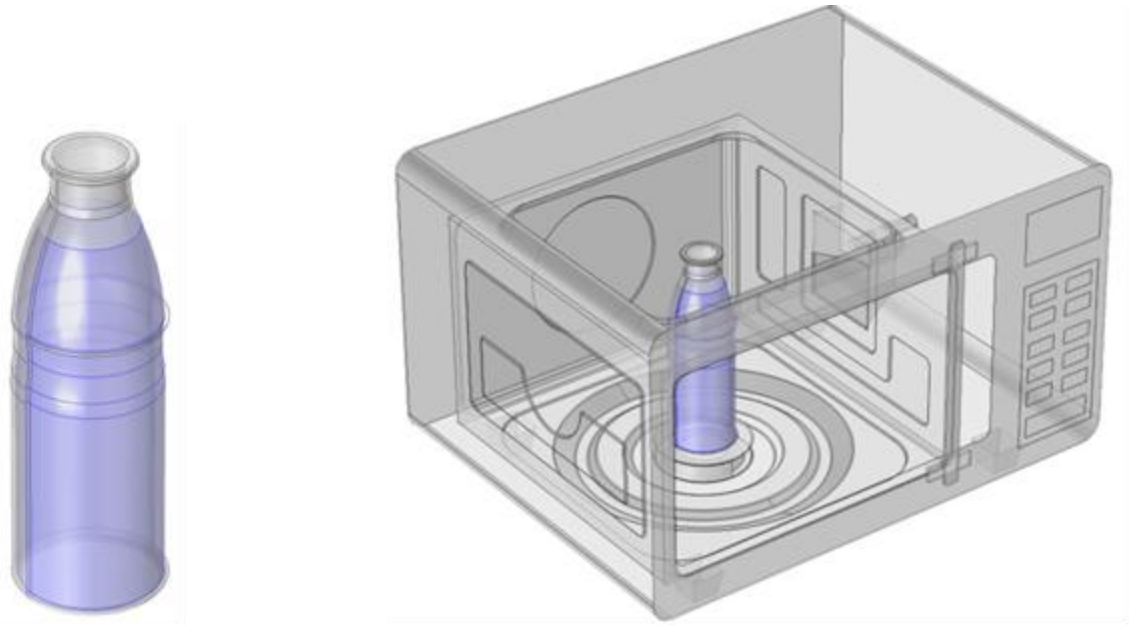
Estas pérdidas de calidad se intensifican en aquellos procesos donde el calentamiento no es uniforme y el producto se encuentra expuesto a altas temperaturas cerca de paredes de recipientes, placas o tubos. Este fenómeno, conocido como "ensuciamiento", ocurre en procesos continuos donde se emplean intercambiadores de calor (de placas o de tubos) o en procesos discontinuos donde el producto es envasado para luego ser tratado térmicamente. En este sentido el proceso de pasteurización por microondas surge como una alternativa tecnológica la cual genera un calentamiento volumétrico del producto, con un daño menor en dichos atributos en comparación con los tratamientos térmicos tradicionales, presentando además ventajas como: reducción en el impacto ambiental, ahorro de energía, uso de energía limpia, ahorro de espacio y disminución de los tiempos de proceso (Arballo et al. 2010). En la pasteurización de leche, la temperatura y el tiempo de procesamiento deben ser controlados, debido a la naturaleza termosensible que poseen varios de sus nutrientes como son tiamina, α-lactoalbumina, β-lactoglobulina (Walstra et al. 2006). Así mismo, durante el procesamiento térmico de la leche, también se producen cambios en el color debidos principalmente a reacciones de Maillard (Pagliarini et al. 1990). De esta manera, para poder diseñar y optimizar un proceso térmico es necesario conocer la evolución y distribución de la temperatura del alimento durante el mismo. Sin embargo en el caso de alimentos fluidos, como la leche, la obtención de esta información en forma experimental resulta dificultosa, ya que el empleo de sensores de temperatura modifica los patrones de flujo debido a que los mismos restringen el libre movimiento del fluido (Stoforos y Merson 1990). A su vez para el diseño de procesos de pasteurización de alimentos es necesario conocer la localización de la zona de calentamiento más lento (SHZ) y la evolución de su temperatura, siendo esto también difícil de obtener experimentalmente, debido a que dicha zona se desplaza durante el calentamiento del producto (Ghani et al. 2002). Este hecho explica el creciente interés en las simulaciones numéricas, las cuales pueden ser utilizadas para determinar la evolución y distribución de la temperatura en todo el dominio (Rabiey et al. 2007). En este sentido la fluidodinámica computacional (FDC) ha resultado ser una valiosa herramienta para el análisis de la transferencia de calor por convección durante el tratamiento térmico de alimentos líquidos. En base a lo anterior se proponen como objetivos de este trabajo i) desarrollar modelos matemáticos que describan la pasteurización por inmersión (PI) y por microondas (PM) de leche fluida contenida en botella de vidrio, y ii) emplearlos modelos para realizar un análisis comparativo entre ambos tipos de procesos en cuanto a las temperaturas y velocidades, ubicación de la SHZ, tiempos de proceso y pérdidas de componentes de calidad (color y tiamina).

MATERIALES Y MÉTODOS

Modelo de simulación

Los fenómenos a modelar son la transferencia de calor y fluido dinámica que se desarrollan durante la pasteurización por inmersión y por microondas de leche fluida envasada en botella de vidrio. En el proceso por microondas también se modela la distribución del campo electromagnético. La PI consiste en sumergir, en posición vertical, la botella con leche en un baño de agua termostatizado a 100ºC (en ebullición). En la PM, la leche embotellada es colocada en la cavidad de un horno de microondas de uso doméstico (ATMA MC930XE, 30 L de capacidad), el cual opera a su potencia máxima de 900 W en forma continua y a una frecuencia de 2450 MHz. Para evitar la rotación del envase, el plato giratorio fue retirado del horno y el envase colocado sobre una base cilíndrica de vidrio. Para la PI el dominio de simulación es representado solo por la botella de vidrio (de 0,07 m de diámetro externo mayor, 0,20 m de altura y 500 cm^3 de capacidad), que contiene la leche y un espacio de aire (ver **Figura 1a**); en la PM el dominio incluye además la cavidad de resonancia del horno, la guía de onda, el magnetrón y la base cilíndrica (ver **Figura 1b**). En los dos casos analizados se consideró que el espacio de aire ocupa el mismo volumen (25.4 cm^3) y que este se encuentra en la parte superior de la botella.





a) b)

Figura 1. Esquema de a) la botella mostrando el contenido de leche y el espacio de aire y b) del microondas mostrando la guía de onda, el magnetrón, la base cilíndrica y la ubicación de la botella.

Las propiedades termofísicas utilizadas en el modelo de simulación son presentadas en la **Tabla 1**. La densidad de la leche fue asumida constante en el modelo de simulación excepto en el término de flotación (*F*) (aproximación de Boussinesq), donde la Ecuación (1) fue utilizada para describir su variación con la temperatura (Bejan 1993):

$$\rho = \rho_{ref} g \left[1 - \beta \left(T - T_{ref} \right) \right] \quad (1)$$

donde β es el coeficiente de expansión térmica del líquido, T_{ref} y ρ_{ref} son la temperatura y la densidad a la temperatura de referencia (temperatura inicial de la leche).

Tabla 1. Propiedades termofísicas empleadas en el modelo de simulación.

Material	Propiedad	Valor	Fuente
Leche	Densidad, ρ (kg m^{-3})	1016	Al-Hilphy y Ali (2013)
	Calor específico, C_p(kg^{-1} K^{-1})	3948,2	
	Conductividad térmica, k (W m^{-1} K^{-1})	0,61	
	Viscosidad aparente, μ (Pa s)	(-0,00445T+0,947)10^{-3}	
	Coeficiente de expansión volumétrico, β (K^{-1})	0,0002	Anand Paul et al. (2011)
	Constante dieléctrica, ε’	82,5-0,28T	Datta y Anantheswaran (2001)
	Factor de Pérdida, ε”	15,2-0,026T	
Vidrio	Densidad, ρ (kg m^{-3})	2449	Incropera y De Witt (2003)
	Calor específico, C_p(kg^{-1} K^{-1})	750	
	Conductividad térmica, k (W m^{-1} K^{-1})	1,4	

Aire	Densidad, ρ (kg m^{-3})	0,361	Pinho y Cristianini (2005)
	Calor específico, C_p(kg^{-1} K^{-1})	1964,95	
	Conductividad térmica, k (W m^{-1} K^{-1})	0,023	

Modelado de la pasteurización por inmersión

Para describir el sistema se emplearon las ecuaciones de Navier-Stokes que gobiernan el movimiento por convección natural del fluido y se acoplaron con el balance de energía (Bird et al. 1976):

Ecuación de continuidad:

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0 \tag{2}$$

Balance de energía:

$$\rho c_p \left[\frac{\partial T}{\partial t} + (\mathbf{v} \cdot \nabla) T \right] = k \nabla^2 T \tag{3}$$

Balance de momento con la aproximación de Boussinesq:

$$\rho \left[\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \mathbf{v} \right] = -\nabla p + \mu \nabla^2 \mathbf{v} + F \tag{4}$$

Termino de flotación (F):

$$F = -\rho_{ref} \beta (T - T_{ref}) g \tag{5}$$

Condiciones iniciales, de contorno y de simetría

- Inicialmente el fluido no se desplaza (u = 0, v = 0, a t = 0 s) y su temperatura es uniforme (T = T_{ref} = 18°C a t = 0 s).
- Condición de contorno: se impuso la temperatura del medio de calentamiento (agua en ebullición=100°C).
- Condición de simetría: sobre el eje simetría el flujo de calor es nulo en la dirección perpendicular al mismo.

Simplificaciones

Para simplificar el problema se asumieron las siguientes consideraciones:

(a) Se asumió simetría respecto del eje axial, lo cual reduce el problema de 3D a 2D;

(b) La generación de calor por disipación viscosa es despreciable, esto es debido a que el líquido desarrolla velocidades bajas;

(c) La densidad es considerada constante excepto en el término de flotación (aproximación de Boussinesq). Esta aproximación es válida para la mayoría de los líquidos (Jaluria 1980);

(d) El calor específico (C_p), conductividad térmica (k), y coeficiente de expansión volumétrico (β) son constantes;

(e) Se asume la condición de no-deslizamiento sobre las paredes de la botella;

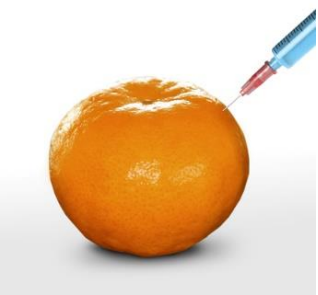
(f) La resistencia a la transferencia de calor de la tapa metálica de la botella es despreciable;

(g) Se impone como condición de contorno esencial la temperatura del medio de calentamiento (agua en ebullición=100°C), considerando un coeficiente de transferencia de calor infinito (Kiziltas et al. 2010);

(h) El espacio de cabeza es considerado una capa de aire saturado, cuyo calentamiento se produce por conducción (Pinho y Cristianini 2005).

Mallado computacional

Para la discretización del dominio de simulación se empleó un sistema de mallado no uniforme. Este consiste



en aplicar un mallado más fino en aquellas zonas donde se desarrollan los mayores gradientes de temperatura y velocidad, siendo esto necesario para lograr la convergencia de la solución numérica. Como se muestra en la **Figura 2**, para el dominio de simulación 2D se emplearon 6 capas de elementos cuadriláteros en la zona cercana a la pared y elementos triangulares en resto del dominio. De esta manera la malla obtenida quedo conformada por un total de 5628 elementos. La malla utilizada fue seleccionada a partir estudios de convergencia, donde se demuestra que el uso de una malla más fina no conduce a un aumento en la exactitud de los resultados.

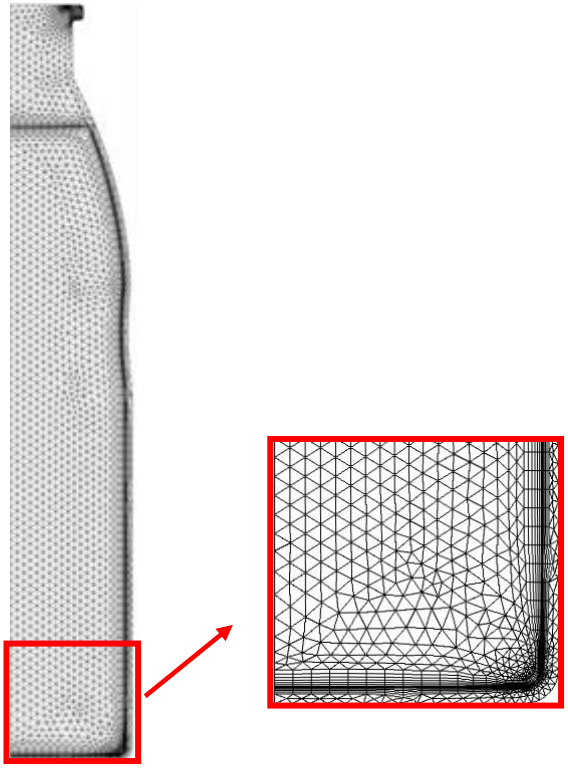


Figura 2. Dominio de simulación 2D axial simétrico y mallado computacional empleado para la PI. Una vista ampliada es presentada en el cuadro rojo.

Solución numérica

El modelo para la PI fue resuelto por medio del método de elementos finitos, mediante el software COMSOL™ Multiphysics en su versión 5.0. Las ecuaciones de transferencia de calor y cantidad de movimiento fueron resueltas en estado transitorio, empleando el *solver* PARDISO, que utiliza el paquete de resolución BDF (fórmula de derivación atrasada de múltiples etapas) el cual requirió, para simular 500 s de procesamiento, 39 minutos en llegar a la solución. El modelo de simulación fue resuelto en un procesador Intel Core i5 PC (Windows 7, 3.2 GHz, 8 GB RAM).

Modelado de la pasteurización por microondas

Para el modelado del campo electromagnético se considera la distribución de energía tanto en el horno como dentro del producto a través de la resolución de las ecuaciones de Maxwell:

$$\nabla \times \mu_r^{-1}(\nabla \times E) - k_o^2 \varepsilon_{rc} E = 0 \qquad (6)$$

siendo

$$\varepsilon_{rc} = \varepsilon' - j\varepsilon'' \tag{7}$$

donde ε_{rc} es la permitividad dieléctrica compleja, μ_r es la permeabilidad magnética, ε' es la constante dieléctrica, ε'' es el factor de pérdida dieléctrica y k_o es la constante de propagación definida como:

$$k_o = \alpha + i\beta \tag{8}$$

$$\alpha = \frac{2\pi f}{c}\sqrt{\frac{\varepsilon'(\sqrt{(1+\tan^2\delta)}+1)}{2}} \tag{9}$$

$$\beta = \frac{2\pi f}{c}\sqrt{\frac{\varepsilon'(\sqrt{(1+\tan^2\delta)}-1)}{2}} \tag{10}$$

$$\tan\delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \tag{11}$$

donde β es el factor de atenuación, f es la frecuencia de la radiación y c es la velocidad de la luz.
La Ecuación (6) se resolvió considerando las respectivas condiciones de contorno. Para las paredes metálicas del horno y de la guía de onda se empleó la condición de conductor eléctrico perfecto:

$$n \times E = 0 \tag{12}$$

La fuente de energía electromagnética se incorporó a través de la condición de contorno de puerto coaxial (magnetrón). Este puerto es excitado por medio de una onda eléctrica transversal. Teniendo en cuenta la frecuencia de operación del horno de microondas (2.45 GHz), el modo TE_{10} se consideró como único modo de propagación a través de la guía de onda. Por consiguiente, en este modelo la potencia absorbida por unidad de volumen, Q_{mic}, debido a la interacción de las microondas con el alimento se expresa como:

$$Q_{mic}(x,y,z,t) = \frac{1}{2}\omega\varepsilon_0\varepsilon''|E|^2 \tag{13}$$

donde E es la intensidad del campo eléctrico.

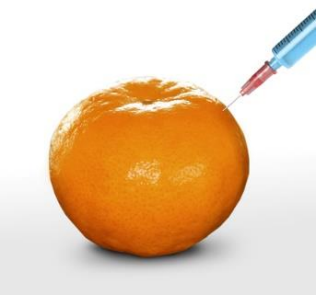
Para modelar la transferencia de calor se plantea el balance microscópico de energía considerando un término de generación interna debido a la energía suministrada por las microondas (Lin et al. 1995):

$$\rho c_p\left[\frac{\partial T}{\partial t} + (\mathbf{v}\cdot\nabla)T\right] = k\nabla^2 T + Q_{mic} \tag{14}$$

donde ρ es la densidad, C_p capacidad calorífica específica, T temperatura, t tiempo, k conductividad térmica. Esta ecuación de transferencia de energía es acoplada a las ecuaciones de Navier-Stokes que gobiernan el movimiento del fluido dentro del envase (Ecs. (2), (4) y (5)).

Condiciones iniciales y de contorno

- Inicialmente el fluido no se desplaza (u = 0, v = 0, a t = 0 s) y su temperatura es uniforme (T = 18°C a t = 0 s).



- Condición de contorno: la superficie de la botella intercambia calor por convección con el aire circundante, que se encuentra a una T_a = 20°C. Para considerar esto se asumió un coeficiente de transferencia de calor h = 10 W $m^{-2}K^{-1}$, el cual es un valor típico empleado para la transferencia de calor por convección natural en aire (Pitchai et al. 2014).

Simplificaciones

(a) La absorción de la energía electromagnética por parte del aire se consideró despreciable;
(b) Las paredes del horno son consideradas conductores perfectos;
(c) El ingreso de la radiación ocurre a una frecuencia 2450 MHz a través de un puerto coaxial conectado a la guía de onda;
(d) Para modelar la transferencia de calor se asumen las simplificaciones b, c, d, e, f y h detalladas más arriba para la PI.

Mallado computacional

La malla utilizada para discretizar los diferentes dominios de simulación (cavidad de resonancia del horno, guía de onda, botella, leche y espacio de cabeza) de la PM, comprendió el empleo de 648888 elementos tetraédricos (ver Figura 3). Para la discretización de los dominios que representan el producto (botella, leche y espacio de cabeza) se aplicó un mallado no uniforme considerando las mismas consideraciones que para PI. A su vez, dentro del producto se incorporó un tamaño máximo de elementos de 6 mm, teniendo en cuenta la longitud de onda de las microondas dentro del mismo.

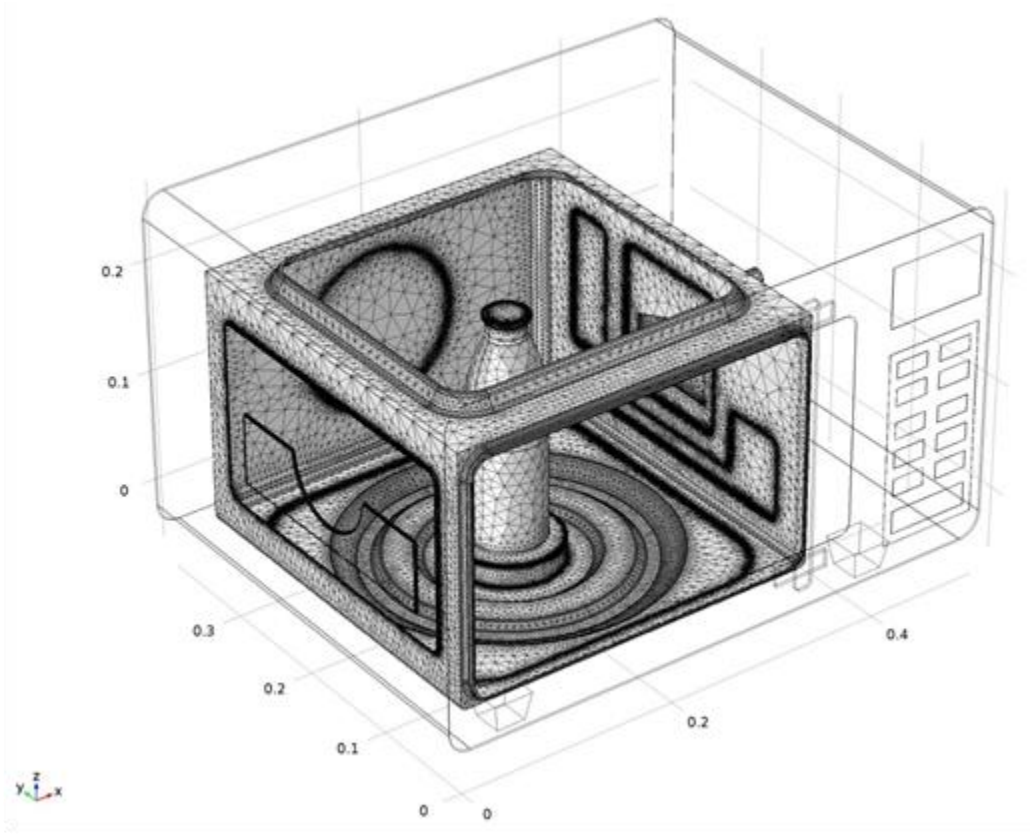


Figura 3. Mallado del dominio de simulación 3D para PM.

Solución numérica

El modelo para la PM fue resuelto por medio del método de elementos finitos, mediante el software COMSOL™ Multiphysics en su versión 5.0. Las ecuaciones para obtener la distribución del campo eléctrico dentro del horno y del producto, fueron resueltas en estado estacionario, utilizando el *solver* FGMRES,

requiriendo para ambas orientaciones aproximadamente un mismo tiempo de cálculo de 5,5 minutos. Por su parte, las ecuaciones de transferencia de calor y cantidad de movimiento fueron resueltas en estado transitorio, empleando el *solver* PARDISO, el cual requirió 4.5 horas en llegar a la solución para 380 s de pasteurización. Los modelos de simulación fueron resueltos en un procesador Intel Core i5 PC (Windows 7, 3.2 GHz, 8 GB RAM).

Determinación del tiempo de pasteurización

Para la estimación del tiempo de proceso se acopló al modelo de simulación una cinética de inactivación térmica de microorganismos (*PU*) (Ec. (15)). Teniendo en cuenta que el líquido y los microorganismos que se encuentran en la SHZ son expuestos a condiciones térmicas de menor intensidad que el resto del producto (condición menos favorable), se determinó la evolución de *PU* para dicha zona. De esta manera se calculó el tiempo que tarda la SHZ en alcanzar una unidad de pasteurización (*PU*) de 1 minuto, valor recomendado para la pasteurización de leche, considerando una temperatura de referencia (T_{ref}) de 72ºC y un valor de zigual a 8ºC (Holdsworth 1997).

$$PU = \int_0^t 10^{\left(T - T_{ref}\right)/z} \, dt \tag{15}$$

Pérdidas de calidad nutricional y sensorial

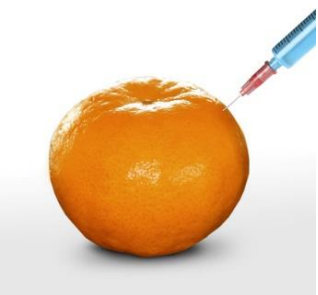
El deterioro de los componentes de calidad nutricional y sensorial del alimento durante la aplicación del proceso térmico de pasteurización fue cuantificado, mediante el cálculo de la pérdida media (QL_{ave}) (%) de tiamina (vitamina B_1) y la variación del color por pardeamiento no enzimático. El valor de QL_{ave} fue determinado por integración numérica de la Ecuación 16, empleando los perfiles de temperatura simulados. Para el cálculo de la reducción en el contenido de tiamina se consideró una temperatura de referencia (T_{ref}) de 120ºC, un tiempo de reducción decimal (D_{ref}) de $7{,}7\times10^3$ s y una temperatura de reducción decimal *zc* de 29,7 ºC. Para cuantificar el deterioro del color, por pardeamiento no enzimático, los valores empleados fueron de 130ºC, $0{,}012\times10^3$ s y 26,7ºC para T_{ref}, D_{ref} y *zc*, respectivamente (Kessler y Fink 1986).

$$QL_{\text{ave}}(\%) = \left[1 - \left(\frac{Q}{Q_0}\right)_{ave}\right] * 100 = \frac{1}{V}\int_0^{V} 10^{\left[-\frac{1}{D_{ref}}\int_0^t 10^{\left(T-T_{ref}\right)/zc} dt\right]} \text{dV} * 100 \tag{16}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pasteurización por inmersión

En la **Figura 4** se muestran los perfiles de temperatura y de velocidad (representada por medio de vectores) para la PI, luego de 50,100, 150, 200, 250 y 300 segundos de iniciado el proceso. Como se observa en dichas figuras, los perfiles de temperatura muestran que el calentamiento del fluido se produce predominantemente por el mecanismo de transferencia de calor por convección. Este fenómeno de convección natural se genera como consecuencia de que el líquido que entra en contacto con la pared de la botella se encuentra a mayor temperatura que resto del contenido. Esta diferencia de temperaturas se traduce en diferencias de densidades, lo cual genera fuerzas de flotación y movimiento del fluido. Las fuerzas de flotación producen un flujo ascendente en el líquido de menor densidad que se encuentra cerca de la pared del envase. Este líquido ascendente llega hasta la parte superior donde se desplaza radialmente hacia el centro y luego hacia abajo, donde se encuentra con otro flujo ascendente proveniente de la parte inferior del envase. El encuentro de dichas corrientes genera flujos recirculantes secundarios y zonas estancas en el centro de los mismos. Como consecuencia de dichos movimientos, la zona de calentamiento más lento (SHZ) se desplaza hacia el fondo del envase. A medida que el calentamiento progresa se va generando una distribución más uniforme de la temperatura, es decir las diferencias de temperaturas entre las zonas cercana a la pared del envase y las zonas cercanas al eje axial se vuelven menores. Esto resulta en una reducción de la fuerza de flotación y por



consiguiente en una disminución de la velocidad del fluido, lo cual puede apreciarse observando la longitud de los vectores de velocidad.

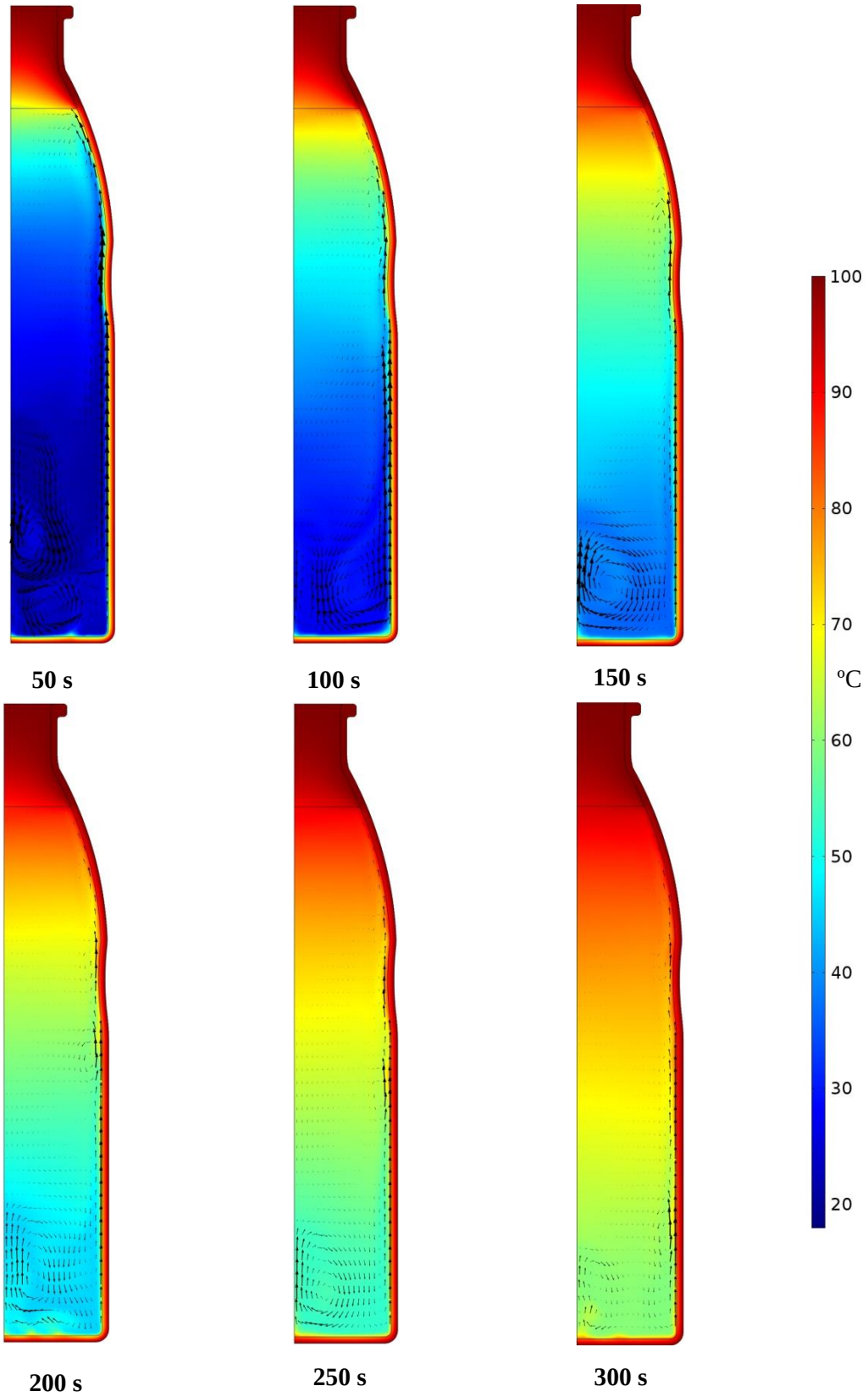


Figura 4. Perfiles de temperaturas y velocidades desarrolladas en la leche luego de 50, 100, 150, 200, 250 y 300 s de iniciada la pasteurización por inmersión.

Pasteurización por microondas

A partir del modelo de simulación computacional se obtuvieron, para la PM, la distribución del campo eléctrico en el horno y en el producto, y los perfiles de temperatura y velocidad dentro del producto. En la **Figura 5** se pueden visualizar los cortes de la distribución del campo eléctrico dentro de la cavidad del horno. En dicha figura se puede observar claramente la no uniformidad del mismo, siendo evidentes los picos y valles dando muestra de los máximos y mínimos correspondientes. En dicha figura puede observarse que los máximos se distribuyen en la parte central así como también en los vértices de la cavidad de resonancia del horno. Con respecto a los valores que alcanza el modulo del campo eléctrico, puede observarse que son del orden de 1×10^4 (V m^{-1}). El efecto combinado de la distribución del campo eléctrico con los valores del módulo, pueden posibilitar una mayor o menos absorción de las microondas por el alimento.

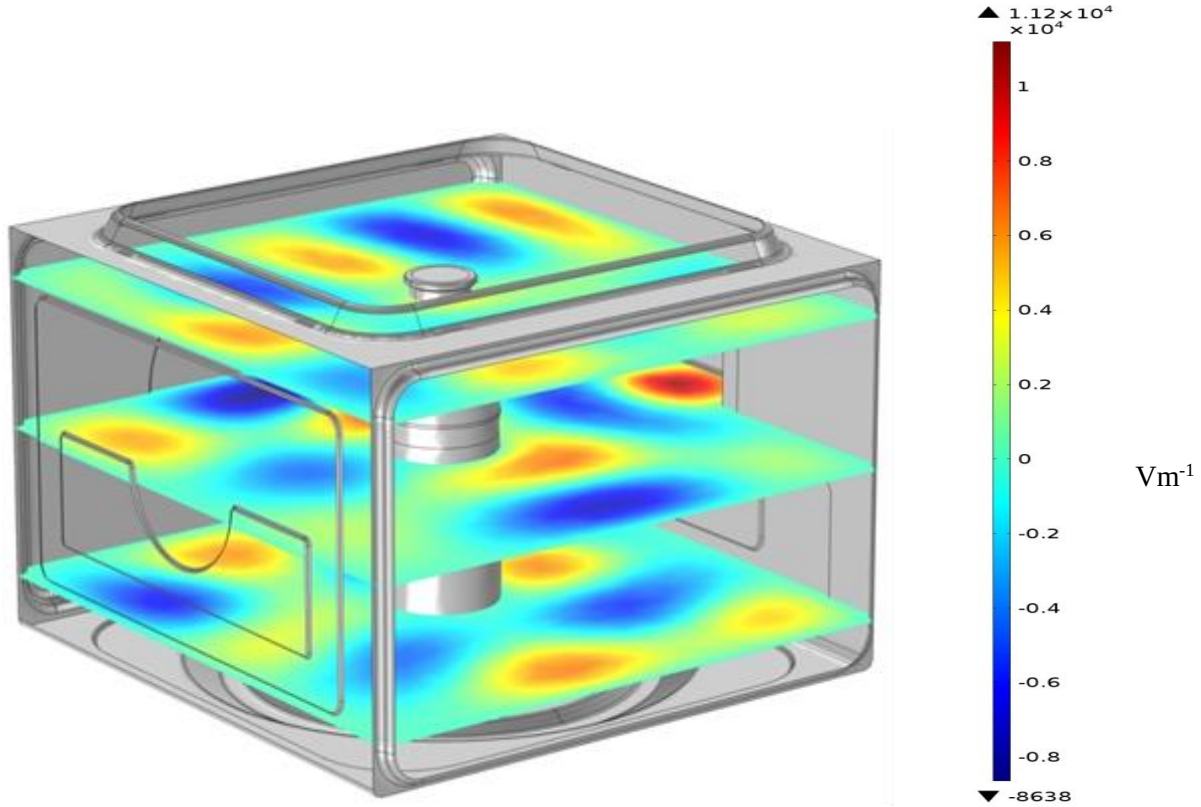


Figura 5. Distribución del campo eléctrico dentro del horno de microondas.

La interacción del campo eléctrico con el alimento genera cierta energía que es absorbida por el producto dependiendo de sus propiedades dieléctricas (Arballo, 2013). Esta energía o potencia absorbida por el alimento sigue el patrón de distribución del campo eléctrico. Como puede observarse en la **Figura 6**, la potencia absorbida por el alimento presenta zonas de máxima y mínima absorción de las microondas. En la misma se puede verificar que las zonas de máxima absorción de las microondas se encuentran predominantemente en la parte central y superior izquierda de la botella.

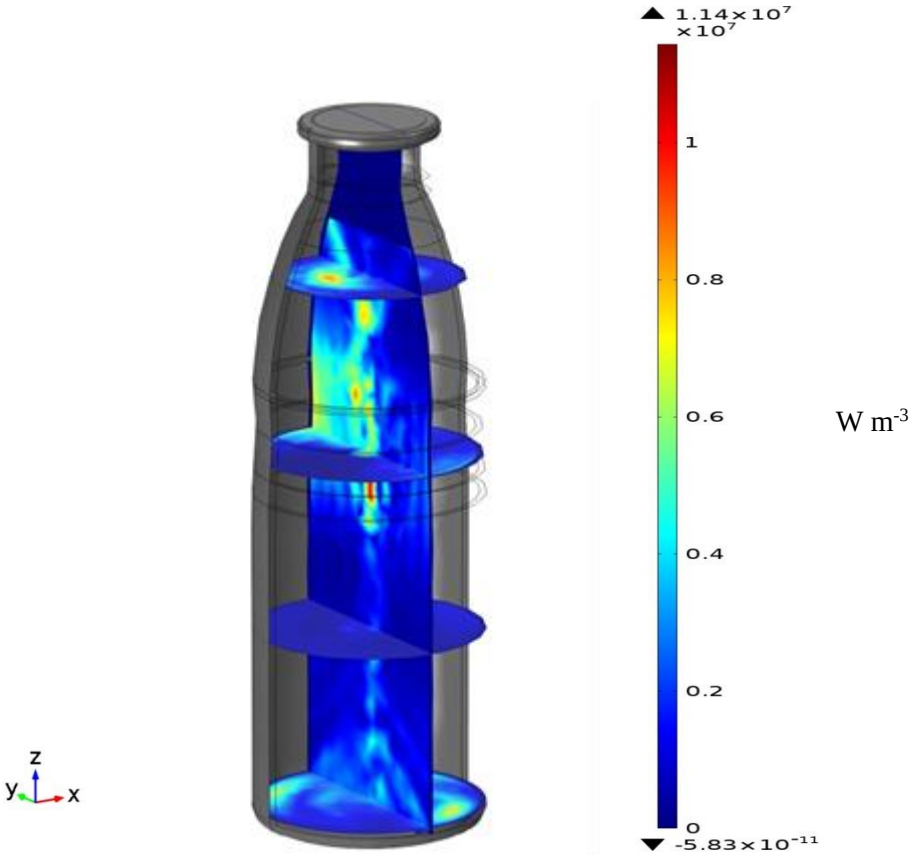
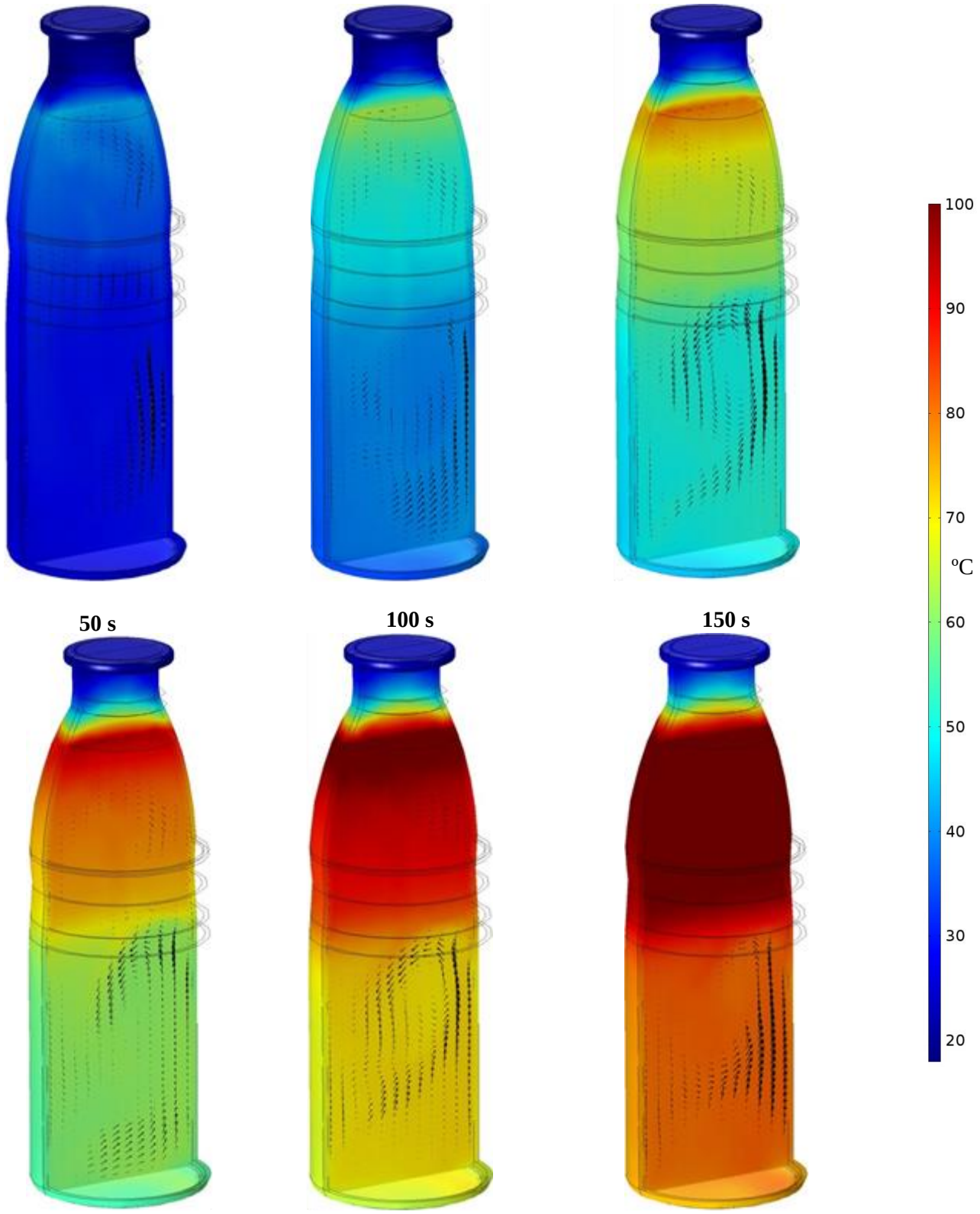


Figura 6. Distribución de la potencia absorbida por unidad de volumen dentro del producto.

En la **Figura 7** se muestran los perfiles de temperatura y de velocidad (representada por medio de vectores), luego de 50, 100, 150, 200, 250 y 300 segundos de iniciado el proceso de pasteurización por microondas. En dicha figura se observa que en la PM se genera una estratificación de la temperatura de la leche en dos zonas, una ubicada en la mitad superior de temperaturas altas y otra en la mitad inferior, de temperaturas más bajas. Así mismo, se generan dos flujos recirculantes, uno en cada una de dichas zonas. El flujo que se desarrolla en la parte superior se vuelve menos intenso conforme progresa la pasteurización y las temperaturas se vuelven más homogéneas en esta zona, mientras el que se desarrolla en la parte inferior mantiene sus velocidades a lo largo de todo el proceso. En la **Figura 7** también puede observarse que para la PM la SHZ se ubica en la mitad inferior, y que la localización de esta zona resulta coincidente con la zona de mínima absorción de microondas mostrada en la **Figura 6**.



50 s **100 s** **150 s**

200 s **250 s** **300 s**

Figura 7. Perfiles de temperaturas y velocidades desarrolladas en la leche, en el plano longitudinal medio, luego de 50, 100, 150, 200, 250 y 300 s de iniciada la pasteurización por microondas.

Comparación de procesos

En la **Figura 8** se presentan las evoluciones de la temperatura máxima (Tmax) y la temperatura mínima (Tmin) en la leche para cada tipo de proceso. En la misma se observa que en la PI la Tmax aumenta más rápidamente que en la PM, siendo esto consecuencia de que el líquido en contacto con la pared de la botella es expuesto a 100ºC a pocos segundos de iniciado el proceso. Por su parte, en la PM la evolución de la Tmax puede explicarse observando en la **Figura 6** la distribución de la potencia absorbida. En la misma puede apreciarse que para la PM las zonas de máxima absorción de la microondas se encuentran mayormente ubicadas en la mitad superior de la botella. Esta distribución de potencia absorbida en la PM hace que el líquido más caliente y de menor densidad que se encuentra en la zona superior, continúe elevando su temperatura y de forma más rápida en comparación con otras zonas, como consecuencia de su mayor absorción de microondas. En la **Figura 8** se muestran también las temperaturas mínimas (Tmin) de la leche para los dos casos, en la misma puede observarse que la Tmin aumenta más lentamente en la PI en comparación con la PM. Este comportamiento se debe al calentamiento volumétrico del producto que se produce en la PM, lo que genera una mayor uniformidad de las temperaturas del líquido y por consiguiente un calentamiento más rápido de la SHZ. En la misma figura también se presentan la evolución de la inactivación microbiana (*PU*) correspondiente a la SHZ para los dos procesos estudiados. Estos perfiles muestran que la destrucción térmica de microorganismos se produce a partir de que la Tmin llega a una temperatura de 60ºC, y que la PM alcanza más rápidamente el valor recomendado de *PU*(1min), para alcanzar inocuidad microbiológica en la leche, en comparación con la PI.

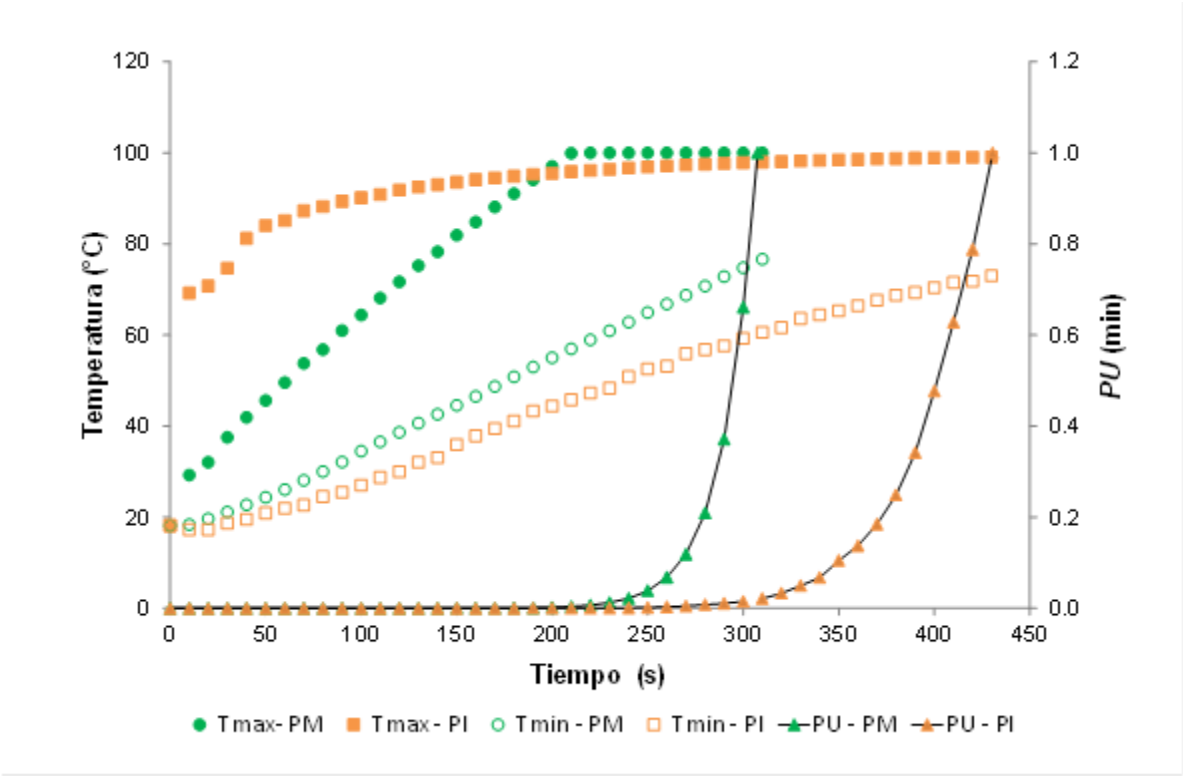


Figura 8. Evolución de la temperatura máxima (Tmax), mínima (Tmin) e inactivación microbiana (*PU*) de la

leche durante la Pasteurización por Inmersión (PI) y por Microondas (PM).

En la **Figura 9** se presenta la evolución de la diferencia entre la temperatura máxima y mínima (ΔT_{max}) de la leche durante los dos casos de pasteurización analizados. Esta figura permite observar el grado de uniformidad en el calentamiento del producto. Es evidente que la PM alcanza un calentamiento más uniforme del producto durante todo el proceso, donde la ΔT_{max} es inferior a la correspondiente a la PI. Por su parte, en la PM la ΔT_{max} aumenta hasta los 210 s donde alcanza un valor de 43ºC, y luego comienza a descender como consecuencia de que la Tmax llego a su valor máximo de 100ºC, mientras que Tmin continua aumentando. En el caso de la PI, la máxima ΔT_{max} se produce a aproximadamente 50 s, lo cual se corresponde con los perfiles de velocidad máximos que se desarrollan a ese tiempo (ver **Figura 4**) como consecuencia de la diferencia de densidades entre las distintas zonas del líquido.

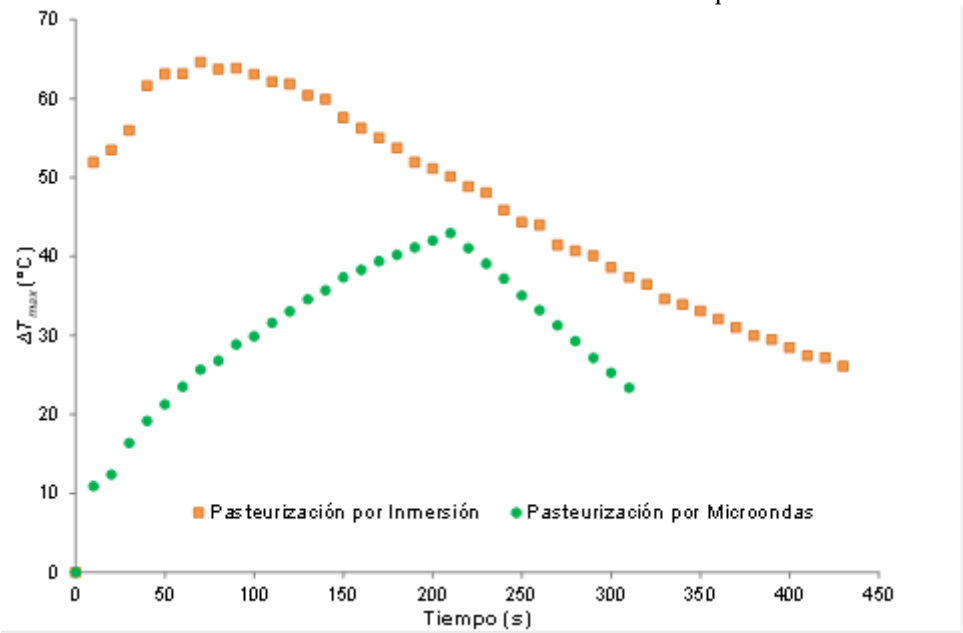


Figura 9. Evolución de la diferencia máxima de temperatura (ΔT_{max}) en la leche durante la Pasteurización por Inmersión y la Pasteurización por Microondas.

En la **Tabla 2** se presentan los tiempos de pasteurización necesarios para alcanzar en la SHZ el valor recomendado de inactivación microbiana (PU_{72}^{8}= 1 min) para este alimento. En la misma se puede observar que el proceso de PM logra una reducción del 28,6% del tiempo de procesamiento, para alcanzar inocuidad microbiológica, en relación a la PI. Esta diferencia se debe, como ya se explicó anteriormente, al calentamiento volumétrico del producto que se produce en la PM, lo que conduce a una mayor uniformidad de las temperaturas del líquido y un calentamiento más rápido de la SHZ. En cuanto a las pérdidas de calidad nutricional y sensorial, cuantificadas a través de las pérdidas medias de tiamina y la variación media de color, respectivamente, los valores obtenidos resultaron prácticamente iguales para ambos tipos de procesos. Las pérdidas de tiamina evaluadas para los dos casos estudiados resultaron ser bajas e inferiores al 1%, como consecuencia de su alta termorresistencia. Por su parte las variaciones de color en la leche, debidas al pardeamiento no enzimático,prácticamente no presentaron diferencias entre ambos tratamientos y fueron del orden del 35%.

Tabla 2.Tiempos de pasteurización, pérdidas medias de tiamina y variación media de color obtenidos para la pasteurización por inmersión y por microondas.

Tipo de tratamiento	Tiempo de pasteurización (s)	Pérdida media de tiamina (vitamina B_1) (%)	Variación media de color (%)
PI	430,5	<1,0	37,0
PM	307,5	<1,0	35,5

CONCLUSIONES

Se desarrollaron modelos matemáticos que permitieron predecir los perfiles de temperatura y de velocidad durante la pasteurización por inmersión y por microondas de leche envasada en botella de vidrio. Dichos modelos fueron utilizados para determinar la localización de la SHZ, los tiempos de procesos, los cambios de color y las pérdidas de tiamina. Los resultados obtenidos mostraron que la PM logra un calentamiento más uniforme del producto y consecuentemente reduce los tiempos de procesamiento en relación a la PI. Los modelos desarrollados podrían ser utilizados con el objetivo de reducir aún más los tiempos de proceso y las pérdidas de calidad en la PM, evaluando otras orientaciones y ubicaciones de la botella dentro de la cavidad del horno.

BIBLIOGRAFÍA

Al-Hilphy ARS, Ali, H.I. 2013. Milk flash pasteurization by the microwave and study its chemical microbiological and thermo physical characteristics. Journal Food Process Technology, 4(7):1-5.

Anand Paul D, Anishaparvin A, Anandharamakrishnan C. 2011. Computational fluid dynamics studies on pasteurisation of canned milk. International Journal of Dairy Technology, 64 (2): 305-313.

Arballo JR, Campañone LA, Mascheroni RH. 2010. Modeling of microwave drying of fruits. DryingTechnology, 28 (10): 1178-1184.

Arballo JR. 2013. Modelado y simulación de la deshidratación combinada osmótica-microondas de frutihortícolas. *Tesis Doctoral*, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata.

Augusto PE, Pinheiro TF, CristianiniM. 2010. Using Computational Fluid-Dynamics (CFD) for the evaluation of beer pasteurization: effect of orientation of cans.Ciencia e Tecnologia de los Alimentos, 30: 980-986.

Bejan A. 1993. Heat Transfer (pp. 339-340). New York: Wiley.

Bird RB, Stewart W, Lightfoot EN. 1976. Transport Phenomena. John Wiley and Sons, New York.

Datta AK, Anantheswaran RC. 2001. Handbook of microwave technology for food applications. Marcel Dekker, USA.

Ghani AG, Farid MM, Chen XD, Richards P. 1999. Numerical simulation of natural convection heating of canned food by computational fluid dynamics. Journal of Food Engineering, 41:55-64.

Ghani A, Farid MM, Zarrouk SJ. 2003. The effect of can rotation on sterilization of liquid food using computational liquid dynamics. Journal of Food Engineering, 57:9-16.

Incropera FP, DeWitt DP. 2003. Fundamentals of Heat and Mass Transfer (in Portuguese). Rio de Janeiro: LTC.

Jaluria Y. 1980. Natural Convection Heat and Mass Transfer. Pergamon Press, Oxford.

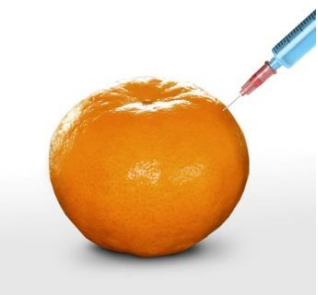
Kessler HG, Fink R. 1996. Changes in heated and storage milk with an interpretation by reaction kinetics. Journal Food Science, 5:1105-1111.

Kiziltas S, Erdogdu F, Palazoglu TK. 2010.Simulation of heat transfer for solid-liquid food mixtures in cans and model validation under pasteurization conditions. Journal of Food Engineering, 97: 449-456.

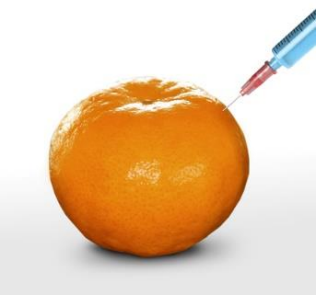
Holdsworth SD. 1997.Thermal processing of packaged foods. London, Ed. Chapman Hall, 146-155.

Lespinard AR, Mascheroni RH. 2014. Simulación numérica de los perfiles de temperatura y velocidad durante la pasteurización de alimentos líquidos viscosos. Efecto de la orientación del envase. Mecánica Computacional, 33:3347-3360.

Lin YE, Anantheswaran RC, Puri VM. 1995. Finite element analysis of microwave heating of solid foods.



Journal of Food Engineering, 25:85-112.
Ohlsson T. 1980.Optimal sterilization temperatures for flat containers.Journal of Food Science, 45:848-858.
Pagliarini E, Vernille M, Peri C. 1990. Kinetic study on color changes in milk due to heat. Journal of Food Science, 55:1766-1767.
Pitchai K, Chen J, Birla S, Gonzalez R, Jones D, Subbiah J. 2014. A microwave heat transfer model for a rotating multi-component meal in a domestic oven: Development and validation. Journal of Food Engineering, 128:60-71.
Pinho C, Cristianini M. 2005. Three-dimensional mathematical modeling of microbiological destruction of Bacillus stearothermophilusin conductive baby food packed in glass container. International Journal of Food Engineering, 1:1-8.
Rabiey L, Flick D, Duquenoy A. 2007. 3D simulations of heat transfer and liquid flow during sterilisation of large particles in a cylindrical vertical can. Journal of Food Engineering, 82: 409-417.
Stoforos NG, Merson RL. 1990. Estimating heat transfer coefficients in liquid/particulate canned foods using only liquid temperature data. Journal Food Science, 55:478-483.
Varma M, Kannan A. 2005. Enhanced food sterilization through inclination of the container walls and geometry modifications. International Journal of Heat and Mass Transfer, 48:3753-3762.
Walstra P, Wouters J, Geurts T. 2006. Dairy Science and Technology, 2nd edn. New York: CRC Press.



Efecto de la condiciones de maceración sobre las propiedades reológicas del almidón de arroz

Loubes M.A., Tolaba M.P.
Universidad de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ, UBA-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Buenos Aires, Argentina.
mtolaba@di.fcen.uba.ar

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la molienda húmeda de arroz, asistida con un molino planetario, y combinaciones de dodecil sulfato sódico (SDS) e hidróxido de sodio (NaOH), sobre las propiedades reológicas de los almidones extraídos. Las propiedades viscoelásticas de los almidones se determinaron en un reómetro de esfuerzo controlado, dentro de la región viscoelástica lineal. Los ensayos comprendieron barridos de temperatura y de frecuencia. Mediante el método de superficie de respuesta se encontraron efectos significativos ($p<0,05$) de las concentraciones de SDS y de NaOH, sobre el módulo de almacenamiento (G'), el módulo de perdida (G"), y la tan δ (G"/G'). Durante la gelatinización se observó que un incremento en la concentración de tensioactivo provocó un aumento en los valores de G'_{max} y G''_{max}, siendo este efecto más marcado en ausencia de NaOH. Los espectros mecánicos de las suspensiones gelatinizadas mostraron un carácter predominantemente elástico, hallándose en todos los casos valores de tan δ menores a 0,2. Los datos experimentales ajustaron satisfactoriamente a la ley de la potencia. Estos resultados indican que una menor concentración de tensioactivo promueve estructuras más inestables y señalan el efecto significativo de las combinaciones de tensioactivo-álcali para producir almidones con características viscoelásticas distintivas.

Palabras clave: molienda húmeda, molino planetario de bolas, surfactante.

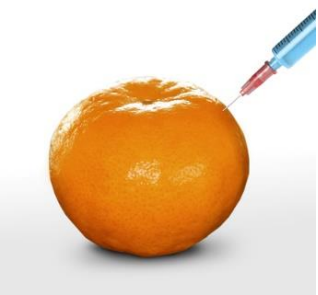
ABSTRACT

The effect of wet milling rice, assisted with a planetary mill, and combinations of sodium dodecyl sulfate (SDS) and sodium hydroxide (NaOH), on the rheological properties of starches extracted was evaluated. The viscoelastic properties of starches were determined by a controlled-stress rheometer, within the linear viscoelastic region. The testing involved temperature and frequency sweeps. Significant effects ($p <0.05$) of SDS and NaOH concentrations on the storage module (G'), loss module (G"), and tan δ (G"/G') were found by response surface method. During suspensions gelatinization, it was observed that an increase in the surfactant concentration caused a rise on G'_{max} and G''_{max} values, being more noticeable in the absence of NaOH. Mechanical spectras of gelatinized suspensions showed a predominantly elastic character, in all cases the values of tan δ were lower than 0.2. The experimental data adjusted successfully to the power law. These results indicate that a lower concentration of surfactant promotes more unstable structures and signal the significant effect of the surfactant-alkali combinations to produce starches with distinctive viscoelastic properties.

Keywords: wet milling, planetary ball mill, surfactant.

INTRODUCCIÓN

En la molienda húmeda de arroz pulido para la obtención de almidón, se busca separar los componentes químicos del grano: almidón, proteína y fibra. Esta operación comprende varias etapas: maceración, molienda húmeda y separación de los componentes por centrifugación (Juliano 1994). La aislación del almidón de arroz difiere de la correspondiente al maíz, trigo o papa debido a las diferencias en las propiedades de las proteínas. Como la mayor parte de las proteínas del arroz son solubles en álcali, la



maceración en medio alcalino constituye el método tradicionalmente utilizado, el cual proporciona buena recuperación y bajo contenido proteico residual de aproximadamente 1% (Yang et al. 1984). Los granos de arroz se maceran en solución de hidróxido de sodio (0,3-0,5%), a temperaturas entre 25-50°C. Una temperatura mayor cercana a la gelatinización, puede provocar cambios estructurales en los gránulos (*annealing*), que alteran sus características físico-químicas (Zobel et al. 1988). La fuerte asociación entre la proteína y el almidón en el arroz, dificulta su separación; por lo que la lenta maceración (24 horas a 25°C) incrementa los problemas microbianos (Juliano 1994), además se genera gran cantidad de efluente alcalino, cuyo costoso tratamiento ha incidido negativamente en el desarrollo de la industria arrocera (Lumdubwong y Seib 2000). Luego el arroz macerado y escurrido se muele en húmedo, con solución alcalina en molinos de bolas, de martillos o de piedra. Después de almacenar la suspensión de 10 horas a 24 horas, se elimina la fibra haciéndola pasar a través de tamices; el almidón se recupera por centrifugación, se lava en agua y se seca (Juliano 1994). Diferentes estrategias han sido propuestas para incrementar la eficiencia de la extracción de almidón, las cuales incluyen: maceración con surfactantes (Kung et al. 1987, Wang y Wang 2004a), enzimas (Lumdubwong y Seib 2000, Wang y Wang 2001), y aplicación de ultrasonido de alta intensidad (Wang y Wang 2004a, Wang y Wang 2004b). Los surfactantes iónicos como el dodecil sulfato sódico (SDS, tensioactivo aniónico) provocan la desnaturalización de las proteínas, promoviendo cambios en la estructura terciaria y cuaternaria, al unirse a la proteína formando complejos, lo que facilita la extracción de la misma (Kinugasa et al. 2001, Shirahama et al. 1974). La reciente aparición en el mercado de molinos de alta energía, que pueden operar por vía húmeda y son especialmente aptos para producir un elevado grado de disgregación, se presenta como una potencial herramienta para la obtención de almidón y abre interesantes perspectivas, por cuanto podría diversificarse la gama de productos, de acuerdo con las condiciones operativas del proceso. Dada las posibilidades que ofrece el molino planetario de bolas, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la molienda húmeda de arroz en dicho equipamiento, empleando diferentes combinaciones de hidróxido de sodio y SDS, sobre las propiedades reológicas de los almidones obtenidos.

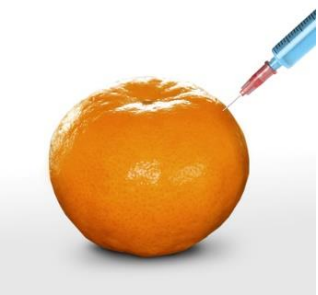
MATERIALES Y MÉTODOS

Material

Se utilizó arroz blanco comercial de grano largo fino (Molinos Río de la Plata S.A., Buenos Aires, Argentina) con un contenido de amilosa de 23,7 g/100 g b.s. de almidón (Morrison y Laignelet 1983). La composición del grano se determinó por triplicado de acuerdo con los métodos estándar (AOAC 2000), los resultados expresados en base seca fueron: humedad 11,5 g/100 g, almidón 79,5 g/100 g, materia grasa 0,5 g/100 g, proteína 7,8 g/100 g (N x 5,75), fibra 0,3 g/ 100 g, y ceniza 0,4 g/100 g.

Molienda húmeda

La molienda húmeda de arroz se realizó de acuerdo con el procedimiento de Loubes et al. (2016) en un molino planetario de alto impacto (PM100, Retsch GmbH, Alemania). El arroz (111 g) y la solución de maceración (134 g) se cargaron junto con las bolas de óxido de circonio (diámetro: 5 mm), en una jarra (500 mL) del mismo material, adoptándose una relación en masa de bolas/arroz de 5:1 (g:g). Los ensayos experimentales se efectuaron según el diseño en red de Doehlert (**Tabla 1**), estableciéndose siete combinaciones de hidróxido de sodio (NaOH: 0-0,075% p/v, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EE.UU.) y dodecil sulfato sódico (SDS: 0,3-1,5% p/v, J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, EE.UU.) como solución de maceración. El homogenato se obtuvo implementando un protocolo de molienda que consistió en ciclos repetitivos de molienda (5 min con inversión de giro cada 30 s) a 550 rpm, seguidos de pausa (30 min), hasta completar el tiempo de molienda establecido (15 min). La pausa fue contabilizada como tiempo de maceración *in situ*. La suspensión resultante se centrifugó durante 10 min a 1400×*g* (Rolco 350 T, Rolco SRL, Buenos Aires, Argentina), el sobrenadante se eliminó y la proteína fue aislada manualmente con espátula. Este procedimiento se repitió tres veces mediante la adición de agua destilada. El almidón extraído se neutralizó con ácido clorhídrico (HCl: 1N), centrifugó y posteriormente liofilizó (ALPHA 1-4 LD2, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Alemania) durante 48 h a -56°C y 0,04 mbar. Además se realizó una molienda complementaria como control, con NaOH (0,1% p/v) en ausencia de



tensioactivo.

Ensayos reológicos

Las determinaciones reológicas se realizaron en un reómetro oscilatorio dinámico Phaar Physica MCR 300 (Anton Paar, Graz, Austria) con esfuerzo de corte controlado. Se utilizó un sistema de platos paralelos (diámetro: 3 cm) separados por un espacio de 1 mm, entre los cuales se coloco 1,4 mL de suspensión de almidón de arroz (8% p/p b.s.). La temperatura del plato inferior fue controlada mediante un sistema Peltier y un baño termostatizado (Viscotherm VT2, Phaar Physica). Con el objeto de evitar la deshidratación de las muestras y la adherencia de las mismas al sistema de platos, se sellaron los bordes con aceite de silicona (viscosidad, 290-310 mPa.s; Biopack, Argentina). Mediante el barrido de temperatura, a frecuencia (1 Hz) y deformación (0,1%) constantes, se determinó el comportamiento viscoelástico de las suspensiones de almidón, en el rango de viscoelasticidad lineal. Se empleó un programa de temperatura que consistió en un calentamiento isotérmico (50°C; 1 min) seguido de una rampa de calentamiento a velocidad constante (50-90°C; 12°C/min), luego, una etapa de calentamiento isotérmico (90°C; 2,5 min) seguido de una rampa de enfriamiento a velocidad constante (90-50°C; 12°C/min) y finalmente, una etapa de enfriamiento isotérmico (50°C; 1 min). Luego de terminada la medición, antes de sacar la muestra, se realizó un barrido de frecuencia entre 1 y 10 Hz, a 70°C y deformación constante de 0,1%, obteniéndose los espectros mecánicos de las muestras. Durante las mediciones se registró la evolución del módulo de almacenamiento (G'), el módulo de pérdida (G"), y la tangente del ángulo de desfasaje (tan δ = G"/G'). Los ensayos se llevaron a cabo por duplicado.

Caracterización del gel

La naturaleza del gel formado por los almidones aislados bajo diferentes condiciones de tratamiento se puede establecer a partir del modelado del espectro mecánico. La ley de la potencia (Ross-Murphy 1995) ha sido propuesta para simular la dependencia de los módulos viscoelásticos con la frecuencia.

$$G' = K'\omega^{n'}$$

$$G'' = K''\omega^{n''} \quad (1)$$

donde K y n son constantes, y ω es la frecuencia de oscilación expresada en rad/s. El valor del parámetro n se puede asociar al tipo de gel formado.

Análisis estadístico

Se aplicó la metodología de superficie de respuesta (MSR) para analizar el efecto de la concentración del tensioactivo (x_1: SDS) y del álcali (x_2: NaOH), sobre las características de los almidones de arroz aislados en el molino planetario de bolas. Las respuestas estudiadas (Y) se ajustaron en función de las condiciones de maceración codificadas linealmente, usando un polinomio de segundo grado (Khuri y Cornell 1987):

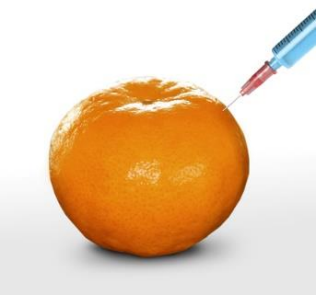
$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^{n} a_i x_i + \sum_{i=1}^{n} a_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{\substack{j=2 \\ i<j}}^{n} a_{ij} x_i x_j \quad (2)$$

Donde a_o, a_i y a_{ii} representan los coeficientes correspondientes a los términos constante, lineal y cuadrático respectivamente, en tanto que el coeficiente a_{ij} representa el efecto de interacción entre los factores estudiados (x_i y x_j). El análisis estadístico, se llevó a cabo mediante el programa estadístico Statgraphics Centurion versión XVI (Statistical graphics Corporation, EE.UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Barrido de temperatura

A fin de caracterizar las distintas etapas de la gelatinización de las suspensiones de almidón de arroz, se procedió a registrar la evolución de G' y G" a lo largo del tiempo de calentamiento, como se observa en la



Figuras 1. Los almidones del diseño experimental (Alm 1-9), presentaron valores mayores de G' y G" en relación con el almidón de referencia (C) extraído en ausencia de tensioactivo.

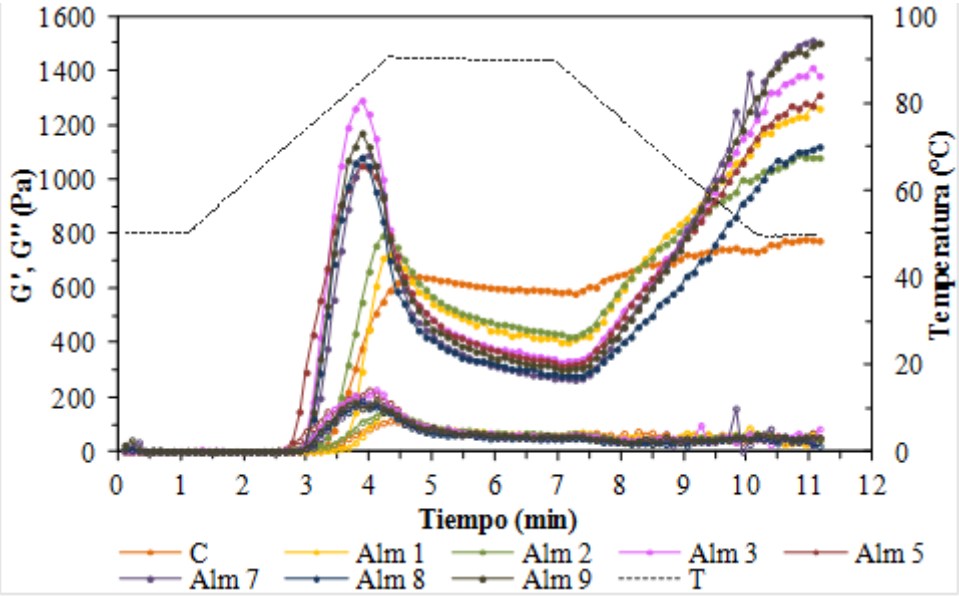
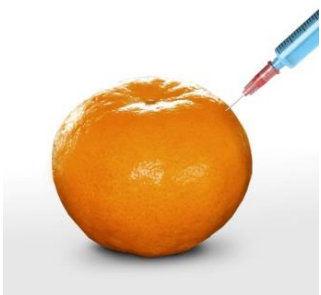


Figura 1. Barrido de temperatura (módulos de almacenamiento: G', ●; módulos de pérdida: G", ○) de las suspensiones de almidones de arroz (8% p/p, b.s.) a frecuencia (1 Hz) y deformación constante (γ = 0,1%).

El módulo de almacenamiento y el módulo de pérdida de todas las suspensiones de almidón de arroz aumentaron rápidamente hasta un máximo (G'_{max} y G''_{max}) y luego disminuyeron cuando prosiguió el calentamiento. La temperatura a la cual los módulos exhibieron el mayor valor (T_{max}), varió de 85°C a 90,5°C (**Tabla 1**). El aumento rápido de G' y G", antes de alcanzar T_{max}, se suele atribuir al hinchamiento de los gránulos de almidón para cubrir todo el volumen disponible del sistema y a la lixiviación de las cadenas de amilosa (Tsai et al. 1997). Los valores de G'_{max} mostraron una variación considerable entre 643 Pa para C y 1290 Pa para Alm 3. Los cambios de G'_{max} pueden ser explicados por las diferencias en el contenido de proteína de las muestras. La reducción de los valores de G' está relacionada con la disminución en el contenido de proteínas de los almidones de arroz (Loubes 2015). Por otra parte, siempre fueron mayores que los valores de G''_{max}, esto muestra el carácter predominantemente elástico del sistema estudiado.

Tabla 1. Diseño experimental y parámetros viscoelásticos característicos de las suspensiones de almidón de arroz gelatinizadas (8 % p/p, b.s.).

Muestra	Concentración (% p/v)		SDS	NaOH	G'_{max} (Pa)	G''_{max} (Pa)	T_{max} (°C)	G'_{90} (Pa)	G''_{90} (Pa)	G'_{50} (Pa)	G''_{50} (Pa)
	SDS	NaOH	x_1[a]	x_2[a]							
C	0	0,1	-	-	643[a]	90[a]	90,3[f]	588[h]	59,3[d]	775[b]	47,4[c]
Alm 1	0,3	0,025	-0,866	-0,5	724[b]	145[b]	90,5[e]	418[e]	60,0[c]	1260[e]	42,9[c]
Alm 2	0,3	0,075	-0,866	0,5	794[c]	153[b]	89,2[d]	434[f]	61,4[c]	1080[c]	42,3[c]
Alm 3	0,9	0	0	-1	1290[f]	188[c]	85,1[b]	340[d]	56,3[b]	1380[f]	83,8[d]
Alm 4*	0,9	0,05	0	0	1100[d]	183[c]	85,0[a]	299[c]	48,5[b]	1360[f]	45,4[c]
Alm 5*	0,9	0,05	0	0	1050[d]	206[c]	85,0[a]	326[c]	53,6[b]	1310[f]	50,4[c]
Alm 6*	0,9	0,05	0	0	1123[d]	195[c]	85,0[a]	313[c]	51,1[b]	1335[f]	54,8[c]
Alm 7	0,9	0,1	0	1	1090[d]	177[c]	86,4[c]	268[b]	47,2[b]	1500[h]	51,7[c]



Alm 8	1,5	0,025	0,866	-0,5	1080[d]	188[c]	85,1[b]	285[c]	47,8[b]	1120[d]	21,4[a]
Alm 9	1,5	0,075	0,866	0,5	1170[e]	158[b]	85,0[a]	308[c]	54,2[b]	1500[h]	51,2[c]

[*]Punto central del diseño experimental por triplicado. [a]Valores obtenidos mediante codificación lineal.
G': módulo de almacenamiento, G": módulo de perdida. Promedio de los valores medidos a 1 Hz de frecuencia y 0,1% de deformación. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p<0,05$).

Al finalizar el calentamiento isotérmico a 90°C, los valores de los módulos oscilatorios (G'_{90}, G''_{90}) disminuyeron con respecto a los módulos máximos ($G'_{90}<G'_{max}$, $G''_{90}<G''_{max}$). Finalmente, la viscoelasticidad se incrementó durante el enfriamiento controlado de las muestras gelatinizadas, lo cual se evidencia en el incremento de los valores de los módulos oscilatorios al terminar el enfriamiento isotérmico a 50°C (G'_{50}, G''_{50}). Por otro lado, los almidones aislados con tensioactivo mostraron un aumento de los módulos, superior al observado en el almidón obtenidos solamente con álcali. Un análisis detallado del efecto de las condiciones de maceración (concentración de tensioactivo y álcali) sobre los parámetros viscoelásticos mencionados se llevó a cabo mediante MSR. En la Figura 2 se muestra el efecto de los factores sobre G'_{max}, G''_{max} y T_{max}. En todos los caso el ajuste fue satisfactorio ($R^2>0,90$) y las respuestas estudiadas fueron explicadas adecuadamente por un modelo de segundo orden. La temperatura (T_{max}) a la cual se obtuvieron los mayores valores de los módulos dinámicos (G'_{max} y G''_{max}), disminuyó con el aumento de la concentración de SDS. También se observó el efecto positivo de la concentración de tensioactivo sobre los valores de G'_{max} y G''_{max}, siendo más marcado en ausencia de NaOH.

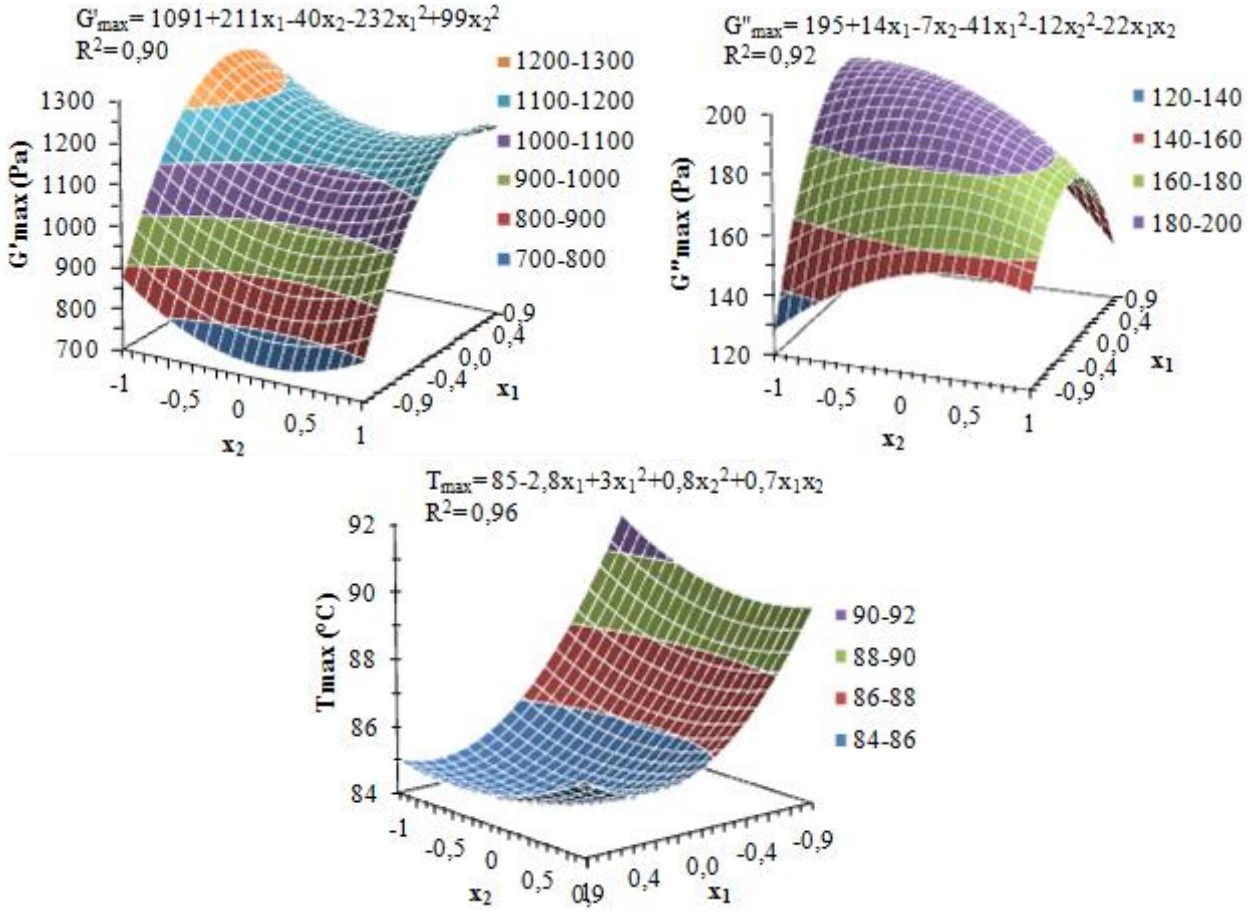


Figura 2. Superficies de respuesta de los valores máximos del módulo de almacenamiento (G'_{max}), del módulo de pérdida (G''_{max}) y de la temperatura (T_{max}) en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2).

En la **Tabla 2** se presentan los coeficientes de los polinomios de segundo orden, que describen el efecto de las condiciones de maceración sobre los valores de los módulos de almacenamiento y de pérdida, al finalizar el calentamiento y el enfriamiento. Los datos correspondientes a G' ofrecieron un mejor ajuste que G". El efecto de la concentración de SDS fue significativo para G'_{90} y G'_{50}, y la concentración de NaOH sólo afectó a G'_{50}. En contraste, no se observaron efectos significativos de las condiciones de maceración sobre G''_{90} y G''_{50}. La interacción entre el tensioactivo y el álcali fue relevante únicamente para G'_{50}, obteniéndose el mayor valor de G' al finalizar el enfriamiento (G'_{50} = 1742 Pa), con la máxima concentración de tensioactivo y álcali.

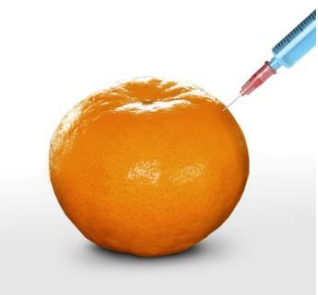
Tabla 2. Efectos de las condiciones de maceración sobre los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G") al finalizar el calentamiento (90 °C) y el enfriamiento (50 °C), en términos de los factores codificados: concentración de SDS (x_1) y concentración de NaOH (x_2).

Coeficientes		**G'_{90}** (Pa)	**G''_{90}** (Pa)	**G'_{50}** (Pa)	**G''_{50}** (Pa)
Constante	a_o	313	51,3	1335	50,2
Lineal	a_1	-75*	-5,6NS	81*	-3,6NS
	a_2	-18NS	-1,7NS	73*	-5,8NS
Cuadrático	a_{11}	68*	6,0NS	-162*	-20,2NS
	a_{22}	-9NS	---	105*	17,6NS
Interacción	a_{12}	---	2,9NS	323*	17,6NS
Correlación	r^2	0,9073	0,7164	0,9865	0,6829

* Significativo para p<0,05; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

Barrido de frecuencia

Con el propósito de establecer la naturaleza de la estructura de las muestras gelatinizadas se realizó el barrido de frecuencia. En la **Figura 3** se presentan los espectros mecánicos de las suspensiones gelatinizadas de almidón de arroz. Los valores de G' fueron significativamente mayores (p<0,05) que los de G" a la misma frecuencia, en todas las muestras analizadas, indicando un carácter predominantemente elástico. Por otra parte, G" fue más dependiente de la frecuencia angular que G'. Esto resultados sugieren que las suspensiones gelatinizadas de almidón de arroz forman gel. Por otra parte, los geles correspondientes a los almidones de arroz obtenidos usando combinaciones de tensioactivo-álcali, mostraron valores de los módulos viscoelásticos mayores que los de los geles del almidón de referencia (C). Alternativamente el carácter viscoelástico puede expresarse a través de la tangente del ángulo de desfasaje (tan δ), lo que constituye una nueva función del material. Los valores de la tan δ en función de la frecuencia, en todos los casos fueron menores a 0,2; validando así el carácter sólido de tipo predominante de la estructura.



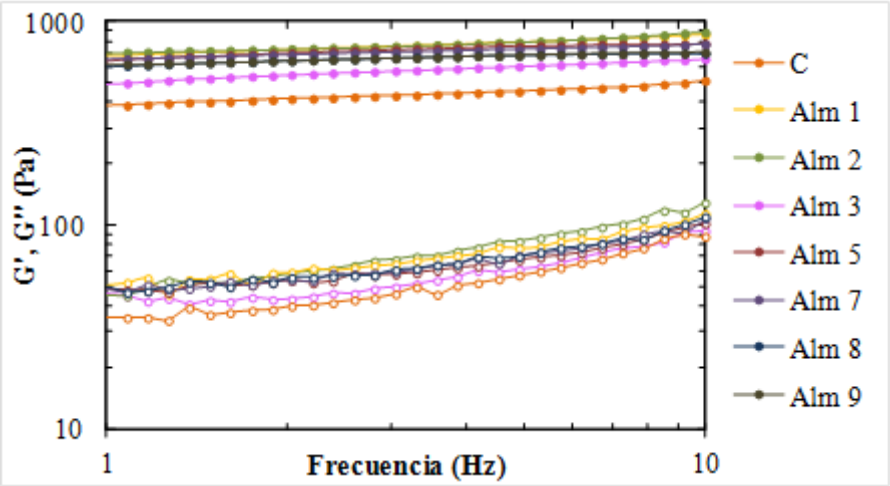


Figura 3. Espectros mecánicos dinámicos (módulos de almacenamiento: G', ●; módulos de pérdida: G'', ○) de los geles de almidones de arroz (8% p/p, b.s.) a 70°C y deformación constante (γ = 0,1%).

Modelado de los espectros mecánicos dinámicos

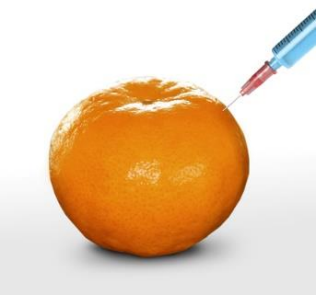
Los datos experimentales obtenidos mediante los ensayos dinámicos se ajustaron con la ecuación 1, en función de la frecuencia angular en el rango de 6,28-62,8 rad/s (1 a 10 Hz). La **Tabla 3** proporciona los valores de los parámetros del ajuste y los coeficientes de determinación, de las suspensiones gelatinizadas de almidón de arroz.

Tabla 3. Parámetros de ajuste de la ec. 1 para las suspensiones de almidón de arroz gelatinizadas (8% p/p, b.s.) a 70°C.

Muestra	G'			G"		
	n'	***K'*** (Pa $s^{n'}$)	**R^2**	***n"***	***K"*** (Pa $s^{n"}$)	**R^2**
C	0,112 ± 0,002^{g}	312,2 ± 0,5^{a}	0,986	0,421 ± 0,007^{f}	14,1 ± 0,7^{b}	0,941
Alm 1	0,100 ± 0,002^{e}	564,0 ± 0,5^{g}	0,995	0,334 ± 0,003^{e}	25,4 ± 0,4^{f}	0,947
Alm 2	0,094 ± 0,003^{d}	580,5 ± 0,2^{j}	0,962	0,429 ± 0,001^{f}	19,7 ± 0,2^{d}	0,981
Alm 3	0,118 ± 0,005^{g}	402,7 ± 0,4^{c}	0,995	0,414 ± 0,002^{f}	17,6 ± 0,9^{c}	0,960
Alm 4*	0,088 ± 0,001^{c}	566,8 ± 0,2^{h}	0,993	0,303 ± 0,003^{c}	25,7 ± 0,5^{f}	0,946
Alm 5*	0,088 ± 0,002^{c}	565,3 ± 0,2^{h}	0,982	0,308 ± 0,005^{c}	24,5 ± 0,1^{e}	0,923
Alm 6*	0,081 ± 0,007^{c}	566,0 ± 0,9^{h}	0,992	0,297 ± 0,003^{c}	26,8 ± 0,5^{f}	0,941
Alm 7	0,072 ± 0,001^{b}	570,6 ± 0,1^{i}	0,997	0,322 ± 0,001^{d}	24,3 ± 0,2^{e}	0,942
Alm 8	0,074 ± 0,001^{b}	531,0 ± 0,3^{e}	0,983	0,301 ± 0,002^{c}	26,2 ± 0,4^{f}	0,964
Alm 9	0,062 ± 0,008^{a}	548,7 ± 0,2^{f}	0,994	0,265 ± 0,009^{a}	29,7 ± 0,8^{g}	0,929

*Punto central del diseño experimental. G': módulo de almacenamiento, G": módulo de perdida. Valores seguidos de la misma letra dentro de una misma columna no difieren significativamente ($p<0,05$).

Desde un punto de vista estructural, cuando *n* tienden a cero, y por consiguiente los módulos viscoelásticos resultan independientes de la frecuencia de oscilación, las suspensiones gelatinizadas de almidón de arroz se pueden considerar geles fuertes, mientras que de carácter débiles o pastas cuando las pendientes son positivas (Ross-Murphy 1984). Los almidones aislados combinando tensioactivo y álcali presentaron un módulo elástico relativamente independiente de la frecuencia ($n'<0,1$), mientras que el módulo viscoso fue levemente dependiente de la frecuencia ($0,27<n''<0,43$), en cambio el almidón de arroz aislado sin tensioactivo (C) presentó un carácter más viscoso con una mayor dependencia de la frecuencia ($n'>0,1$ y $0,42<n''<0,57$). Además, el módulo de pérdida se vio afectado en mayor medida que G' ($n'<n''$). Este tipo de comportamiento se asocia con un gel débil (Clark y Ross-Murphy, 1987). El efecto de las condiciones de maceración (concentración de tensioactivo y álcali) sobre los parámetros de la ec. 1 fue estimado mediante MSR. El modelo matemático empleado ajustó más satisfactoriamente los datos correspondientes a G' (R^2= 0,92 y 0,88 para *n'* y *K'*, respectivamente) que a G" (R^2 = 0,83 y 0,87 para *n"* y *K"*, respectivamente). El análisis mostró un efecto lineal de la concentración de SDS sobre *n'* y *n"*, y un efecto lineal de la concentración de NaOH sobre *n'* (Figura 4). En cambio la concentración de tensioactivo no fue significativa sobre *K'* y *K"*, mientras que la concentración de álcali evidenció un efecto cuadrático sobre *K'* y no fue significativo sobre *K"*. A su vez, los valores de *n'* y *n"* aumentaron con la disminución de la concentración de SDS bajo diferentes concentraciones de álcali.



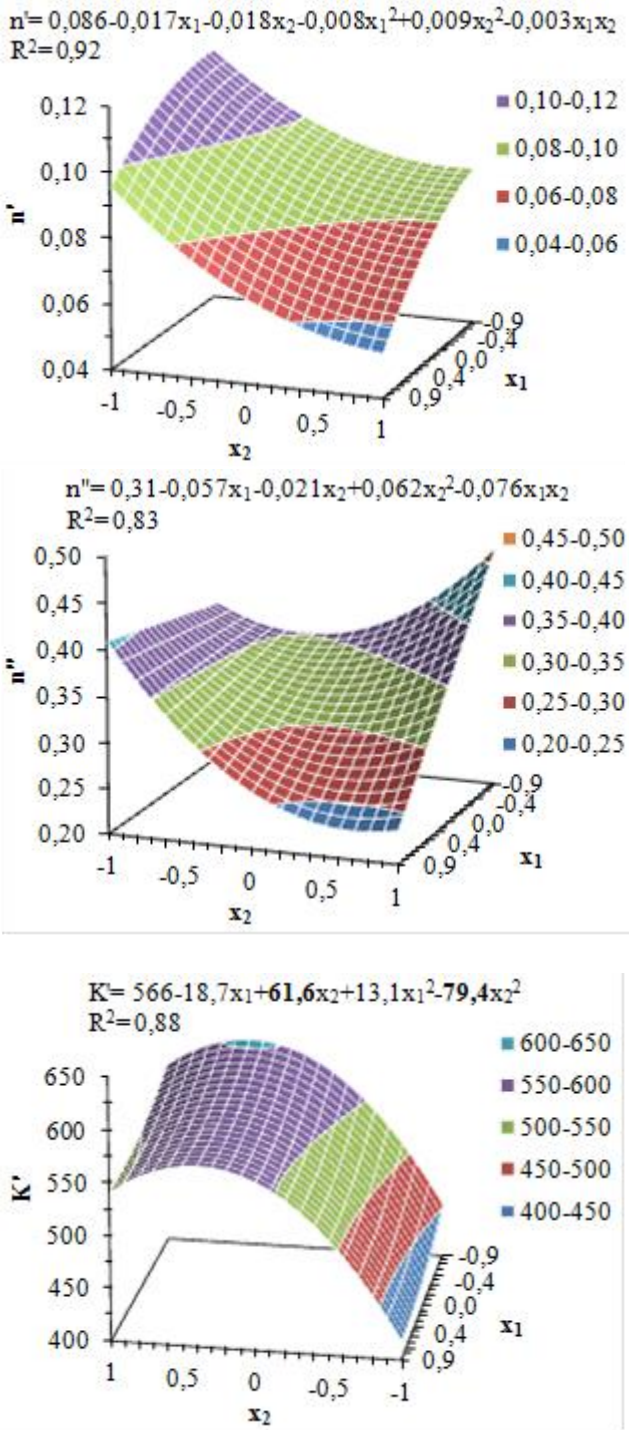
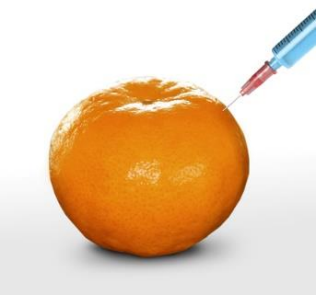


Figura 4. Superficies de respuesta de los parámetros *n', n''* y *K'* de la ec.1 en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2). Coeficientes significativos para p<0,05 marcados en negrita.

CONCLUSIONES

Mediante molienda húmeda del arroz, con diferentes combinaciones de SDS-NaOH y maceración *in situ* en



un molino planetario de bolas, se obtuvieron almidones con características viscoelásticas distintivas. Las diferentes condiciones de maceración con tensioactivo mostraron un aumento de los módulos viscoelásticos, durante el proceso de gelatinización, superior al observado en el almidón obtenido solamente con álcali. A su vez, las suspensiones gelatinizadas revelaron un carácter sólido de tipo predominante en la estructura y exhibieron propiedades mecánicas diversas en función de las concentraciones de SDS-NaOH, pudiéndose atribuir las estructuras más inestables y más dependientes de la velocidad de deformación, a una menor concentración de SDS. Estos resultados señalan que las diferentes condiciones de maceración influyen sobre las propiedades reológicas del material y ayudan a predecir las propiedades de flujo durante el procesamiento, como también a entender los atributos de calidad de los productos que contienen estos almidones.

BIBLIOGRAFÍA

Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). 2000. Official Methods of Analysis. 17ª ed. Gaithersburg: Association of Analytical Communities.

Juliano BO. 1994. El arroz en la nutrición humana. Roma: FAO.

Khuri AI, Cornell JA. 1987. Response Surfaces, Designs and Analyses. New York: Marcel Dekker.

Kinugasa T, Sanagi K, Watanabe K, Takeuchi H. 2001. Effect of interaction between protein and surfactant in aqueous phase on extraction rate of protein into reverse micellar solution. En: Society of Chemical Industry, Solvent Extraction for the 21st Century: proceedings of the ISEC '99. London: Society of Chemical Industry. Vol.1 pag. 89-93.

Kung LL, Chen HJ, Sung HY. 1987. A new method for separation of rice protein and starch. Journal of the Chinese Chemical Society, 25: 299-307.

Loubes M. 2015. Molienda seca y húmeda de arroz en molino planetario. Cinética de la molienda,efecto de las condiciones de molienda en las propiedades funcionales de la harina y del almidón y diseño de mezclas para pastas sin gluten. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Loubes MA, Barrera GN, Tolaba MP. 2016. High-impact wet-milling: Effects of steeping conditions on rice starch attributes. Starch/Stärke, 68: 1-8.

Lumdubwong N, Seib PA. 2000. Rice starch isolation by alkaline protease digestion of wet-milled rice flour. Journal of Cereal Science, 31: 63-74.

Morrison WR, Laignelet B. 1983. An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amyloseincereal and other starches. Journal of Cereal Science, 1: 9-20.

Ross-Murphy SB. 1995. Rheological characterization of gels. Journal of Texture Studies, 26: 391-400.

Ross-Murphy SB. 1984. Rheological methods. En: Chan HWS, editor. Biophysical methods in food research. Oxford: Blackwell. pag. 138-199.

Shirahama K, Tsujii K, Takagi T. 1974. Free-boundary electrophoresis of sodium dodecyl sulfate-protein polypeptide complexes with special reference to SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Journal of Biochemistry, 75: 309-319.

Tsai ML, Li CF, Lii CY. 1997. Effects of granular structures on the pasting behaviors of starches. Cereal Chemistry, 74: 750-757.

Wang L, Wang YJ. 2001. Comparison of protease digestion at neutral pH with alkaline steeping method for rice starch isolation. Cereal Chemistry, 78 (6): 690-692.

Wang L, Wang YJ. 2004a. Application of High-Intensity Ultrasound and Surfactants in Rice Starch Isolation. Cereal Chemistry, 81: 140-144.

Wang L, Wang YJ. 2004b. Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. Journal of Cereal Science, 39: 291-296.

Yang CC, Lai HM, Lii CY. 1984. The modified alkaline steeping method for isolation of rice starch. Food Science, 11: 158-162.

Zobel HF, Young SN, Rocca LA. 1988. Starch gelatinization: X-ray diffraction study. Cereal Chemistry, 65:

443-445.

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen el apoyo financiero de la Universidad de Buenos Aires (UBACYT 20020130100442BA) y PME-2006-01685.

Estudio de la cinética de extracción de principios activos con capacidad antioxidante en cubos de achicoria secados a 60°C.

Masciarelli R., Lucero H., Silvester S.S., Pizzirillo E.

Centro de Investigaciones y Desarrollo de Tecnología en Alimentos (CIDTA)- Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional Rosario. Rosario. Argentina
hectorlucerouranga@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar la velocidad de extracción de principios activos (flavonoides + polifenoles) y de polifenoles totales de cubos de achicoria secos. Se evaluó la capacidad antioxidante, mediante las determinaciones del % de DPPH* residual y el contenido de polifenoles totales (CPT). Los cubos en una relación sólido / líquido (S/L) 1/30, fueron extraídos con mezclas hidroetanólicas (50:50) a 25 y 50ºC. Los valores DPPH* res y CPT a 25ºC, superaron a los de 50ºC y se mantuvieron prácticamente constantes a partir de 100 minutos y de 100 y 40 minutos respectivamente. Las velocidades de extracción en correspondencia con los PA y el CPT, se denominaron VEPA y VEPT. Las VEPA a 25°C superaron a las de 50ºC, en ésta temperatura, se mantuvieron prácticamente constantes a partir de 140 min. En cambio las VEPT no presentaron diferencias significativas a 25 y 50 ºC. Los valores experimentales de las VEPA y VEPT, presentaron menor error cuadrático medio con respecto al modelo exponencial generalizado, salvo a 25ºC en que resultó inferior el modelo de Ley de potencia. De acuerdo a los resultados, se sugiere que no resulta necesario continuar la extracción más allá de 120 minutos.

Palabras claves: capacidad antioxidante, principios activos, achicoria.

ABSTRACT

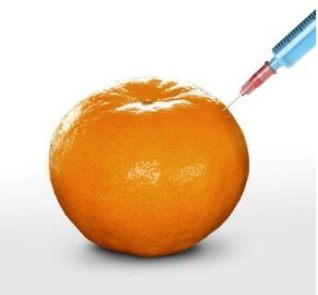
The aim of this work was to study the extraction rate of active ingredients (flavonoids + polyphenols) and total polyphenol cubes of dried chicory. We evaluated the antioxidant capacity determinations by % of DPPH * residual and total polyphenol content (CPT). Cubes in a S / L ratio 1/30, were extracted with hidroetanólics mixtures (50:50) at 25 and 50°C. The values of DPPH * res and CPT at 25°C, exceeded those of 50°C and remained virtually constant from 100 to 100 minutes and 40 minutes respectively. The extraction rates in correspondence with the PA and the CPT were called VEPA and VEPT. The VEPA at 25 ªC exceeded 50°C, at this temperature remained almost constant from 140 min. Instead the VEPT no significant differences at 25 and 50°C. The experimental values of the VEPA and VEPT, had lower mean square error with respect to the generalized exponential model, except at 25°C it turned lower the power law model. According to the results, it is suggested not necessary to continue the extraction over 120 minutes.

Keywords: antioxidant capacity, active ingredients, chicory.

INTRODUCCIÓN

La achicoria (Cichorium intybus L), una especie de la familia de las Asteraceae, es una planta perenne de alrededor de 1 a 1,8 m de altura. Se cultiva ampliamente en variadas regiones templadas de todo el mundo. La achicoria se cultiva por un número de razones en diferentes países. En Brasil, por ejemplo, se cultiva para la producción de hojas, mientras en la India, África del Sur y Bélgica, la achicoria tostada se mezcla con semillas de café para la preparación de café en polvo. En los últimos años, sin embargo, se realiza el procesamiento de la raíz para la producción de inulina (polímero de fructosa) y mediante su hidrólisis se obtienen productos tales como oligofructosa y fructosa. (Figueira et al. (2003), Zhang et al. (2003)).

Una importante propiedad de la inulina pura (oligofructosa) es su elevada insolubilidad en agua fría y ser



fácilmente soluble en agua caliente. Vendrell-Pascuas (2000) y Quemener B. et al.(1994) proponen la extracción acuosa de inulina mediante extracción durante 15 minutos seguido de centrifugación y posterior ataque enzimático mediante amiloglucosidasa, durante 30 minutos a 60ºC, para posteriormente efectuar las determinaciones analíticas de glucosa fructosa. Por otra parte, Park et al. (2007) realizaron extracciones acuosas de extracto de achicoria a 85ºC, partiendo de achicoria secadas por convección y aquellas previamente freezadas antes del secado; obtuvieron solidos solubles cuyos porcentajes oscilaron entre 57-64 % y 63-68%, respectivamente.

La extracción por solvente de compuestos bioactivos de materiales vegetales permeables constituye una etapa importante en la elaboración de productos ricos fitoquímicos. La aplicación de esta tecnología de bajo costo para obtener compuestos utilizados como aditivos o productos nutracéuticos es una estrategia apropiada para la explotación de diferentes vegetales (Da Silva Cámpelo Borges et al., 2011). La actividad antioxidante de los componentes solubles en agua en achicoria (Cichorium intybus var. silvestre) fue investigado por Papetti et al. (2002).

Los taninos se presentan en la achicoria como fenoles simples que son productos del metabolismo secundario, juegan un papel importante en la producción de taninos (polifenoles) a través de reacciones de condensación. Los taninos tienen una variedad de estructuras químicas y se dividen en esteres del ácido gálico y el hidroxidifenolico y sus derivados hidrolizables y presencia de proantocianinas. En la achicoria hay grandes cantidades de taninos condensados en la vacuola, precursores sintetizados en el citoplasma a través de una serie de reacciones enzimáticas que se canalizan en la vacuola para la conversión en taninos y de almacenamiento (Aerts et al, 1999, Martin y Martin, 1982)

Los compuestos fenólicos están presentes en la raíz y son solubles en agua (Chavan et al., 2001), le confieren un sabor amargo a la inulina no purificada (Franck, 2002).

Muy pocos estudios se han centrado en la eliminación de los polifenoles de otras plantas destinados para el consumo humano. Sin embargo, los polifenoles han sido extraídos correctamente a partir de material vegetal mediante el uso de una combinación de agua disolventes. Varios autores han reportado la obtención de polifenoles a partir de la extracción etanolica de orujos tintos (Rockembach et al., 2008) y de maíz pigmentado (Ramírez Romero et at., 2013).

El objetivo de este trabajo fue estudiar cinéticas de extracción de cubos de achicoria a diferentes temperaturas y soluciones de extracción con el fin de determinar, entre dos modelos matemáticos, el que mejor representa el comportamiento de velocidad de extracción de los principios activos en las condiciones presentadas.

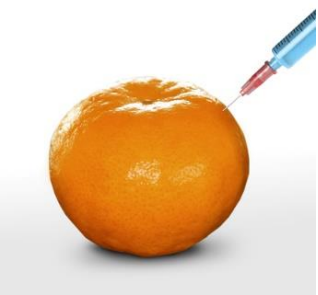
MATERIALES Y MÉTODOS

Como fuente de principios activos (flavonoides + polifenoles) se utilizaron raíces de achicoria provenientes de un productor de la zona de quintas de Rosario. Como la producción de dichos vegetales es estacional, el acopio se realizó en momento que se lo disponía y se los almacenaron en freezer a -18ºC hasta el momento de su procesamiento.

Los bulbos de achicoria se cortaron en cubos de 1 cm de lado y luego se secaron a 60°C en estufa. Para analizar el efecto de la temperatura sobre la velocidad de extracción se realizaron experiencias a 25 y 50°C utilizando una mezcla extractora 50:50 etanol-agua con una relación sólido/líquido (S/L) de 1/30 conteniendo los cubos de achicoria deshidratados (Ferioli y D' Antuono LF 2012).

Preparación de extractos

Se tomaron 13,3 gramos de trozos de achicoria deshidratados a 60°C y se dispersaron en 400 ml de la mezcla disolvente, para extraer los principios activos solubles en la mezcla hidroetanólica de (50:50). Las dispersiones se mantuvieron con agitación durante 180 minutos a temperatura ambiente (25°C) y a 50ºC. Realizándose la toma de muestras mediante una jeringa de plástico, sin la aguja (7-8 mL) a los 15-30-45-60-90-120-150 y 180 minutos. Luego, las partículas sólidas en suspensión fueron separados mediante filtración (Whatman N° 40). Los extractos se conservaron a -18ºC en frascos herméticos de vidrio hasta su utilización para realizar las determinaciones analíticas correspondientes que se realizaron por triplicado.



Determinaciones analíticas

DPPH* residual

Se utilizó el método espectrofotométrico de Shimada et al. (1992) para determinar DPPH*. Se mezcló 1 mL de los extractos con 5 mL de una solución metanólica 0,1 mM de DPPH*. Luego, se midió la absorbancia a 517 nm mediante un espectrofotómetro Jasco Modelo 7800 UV-Vis (Japan Spectroscopic Co., Tokio, Japón). El estándar catequina se utilizó como comparación. El % DPPH*, se calculó según:

$$\%\,\mathrm{DPPH}^{*} = 1 - \frac{\text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia blanco de reactivo}} \times 100 \quad (1)$$

Mientras que el DPPH* residual se calcula de la siguiente manera:

$$\%\,\mathrm{DPPH}^{*}\ \text{residual} = 100 - \%\,\mathrm{DPPH}^{*} \quad (2)$$

Contenido de polifenoles totales (CPT)

Se determinó de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu (FC), descrito por Georgé et al. (2005). Una alícuota de 0,5 ml de extracto se transfirió a un tubo de ensayo. Después de 5 min se le añadió 0,5 mL de reactivo de FC; luego se agregaron 2 mL de Na_2CO_3 (200 g/l) y se agitó. Luego de 15 min de incubación a temperatura ambiente, se agregaron 10 mL de agua bidestilada. El precipitado formado fue removido por centrifugación durante 5 min a 4000 g. Se midió la absorbancia a 725 nm. Los resultados se expresaron como mg acido gálico equivalente (AGE)/ g de muestra seca.

Modelos matemáticos de cinética de extracción

A partir de las determinaciones experimentales del % DPPH* res y de CPT en funciones del tiempo, mediante el programa Excel se encontró que los mejores ajustes fueron realizados con polinomios de grado 3 respectivamente. A partir de las funciones polinómicas encontradas y realizando las derivadas respecto al tiempo; para establecer las expresiones cinéticas de la extracción, definimos a la velocidad de extracción de los principios activos como VEPA y la VEPT, como la velocidad de extracción de los polifenoles totales, correspondiéndose a las variaciones del % de DPPH* res y del CPT con respecto al tiempo fueron aplicados, respectivamente.

Con respecto a las mismas y para correlacionar con los resultados experimentales los modelos matemáticos, basados en las ecuaciones presentadas en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Modelos empíricos

Tabla I. Modelos matemáticos para ajuste de datos experimentales	
Modelos empíricos	Ecuación
Page	$E=A\exp(-t^{B})$
Henderson and Pabis	$E=A\exp(-Bt)$

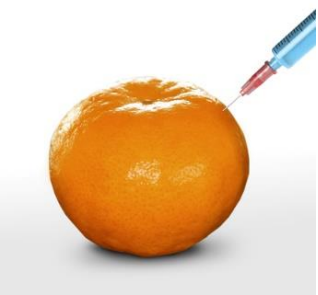
Aplicando logaritmos neperianos a los modelos anteriores fueron obtenidos; el modelo exponencial generalizado (MEG) o modelo de Henderson and Pabis:

$$\ln \mathrm{VEPA} = \ln \mathrm{A} - \mathrm{B} \times \mathrm{t} \quad ; \quad \ln \mathrm{VEPT} = \ln \mathrm{A} - \mathrm{B} \times \mathrm{t} \quad (3)$$

y el modelo de Ley de Potencia (MLP) o modelo de Page:

$$\ln \mathrm{VEPA} = \ln \mathrm{A} - \mathrm{B} \times \ln \mathrm{t} \quad ; \quad \ln \mathrm{VEPT} = \ln \mathrm{A} - \mathrm{B} \times \ln \mathrm{t} \quad (4)$$

Para todos los modelos propuestos se evaluó la bondad de ajuste de los datos experimentales mediante el coeficiente de regresión (R2) y la raíz cuadrada del error cuadrático medio (ECM).



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinaciones de DPPH* residual

El DPPH* es un reactivo analítico, en rigor un radical libre capaz de reaccionar con los polifenoles, los flavonoides, con los radicales libres presentes y los productos de Maillard eventualmente formados durante el secado.

La evaluación de la variación de los PA, realizada a través de las mediciones del DPPH* res., se representan en la **Fig. 1**, para las temperaturas de extracción de 25 y 50ºC, observando que al principio de la operación prácticamente no existen grandes diferencias de los valores hasta los 30 minutos, a partir del cual, las diferencias de los mismos se hacen mayores hasta los 100 min, donde se mantienen prácticamente constantes en valores cercanos a 65 y 52% respectivamente.

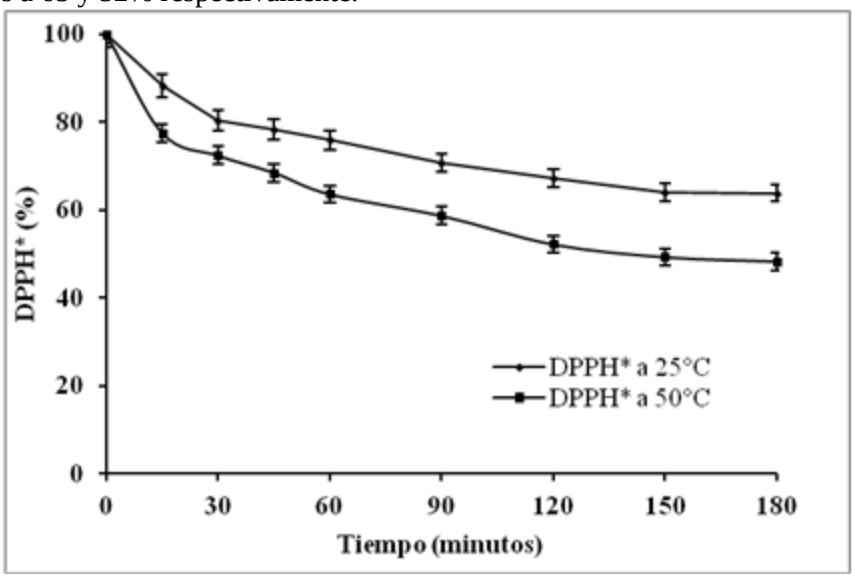


Fig. 1. DPPH* vs Tiempo.

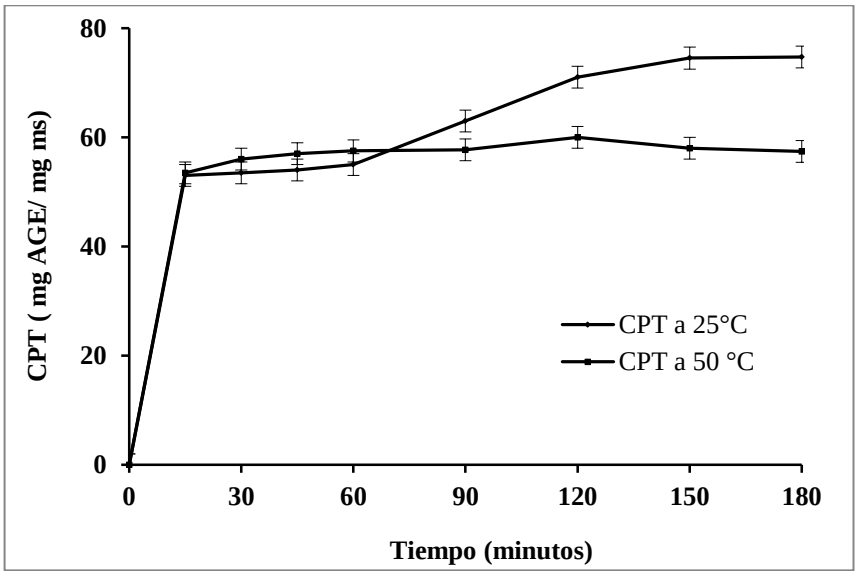


Fig. 2. CPT vs Tiempo.

Determinaciones de CPT

En la **Fig.2** el CPT, para 25 y 50ºC, prácticamente no existen grandes diferencias hasta los 70 min, a partir del cual las mismas se hacen mayores, manteniéndose constantes a partir de 100 y 40 minutos alcanzando valores cercanos al 75 y 55 mg de AGE/g de ms, respectivamente.

Evaluaciones de la velocidad de extracción de los PA (VEPA) y de los PT (VEPT)

En la **Fig. 3**, se presentan las VEPA que a través del DPPH* res/min, permite evaluar los polifenoles y flavonoides presentes y la VEPT, la cual de modo específico valora la velocidad del CPT extraídos en cada tiempo.

Con respecto a las VEPA a 25 y 50 ºC no existen grandes diferencias en los entornos iniciales y finales del procesamiento. En dicho intervalo, los valores extremos resultan 0,459-0,1058; 0,4162-0,0108 % DPPH* res /min., en tanto las VEPT a dichas temperaturas no presentaron diferencias en los alrededores de 40 y 120 min; manteniéndose prácticamente constantes a partir de dicho tiempo; los valores extremos resultaron: 1,22-0,0194; 1,49-0,0132 mg de AGE/g de ms x min.

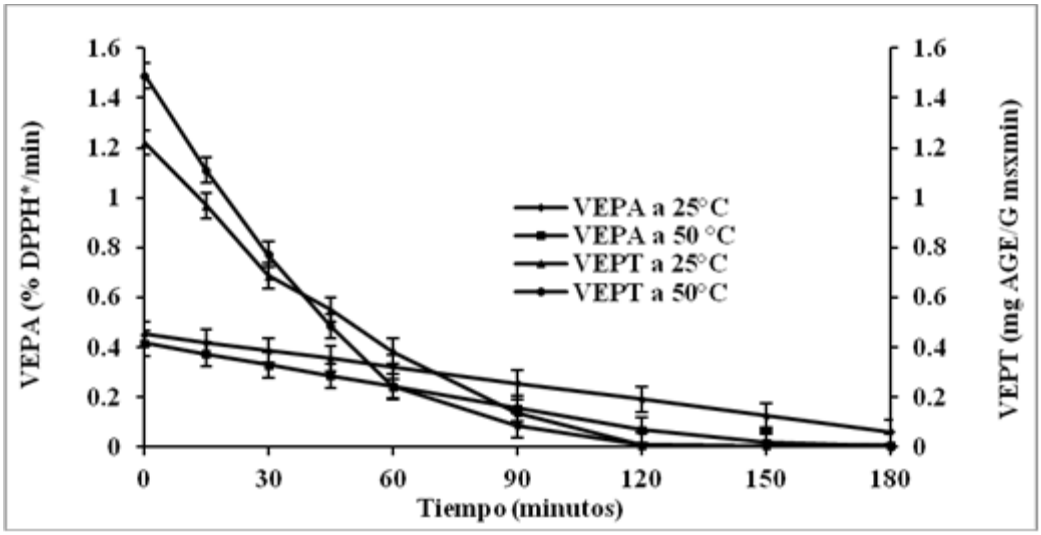
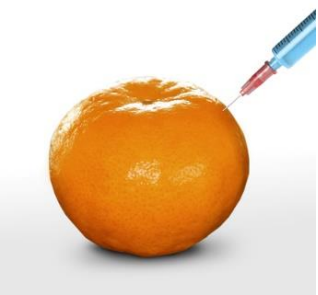


Fig. 3. VEPA y VEPT vs Tiempo.

En la **Tabla 2**; se observó que durante la extracción de los PA a 25 y 50ºC, los valores obtenidos experimentalmente no difieren en gran medida, con los del MEG, en las cercanías de 20 y 120 min. No obstante en dicho intervalo, los resultados experimentales resultan con mayores diferencias respecto al MLP. Pero a partir de 120 minutos las VEPA se mantienen prácticamente constantes y cercanos a 0.12 y 0.05 % DPPH*res /min., a 25 y 50ºC respectivamente.

Tabla 2. VEPA a 25 y 50°C

Tiempo (min)	VEPA 25ºC, Exp	VEPA 25ºC, MEG	VEPA 25ºC, MLP	VEPA 50ºC, Exp.	VEPA 50ºC, MEG	VEPA 50ºC, MLP
0	0,4529	0,5386	0,69	0,4162	0,606	0,3913
15	0,4202	0,4614	0,42	0,3727	0,44	0,2735
30	0,3875	0,3935	0,307	0,3292	0,33	0,2021
45	0,3548	0,3389	0,255	0,2857	0,244	0,1405



60	0,3221	0,2965	0,224	0,2422	0,1812	0,1097
90	0,2567	0,2133	0,1871	0,1552	0,0995	0,076
120	0,1913	0,1564	0,1639	0,1058	0,0546	0,0593
150	0,1259	0,11506	0,1476	0,1188	0,06	0,0484
180	0,1058	0,114	0,1366	0,1080	0,0675	0,0563

De esta manera los resultados experimentales extremos comparados con los métodos de MEG y MLP a 25 y 50ºC para las VEPA resultaron: 0,4529-0,1058; 0,5388-0,114; 0,69-0,1366 y 0,4162-0,1080; 0,606-0,0675-; 0,3913-0,0563 % DPPH*res. /min respectivamente

Con referencia a la **Tabla 3**, debe destacarse que a 25ºC los resultados experimentales y los del MEG presentan mayores diferencias en el intervalo mencionado que a 50ºC.

Además para las dos temperaturas de extracción empleadas; a partir de 120 minutos, los valores experimentales, no presentan grandes diferencias y se mantienen prácticamente constantes en valores cercanos a 0,02 mg AGE/g de ms x min.

En otro orden los resultados comparados entre el inicio y el fin del proceso para las VEPT a 25 y 50ºC, resultaron: 1,22-0,0194; 1,28-0,0180; 1,98-0,016 y 1,49-0,0132; 1,871-0,01552; 1,73-0,0168 mg de AGE/g de ms x min, respectivamente.

Tabla 3. VEPT a 25 y 50°C.

Tiempo (min)	VEPT 25° C, Exp	VEPT 25°C, MEG	VEPT 25 °C, MLP	VEPT 50°C, Exp	VEPT 50°C, MEG	VEPT 50°C, MLP
0	1,22	1,28	1,98	1,49	1,871	1,73
15	0,968	0,843	0,631	1,11	0,92	1
30	0,687	0,553	0,226	0,773	0,62	0,25
45	0,55	0,2822	0,12	0,485	0,356	0,107
60	0,3845	0,2378	0,081	0,245	0,21	0,062
90	0,139	0,1023	0,0445	0,087	0,068	0,028
120	0,009	0,044	0,029	0,008	0,023	0,016
150	0,0062	0,018	0,021	0,005	0,0076	0,00985
180	0,0094	0,00863	0,016	0,0032	0,00252	0,00686

(**Tabla 4**) De acuerdo a los resultados obtenidos bajo las condiciones establecidas, no es necesario continuar la extracción más allá de los 120 minutos.

Tabla 4. Error cuadrático medio (ECM) para VEPA y VEPT.

Temp ºC.	VEPA MEG	VEPA MLP	VEPT MEG	VEPT MLP
25	0,545	0,102	0,1182	0,343
50	0,0787	0,091	0.1493	0,2286

CONCLUSIONES

Los valores DPPH* res., a 25ºC, superaron a los de 50ºC, y se mantuvieron prácticamente constantes a partir de 140 minutos; en tanto el CPT a 25ºC supero al de la extracción a 50ºC, los que se mantuvieron sin variaciones a partir de 40 y 100 min, respectivamente. Conforme a estos resultados, se relaciona que los flavonoides se continuaron extrayendo, más allá de 120 min, señalando a priori una mayor capacidad antioxidante en la extracción a 50°C.

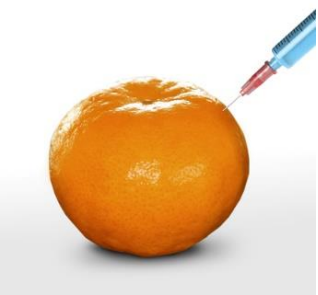
Así las VEPA a 25 y 50°C al cabo de 180 minutos resultaron prácticamente similares con valores cercanos a 0,10% de DPPH* residual /min. A su vez las mismas, resultaron inferiores a 50ºC, coincidiendo con un mayor tiempo de extracción de todos los principios activos estudiados, señalando que el aumento de la temperatura no favoreció la extracción de los compuestos bioactivos. En cambio las VEPT se mantuvieron significativamente sin diferencias para 25 y 50ºC, si bien la extracción de los polifenoles totales (PT) se concretó hasta 100 y 40 minutos respectivamente. Por otra parte las VEPT, se mantuvieron a partir de los 120 minutos en valores cercanos a 0,020 (mg AGE/g de ms)/min a las dos temperaturas. Con respecto a los valores experimentales de VEPA y VEPT comparados con los teóricos obtenidos aplicando los modelos de Método Exponencial Generalizado y Ley de Potencia, el primero es el que presento menor error cuadrático medio, salvo a 25°C, en que resulto inferior por el método de Ley de Potencia.

BIBLIOGRAFÍA

Aerts RJ, Barry TN, McNabb, WC. 1999. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. Agriculture, Ecosystem and Environment, 75: 1-12.

Chavan UD, Shahidi F, Naczk, M. 2001. Extraction of condensed tannins from beach pea (Lathyrus maritimus L.) as affected by different solvents. Food Chemistry, 75, 509-512.

Da Silva Campelo Borges G, Gracieli Kunradi Vieira F, Copetti C, Valdemiro Gonzaga L, Fett R. 2011. Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of Euterpe edulis using the



response surface methodology. Food Research International, 44, 708-715.
Figueira GM, Park KJ, Brod FPR, Honorio SL. 2003. Evaluation of desorption isotherms, drying rates and inulin concentration of chicory roots (Chicorium intybus L.) with and without enzymatic activation. Journal of food Engineering. In press.
Ferioli F, D'Antuono LF. 2012. An update procedure for an effective and simultaneous extraction of sesquiterpene lactones and phenolics from chicory. Food Chemistry, 135, 242-250.
Franck A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition, 87: S287-S291.
Georgé S, Brat P, Alter P, Amiot M. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C implant-derived products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53:1370-1373.
Martin JS, Martin M. 1982. Tannin assays in ecological studies: lack of correlation between phenolics, proanthocyanidins and protein precipitating constituents in mature foliage of six oak species. Oecologia, 54: 205-211.
Papetti A, Daglia M, Gazzani G. 2002. Anti- and pro-oxidant activity of water soluble compounds in Chicorium intybus var. Silvestre (Trevisco red chicory). Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 30: 939-945.
Park KJ, De Oliveira R A, Brod FPRR. 2007. IChemE, Part C, Food and Bioproducts Processing, 85(C3):184-192
Quemener B, Thibault JF, Coussement P. 1994. Determination of Inulin and oligofructose in Food Products and integration in the AOAC Method for Measurement of total Dietary Fibre. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 27,125-132.
Ramírez Romero G, Moran Bañuelos SH, Rico Molinas D. 2013. Contenido de polifenoles y concentración antioxidantes de extractos de maíz nativo pigmentado (Zea mayz L.) cultivado en el distrito Federal de México. Revista Latinoamericana de Química
Rockenbach II, Da Silva G L, Rodrigues E, Kuskosk, EM, Fett, R. 2008. Solvent influence on total polyphenol content, anthocyanins, and antioxidant activity of grape (Vitis vinifera) bagasse extracts from Tannat e Ancelota. Ciencia e Tecnología de Alimentos (págs. 238-244). Campinas: Universidad Federal de Santa Catarina.
Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural Food Chemistry, 40, 945-948
Vendrell-Pascuas S, Castellote-Bargalló AI, López Sabater MC. 2000.Determination of inulin in meat products by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. Journal of Chromatography A, 881:591-597.
Zhang M, De Baerdemaeker J, Schrevens E. 2003. Effects of different varieties and shelf storage conditions of chicory on deteriorative colour changes using digital image processing and analysis. Food Research International, 36: 669-676.

Evaluación de la extracción de compuestos antioxidantes en orujos tintos (variedad malbec) deshidratados en diferentes mezclas extractoras

Masciarelli R., Lucero H., Luisetti J., Ledesma J., Fernández M., Portillo S.

Centro de Investigaciones y Desarrollo de Tecnología en Alimentos (CIDTA). Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional Rosario. Rosario, Argentina
hectorlucerouranga@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue investigar la influencia de distintas mezclas hidroetánolicas en la extracción de los principios activos presentes en las harinas de orujos tintos con y sin agregado de ácido cítrico al 0,03%. Se evaluaron las capacidades de extracción de las distintas mezclas a través de las determinaciones analíticas del contenido de antocianinas totales (AT) y % de DPPH* residual (DPPH* res). Las harinas de orujos tintos en una relación sólido/líquido (S/L) de 1/40 fueron sometidas a las siguientes mezclas extractoras: etanol (100:0), etanol-agua, en proporciones de 70:30 y 50:50, sin y con el agregado de ácido cítrico al 0,03% (p/v). Los valores de AT obtenidos con las mezclas 70:30% y 50:50%, mediante el agregado de ácido cítrico, superaron en 4,5 a 5 veces a las realizadas sin dicho agregado, a su vez para ésas mezclas los valores de DPPH* res., resultaron un 15% inferiores a aquellos obtenidos sin dicho ácido. En general la incorporación de ácido cítrico en los porcentajes utilizados sobre las mezclas hidroalcoholicas, no produjo diferencias significativas a través de los parámetros analizados. Además no conviene prolongar la extracción más de 60 minutos, ya que los principios activos fueron totalmente extraídos anteriormente.

Palabras clave: antocianinas totales, DPPH* residual, orujos tintos

ABSTRACT

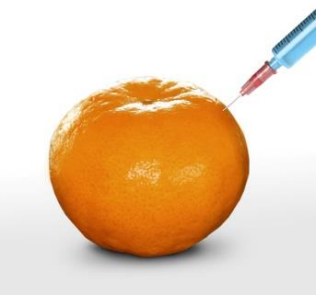
The aim of this study was to investigate the influence of different water-alcohol mixtures in the extraction of active ingredients in red pomace flours with and without addition of citric acid 0.03%.We evaluate the capabilities of the different mixtures extraction through analytical determinations of total anthocyanins (AT) and% residual DPPH * (DPPH * res).Flours red pomace in a S / L ratio 1/40 was subjected to the following extraction mixtures: ethanol (100: 0), ethanol-water, in proportions of % 70:30 and % 50:50, without and with added citric acid 0.03% (w / v). AT values obtained with 70:30 and 50:50 mixtures by adding citric acid, they exceeded in 4.5 to 5 times the said aggregate made without turn for those mixtures DPPH*res., values, were 15% lower than those without such acid obtained. In general the addition of citric acid in the percentages used for water-alcohol mixtures produced no significant difference through the parameters analyzed. Besides extraction should be extended no more than 60 minutes as the active ingredients were completely removed earlier.

Keywords: anthocyanins, DPPH * residual, red pomace.

INTRODUCCIÓN

El proceso de fabricación de vino genera una cantidad estimada de residuo solido del 20% del peso inicial, Gómez-Plaza et al. (2006).

Algunos estudios con respecto a los subproductos de vinificación se focalizan principalmente en el contenido de polifenoles y de las semillas muy ricas en flavonoides (Guendez et al. 2005). Las semillas representan el 15% del residuo solido producido y contienen alrededor del 15,5% de aceite, dependiendo de la variedad de uva (Luque Rodríguez et al. 2005). Otros estudios se orientan hacia el potencial del bagazo en su totalidad o las semillas y cascaras (Kammerer et al. 2005, Pinelo et al. 2005).



La recuperación de compuestos antioxidantes de los desperdicios de la industria del vino, podría constituir un avance significativo en el mantenimiento del equilibrio ambiental, ya que para las industrias del vino, los residuos o bagazos generan problemas de almacenamiento. La transformación de esos subproductos con incidencia ecológica en económicos, constituyen un interés creciente para investigarlos. (Alonso et al.2002)

Los orujos de las uvas se componen de hollejos, pepitas y racimos prensados, los cuales pueden representar hasta el 20% del peso de las uvas destinadas a la producción de vino, y constituyen una fuente natural de compuestos polifenólicos. El hollejo y las pepitas son zonas de concentración máxima en estos compuestos. Las antocianinas y los flavonoles se localizan en las vacuolas de las células del hollejo y en la pulpa para diferentes variedades tintóreas. Existe un gradiente positivo de concentración desde el exterior hacia el interior, las células más próximas a la pulpa son más ricas en antocianinas (Martínez de Toda Fernández, 2002).

Es interesante destacar que el estudio sobre orujos tintos es importante por dos razones. La primera se debe a su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, las cuales pueden influenciar en su comportamiento tecnológico durante el procesamiento de los mismos, y la segunda, por su importancia en la salud humana a través de diferentes vías (De Pascual-Teresa y Sánchez-Ballesta 2008).

Numerosos estudios han demostrado que los compuestos fenólicos presentes en las uvas y productos derivados de las mismas, poseen propiedades anticancerígenas, anti-inflamatorias, antihepatotóxicas, antibacterianas, antivíricas, antialérgicas, antitromboticas y antioxidantes (Macheix et al. 1991).

Además el extracto seco de uva contiene procianidinas polifenólicas con actividad antioxidante, comparadas con las vitamina C y E., por sí solas o en conjunto, han demostrado ser más eficientes como capturadoras de radicales libres tanto in vitro como in vivo. (Bustamante et al. (2001)).

Diversos métodos y sistemas de solventes han sido investigados para la extracción de polifenoles de materias vegetales (Chavan et al. 2001) e influyen en el rendimiento de la extracción: el tipo de solvente, su polaridad, ya que puede afectar la trasferencia de electrones y de átomos de hidrogeno lo que es un aspecto clave en la medida de la capacidad antioxidante. (Pérez Jiménez y Saura Calixto 2006).

Además en dicha extracción el método aplicado influyen en la composición del extracto (Sun-Ho 2005).

En relación a la extracción de antocianinas, el método usual o convencional es la extracción sólido-líquido, mediante agitación. El carácter polar de la molécula de antocianina permite su solubilidad en variados solventes, tales como alcoholes, acetona y agua (Pereira-Kechinski et al. 2010, Garzón 2008).

Por otro lado, el método de extracción asistido por ultrasonido presenta propiedades beneficiosas, tales como facilidad de operación, bajo costo y reducido impacto ambiental (Tao et al. 2013), lo cual amerita su consideración.

De acuerdo a las investigaciones realizadas por Bonfigli et al. (2015), concluyeron, que el método convencional es más eficiente. Esto puede ser consecuencia de la agitación en el interior de la mezcla, que provoca que el solvente penetre en la matriz alimenticia en un intervalo de tiempo menor, generando una mayor velocidad de extracción con respecto al método asistido por ultrasonido.

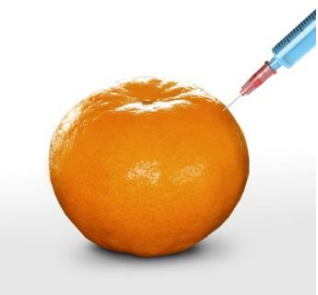
Arranz Martínez (2010) a los fines analíticos para incrementar los rendimientos de las extracciones de polifenoles y antocianinas aplicados sobre alimentos de la dieta española, concluye que las extracciones metanólicas con ácidos inorgánicos aumenta notoriamente la capacidad extractiva.

Rockenbach et al. (2008), realiza la extracción sobre orujos previamente secos y molidos y desengrasados empleando soluciones acuosas de etanol agua al 30-50 y 70 y 100% v/v (etanol: agua)

Los polifenoles, carotenoides y fitoesteroles son compuestos minoritarios denominados compuestos bioactivos por su elevada actividad biológica; numerosos estudios han demostrado que estos componentes se encuentran asociados a fibras dietéticas (Saura Calixto 1998).

Por otra parte Saura-Calixto (1998) en su trabajo relacionado con fibra dietaría antioxidante, presenta el concepto de que los residuos del tratamiento de las uvas (orujos), se consideran como fibra dietaría antioxidante (vitis fiber), la cual un gramo de la misma tiene una capacidad de inhibición de la oxidación lipídica equivalente a 200 mg de vitamina E.

Además, los antioxidantes han sido utilizados para evitar el deterioro de alimentos. Según Belitz-Grosch (1998), la acción de los secuestradores de radicales provoca la interrupción de la propagación en cadena



formando productos relativamente estables, inhibiendo la peroxidación lipídica.
En relación a la extracción de antocianinas, el método usual o convencional es la extracción sólido-líquido. El carácter polar de la molécula de antocianina permite su solubilidad en variados solventes, tales como alcoholes, acetona y agua (Pereira-Kechinski et al. 2010, Garzón 2008).
De acuerdo a los antecedentes sobre las determinaciones analíticas para aumentar el rendimiento de las extracciones de los compuestos bioactivos, en la que se utiliza el ácido clorhídrico, se consideró oportuno reemplazarlo por el ácido cítrico dado su calidad alimenticia.
El objetivo de este trabajo fue investigar la influencia de distintas mezclas hidroetánolicas en la extracción de los principios activos presentes en las harinas de orujos tintos con y sin agregado de ácido cítrico al 0.03%.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materias primas

Los orujos tintos variedad Malbec, cosecha 2011, fueron provistos por la Cátedra de Enología II de la Universidad Nacional de Cuyo, se recibieron en envases de plástico antes de las 24 horas desde su envío, y se almacenaron en freezer a -18ºC hasta su preparación.

Reactivos químicos

Los siguientes reactivos químicos fueron provistos por Sigma comercial Co. (St. Louis, USA): catequina, 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH*), ácido clorhídrico. Todos los reactivos químicos y solventes usados son de grado reactivo analítico.

Método

Obtención de la harina de orujo

Los orujos fueron distribuidos en una bandeja de plástico con el fondo perforado, para permitir la circulación del aire, y secados durante 525 minutos en estufa con recirculación de aire a 60ºC, hasta un contenido de humedad cercano al 7%. El material seco obtenido fue molido con molino de cuchillas hasta que el material pasó por tamiz malla 40 ASTM; lográndose una harina de orujos tintos.

Preparación de extractos

El material tamizado se extrajo por agitación en vaivén. Laharina de orujos tintos en una relación S/L de 1/40 fue sometida a las siguientes mezclas extractoras: etanol (100:0), etanol-agua, en proporciones de 70:30 y 50:50, sin y con el agregado de ácido cítrico al 0,03% (p/v). La extracción hidroalcohólica presentó la ventaja de minimizar las pérdidas de los principios activos del orujo. La toma de muestras durante la extracción se realizó en intervalos definidos de tiempo en un período de 2 horas, momento en el cuál se alcanzó la concentración de equilibrio. Luego se filtró cada muestra a fin de obtener los extractos de orujo para cada instante determinado.

Determinaciones analíticas

Determinación de antocianinas totales (AT)

Se utilizó el método propuesto por Di Stefano et al. (1989) descripto por Ivanova et al. (2010).
Las muestras fueron diluidas empleando una solución de etanol:agua:HCl (69:30:1). Posteriormente se midió la absorbancia a 540 nm en espectrofotómetro Jasco Modelo 7800 UV-Vis. Se calculó la concentración de antocianinas totales en mg de malvidin-3-glucósido por L (volumen total) según la ecuación:

$$AT\left(\frac{mg}{L}\right) = A_{540nm} \times 16.7 \times d \qquad (1)$$

Donde A_{540nm} es la absorbancia a 540 nm, d es el factor de dilución de la muestra (mL/L).

Debido a que las antocianinas son compuestos lábiles y su estabilidad varía en función del pH del medio, este método se basa en el predominio de la estructura catión flavilio rojo en soluciones muy ácidas.

Determinación de DPPH* residual (DPPH * res.)

Se utilizó el método espectrofotométrico de Shimada et al. (1992) para determinar DPPH* res. con algunas modificaciones. A 1 mL de la solución de los extractos de las harinas de orujos tintos deshidratadas se le

agregaron 5 mL de una solución metanólica 0.1 mM de DPPH* recientemente preparada, se mezcló y se dejó en la oscuridad durante 50 minutos. Luego, se midió la absorbancia a 517 nm mediante un espectrofotómetro Jasco Modelo 7800 UV-Vis (Japan Spectroscopic Co., Tokio, Japón). El estándar catequina se utilizó como comparación. El % DPPH* res., se calculó según:

$$\% \text{ DPPH}^* = 1 - \frac{\text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia blanco de reactivo}} \times 100 \quad (2)$$

Mientras que el DPPH* residual se calcula de la siguiente manera:

$$\% \text{ DPPH}^* \text{ residual} = 100 - \% \text{ DPPH}^* \quad (3)$$

El DPPH* es un reactivo analítico, en rigor un radical libre capaz de reaccionar con los polifenoles y con los radicales libres presentes. Debiéndose destacar que químicamente los polifenoles admiten estructuras químicas de resonancia con números impares de electrones no apareados, convirtiéndolos en capaces de reaccionar con el reactivo DPPH*. El test para el efecto capturador de radicales libres (DPPH*) es un método para determinar la capacidad donadora de átomos de hidrogeno de los compuestos naturales. Está basado principalmente en la capacidad que tiene el radical libre estable (DPPH*), de color violeta, de reaccionar con los átomos de hidrogeno cedidos por los compuestos en estudio, transformándose en un compuesto de menor intensidad de absorbancia a la longitud de onda especificada.
Para la determinación analítica de este parámetro; debido a la elevada capacidad antioxidante de los extractos de orujos tintos y para disponer de rangos de lectura con menores porcentuales de errores establecido para el espectrofotómetro utilizado; se debió diluir las soluciones de extracto a la 1/25 parte.

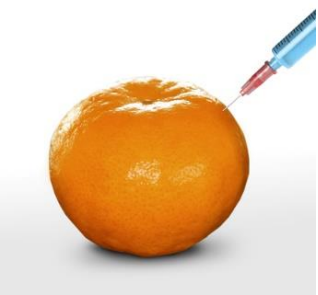
Análisis estadístico

Los datos fueron procesados mediante el software Excel y, para establecer las diferencias significativas de los parámetros en estudio, se empleó análisis ANOVA. El nivel de significación se estableció para un valor $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de AT

En la **fig. 1**, los valores de AT con agregado de ácido cítrico, con las mezclas hidroetanólicas al 50:50% y 70:30% resultaron significativamente diferentes entre 15 y 60 minutos, manteniéndose luego sin diferencias significativas hasta el final del procesamiento. Dichas mezclas resultaron significativamente diferentes respecto al etanol puro. Salvo en los primeros 15 minutos de la extracción donde prácticamente en todos los casos, no se observan diferencias significativas entre sí. Al cabo de 120 minutos, los valores obtenidos resultaron cercanos a 330-300 y 225 mg de malvidin 3-glucosido/L, para las mezclas 50:50; 70:30 y 100:0 respectivamente.



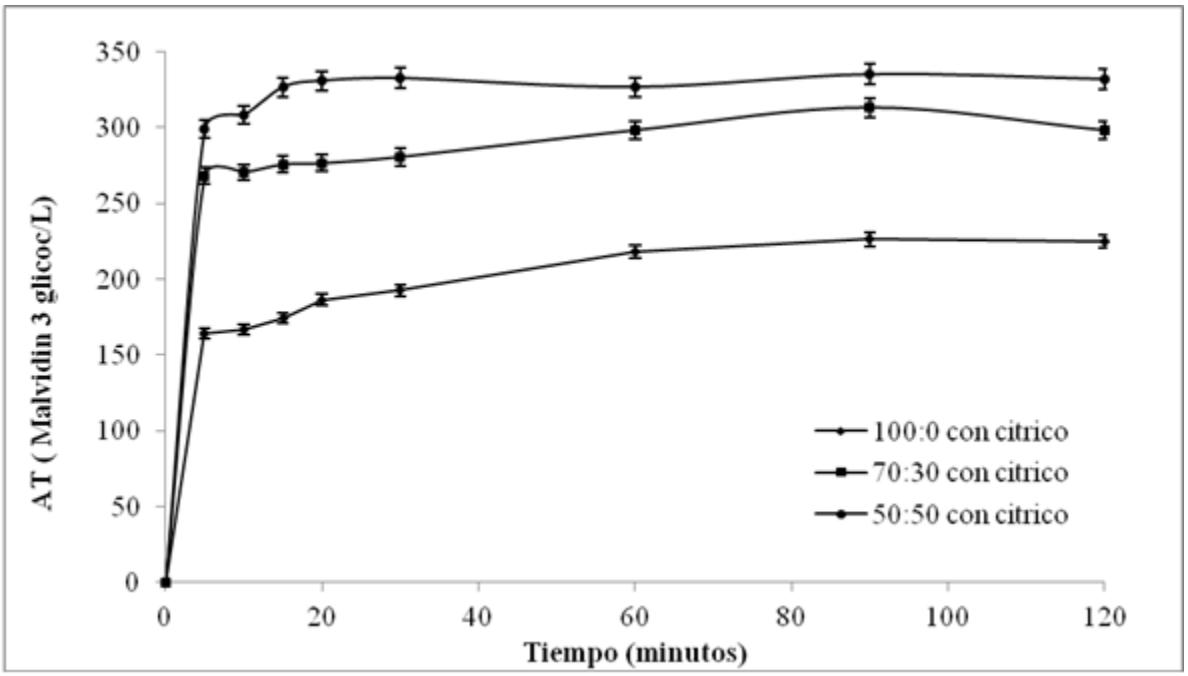


Fig. 1. AT vs Tiempo con agregado de Ac. Cítrico.

En la **fig. 2**, no se observan diferencias significativas entre los valores de las mezclas 50:50% y 70:30% durante todo el intervalo operativo, manteniéndose prácticamente cercanos a 285 mg de malvidin 3-glucosido/L a partir de los 60 min. Ambas mantienen diferencias muy significativas respecto de la muestra de etanol puro, la cual a partir de dicho tiempo, alcanza valores cercanos al 64 mg de malvidin 3-glucosido/L.

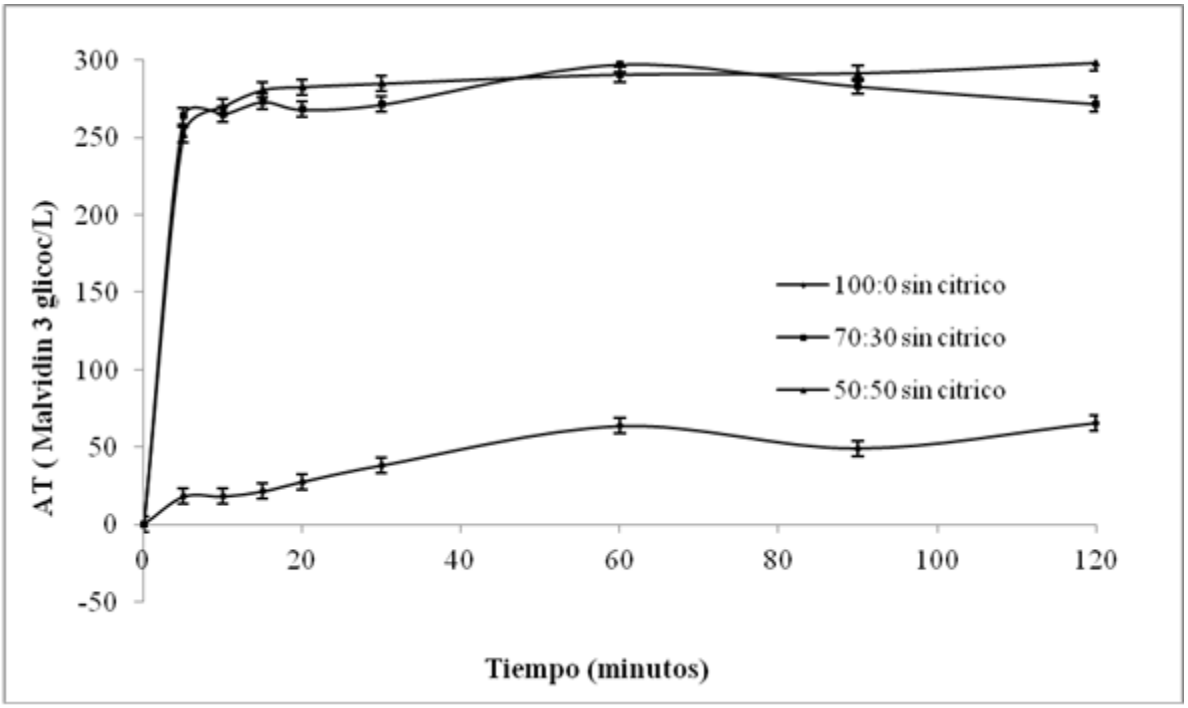


Fig. 2. AT vs Tiempo sin Ac. Cítrico.

Determinación de DPPH *

En la **fig. 3**, con agregado de ácido cítrico, observamos que los valores de DPPH* presentan diferencias significativas entre la extracción con etanol puro y las que se realizaron con mezclas hidroetanólicas al 70% y 50% de etanol, las cuales no presentan diferencias significativas entre sí. A partir de los 60 minutos, los valores resultaron de 80,6% para la extracción etanólica y cercanos al 45% para las otras mezclas.

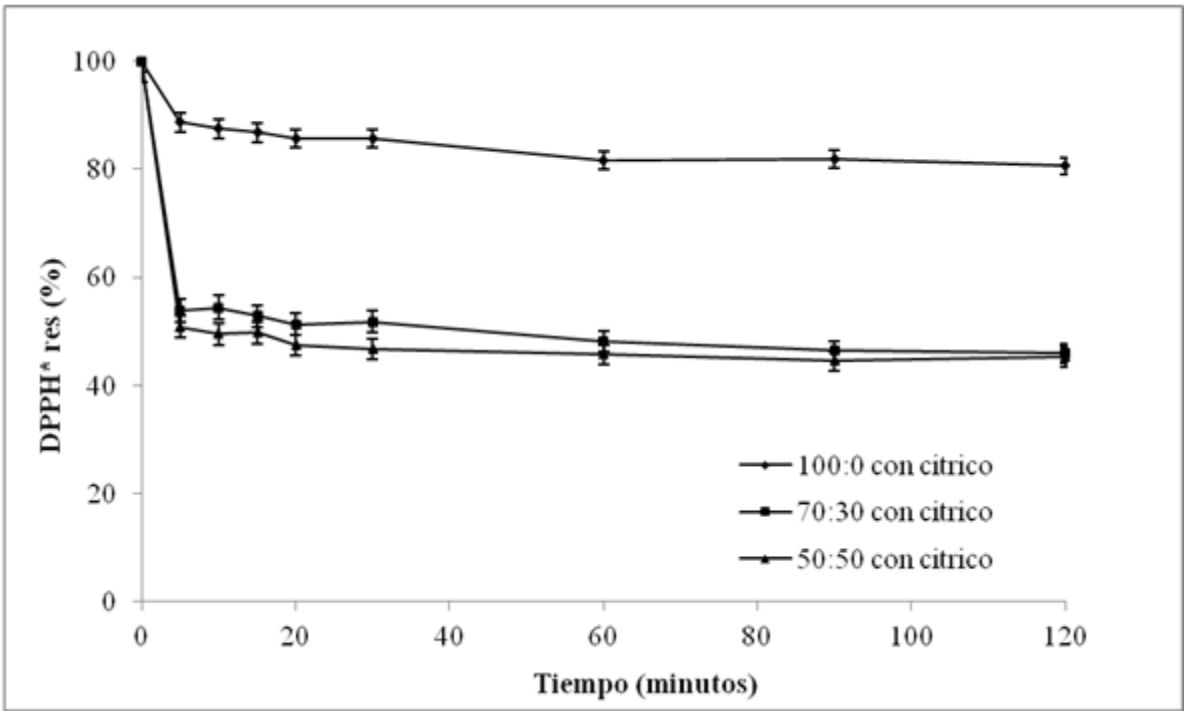


Fig. 3. DPPH* vs tiempo con ácido cítrico.

En la **fig. 4** se observa que la diferencia entre los valores de DPPH*res., para las extracciones sin cítrico con etanol puro y las demás mezclas es mayor respecto de la diferencia que se presenta en el caso de las curvas obtenidas con el agregado de cítrico. Se obtuvieron valores cercanos al 92% y al 43%, al cabo de 60 minutos, tanto para el etanol puro como el de las mezclas empleadas. Para las mezclas de 70 y 50% de etanol, los valores de DPPH* res., no presentan diferencias significativas entre sí.

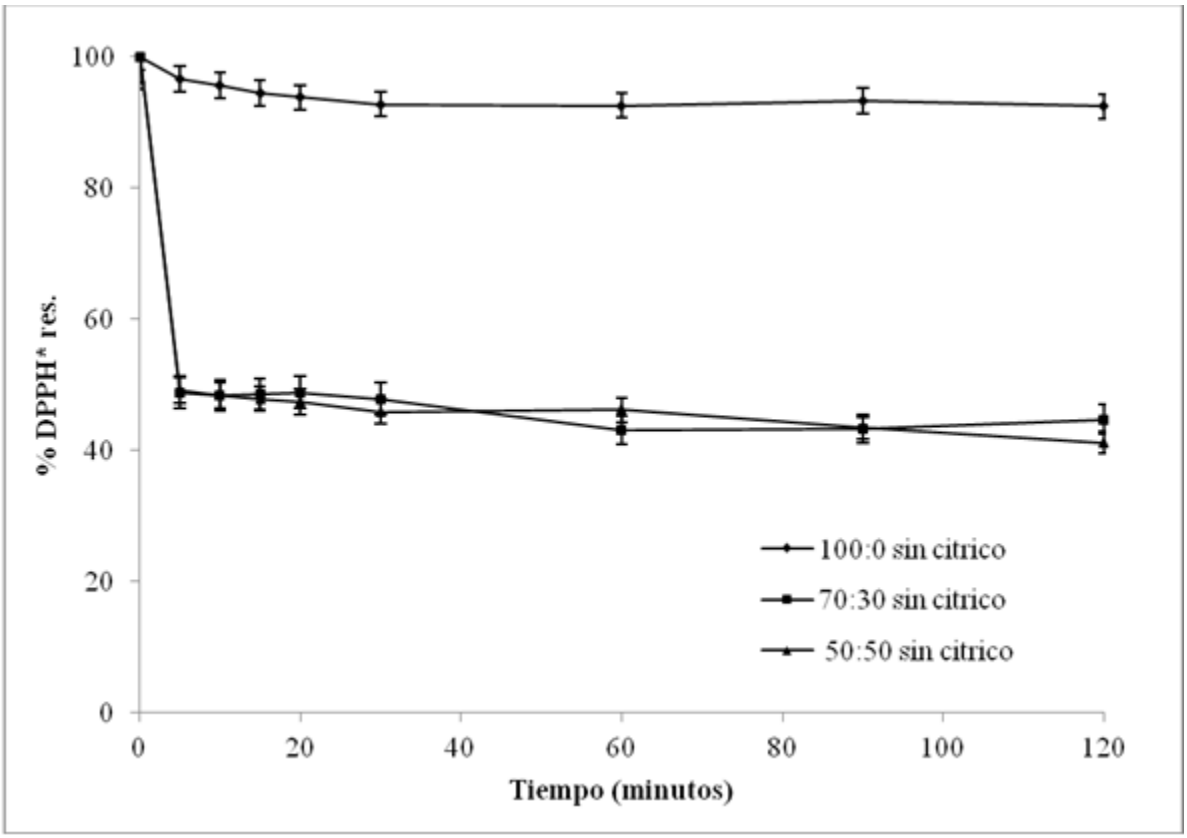


Fig. 4. DPPH vs Tiempo sin ácido cítrico.

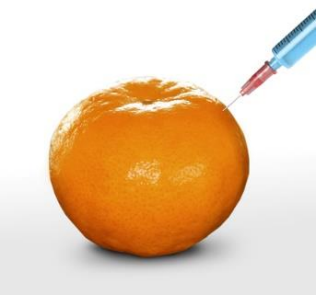
CONCLUSIONES

Por los resultados de AT y DPPH* res, en todos los casos, los principios activos extraídos, se mantuvieron prácticamente constantes a partir de los 60 minutos, existiendo diferencias significativas ($p<0,05$) referido a la incorporación y el no agregado de ácido cítrico, respectivamente. El efecto del agregado de ácido cítrico se manifestó sensiblemente para la mezcla (100:0) en la cual, el agregado de este acido extrajo 4,5 veces más de AT respecto a la misma mezcla sin dicho acido. En tanto en las mezclas 70:30 y 50:50 dicha relación resulto prácticamente sin diferencias con valores de 1,09 y 1,1; respectivamente. De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que las mezclas extractoras 70:30 y 50:50 con el agregado de ácido cítrico extraen mayor proporción de antocianinas que la mezcla 100:0 en idénticas condiciones. A su vez la misma, con ácido cítrico produjo valores de DPPH* residual un 15 % inferior, respecto sin dicho agregado. Además los valores DPPH*residual que se obtuvieron para las mezclas hidroalcohólicas (70:30) y (50:50) oscilaron entre 41-45 %; prácticamente sin diferencias significativas ($p<0,05$), pero si con respecto a la mezcla 100:0, con y sin dicho ácido respectivamente. En general la incorporación de ácido cítrico en los porcentajes utilizados sobre las mezclas hidroalcoholicas y la mezcla (100:0), produjo diferencias significativas a través de los parámetros analizados. Además no conviene prolongar la extracción más de 60 minutos, ya que los principios activos fueron totalmente extraídos anteriormente. La harina y/o extractos pueden aplicarse sobre matrices alimenticias para incrementar su capacidad antioxidante.

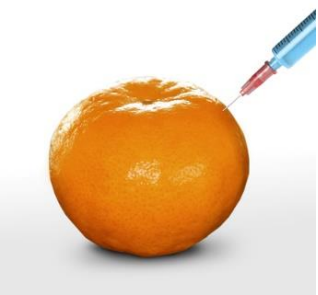
BIBLIOGRAFÍA

Alonso AM, Guillén DA, Barroso CG, Puertas B, García A. 2002. Determination of antioxidant activity of wine by products and its correlation with polyphenolic content. Journal of Agricultural and Food Chemistry,

50, n 21: 5832-5836.
Arranz Martínez S. 2010. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. Trabajo de investigación que presenta Sara Arranz Martínez para optar al Grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid (UCM).
Belitz H, Grosch W. 1998. Química de los alimentos, 2ª ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España. Agriculture and Food Science Centre, 21: 1461-1469.
Bonfigli M, Chiandoni F, Giagnacovo M, Kraft R. 2015. Performance de métodos de extracción por ultrasonido y convencional para la determinación de compuestos activos en orujos tintos. En: Jornadas Jóvenes Investigadores Tecnológicos, JIT 2015. UTN. FRVT.
Bustamante SE, Muñoz J, Gallardo R, Figueroa H, Morales MA. 2001. El extracto de Vitis vinifera revierte la disfunción vascular aórtica inducida por diabetes en ratas. Actas del tercer congreso internacional de fitoterapia y técnicas afines. Ciudad de Oviedo, España. 22-24 de Noviembre 2002. http://farmafitolab.med.uchile/fitofarmacologia/papers/oviedo.pdf
De Pascual-Teresa S, Sánchez-Ballesta M. 2008. Anthocyanins: from plant to health. Phytochemical Review, 7: 281-299.
Di Stefano R, Cravero MC, Gentilini N. 1989. Metodi per lo studio deipolifenolideivini.L'Enotecnico, 83-89.
Garzón G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta Biológica Colombiana, 13: 3.
Guendeza R, Kallithrakab S, Makrisa DP, Kefalas P. 2005. Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (Vitis viniferous sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity, Food Chemistry, 89: 1–9.
Ivanova V, Stefova M, Chinnici F. 2010. Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. Journal of the Serbian Chemical Society, 75, 45-59.
Kammerer D, Claus A, Scieber A, Carle R. 2005. A novel process for the recovery of polyphenols from grape (Vitis vinifera L.) pomace. Journal of Food Science, 70, n. 2: 157-163.
Luque-Rodríguez JM, Luque de Castro MD, Pérez-Juan P. 2005. Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. Talanta, 68, n 1: 126-130.
Macheix J, Sapis J, Fleuriet A. 1991. Phenolic compounds and polyphenol oxidase in relation to browning in grapes and wines. Critical Review Food Science Nutrition, 30: 441–486.
Martínez de Toda Fernández, Fernando. 2002. Viticultura de calidad: factores que afectan al contenido de compuestos fenólicos. ACE, Revista de Enología, 21.
Pereira Kechinski C, Ramos Guimaraes P, Zapata Noreña C, Tessaro I, Ferreira Marczak L. 2010. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. Food Science, 75: 173-176.
Pérez Jiménez J, Saura Calixto F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. Food Research International, 39, n. 7: 791-800.
Pinelo M, Rubilar M, Jerez M, Sineiro J, Núñez MJ. 2005. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. Journal of the Agricultural and Food Chemistry, 53, n. 6: 2111-2117.
Rockenbach I, Lessa da Silva G, Rodrigues E, Kuskoski EM, Fett R. 2008. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (Vitis vinifera) variedades Tannat e Ancelota. Ciência y Tecnología Alimentaria, Campinas, 28: 238-244
Sauta-Calixto F. 1998, Antioxidant dietary fiber product: A new concept and a potencial food ingredient, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 46: 4303-4306.
Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural Food Chemistry, 40: 945-948
Sun T, Ho C. 2005. Antioxidant activities of buckwheat extracts. Food Chemistry, 90, n. 4: 743-749.
Tao Y, Zhang Z, Sun D. 2014.Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature. Ultrasonics Sonochemistry, 21: 1461-1469.



AGRADECIMIENTOS
Al Ingeniero Juan Carlos Formento profesor de la Catedra de Enología II de la Universidad Nacional de Cuyo qué proveyó de los orujo tintos para el trabajo.



Efecto del tratamiento térmico sobre la cinética de inactivación de enzimas lipasa y lipoxigenasa del germen de trigo

Meriles, S. P.[1], Penci, M. C.[1], Gili, R. D.[1], Martínez, M. L.[2], Ribotta P. D.[1]

[1] Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICYTAC, CONICET – UNC), ISIDSA. Av. Juan Filloy S/N, Córdoba, Argentina.
[2] Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV – CONICET), Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA – FCEFyN – UNC).
silvinameriles@agro.unc.edu.ar

RESUMEN

El aprovechamiento del germen de trigo en formulación de alimentos se ve limitado por la rápida degradación de su aceite debido principalmente a la acción de dos enzimas endógenas: lipasa (LI) y lipoxigenasa (LOX). Los objetivos de este trabajo fueron determinar los parámetros cinéticos de inactivación enzimática de LI y LOX presentes en el germen y la cinética de pérdida de humedad durante el tratamiento térmico convectivo a diferentes temperaturas (150°C, 180°C y 200°C). La inactivación enzimática presentó una cinética de primer orden. Las constantes cinéticas de degradación térmica para LOX fueron 0,0935, 0,1435, 0,1935 min^{-1}, mientras que para LI fueron 0,1962, 0,3524 and 0,0272 min^{-1}, para 150°C, 180°C y 200°C, respectivamente. Las energías de activación asociadas a la pérdida de actividad, calculadas mediante la ecuación de Arrhenius, fueron 23,8 kJ/mol para LOX y 91,07 kJ/mol para LI. Éstos resultados indicaron que la temperatura tuvo un efecto significativo sobre la actividad enzimática, y que LOX tuvo menor estabilidad térmica que la LI. Se utilizaron 7 modelos matemáticos para ajustar los datos de secado, entre los cuales Midilli logró el mejor ajuste. La transferencia de agua del germen de trigo se describió utilizando el modelo de difusión de Fick. Los coeficientes de difusividad efectiva se incrementaron al aumentar la temperatura de secado.

Palabras clave: Germen de trigo, cinética, tratamiento térmico, lipasa, lipoxigenasa.

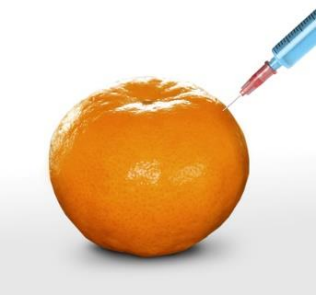
ABSTRACT

The utilization of wheat germ in food product formulation is limited by the fast oil spoilage, due to the action of two endogenous enzymes: lipase (LI) and lipoxygenase (LOX). The aim of this work were to determine the inactivation kinetic parameters of LI and LOX and moisture loss kinetic during wheat germ treatments in a convective heat treatment at different temperatures (150°C, 180°C and 200°C). The inactivation of enzymes were analyzed using first-order kinetics. The reaction rate constants for LOX were 0,0935, 0,1435, 0,1935 min^{-1} and for LI were 0,1962; 0,3524 and 0,0272 min^{-1} for 150°C, 180°C and 200°C, respectively. Activation energies for the thermal degradation of LOX (23,8 kJ/mol) and LI (91,07 kJ/mol) were calculated from Arrhenius equation. These results indicated that temperature had a significant effect on enzyme activity. In addition, LI presented high thermal stability than LOX. Seven models were assessed to fit the drying dataset, among which Midilli achieved the best fit. Moisture transfer from wheat germ was described by applying the Fick's diffusion model. Effective diffusivity coefficients increased with increasing drying temperature.

Keywords: wheat germ, kinetic parameters, thermal treatment, lipase, lipoxygenase.

INTRODUCCIÓN

El germen de trigo es el subproducto de la industria harinera. Pese a ser considerado la parte del grano nutricionalmente más valiosa, actualmente la mayor parte de su producción se destina a alimentación animal



(Ahmad et al. 2010; Zhu et al. 2006). Para considerar al germen como un producto de grado alimenticio de buena calidad y alto valor industrial, es necesario eliminar o detener la actividad de todos los componentes que causan deterioro (Malekian et al. 2000). Es importante en este sentido detener la acción de las enzimas lipasa (LI) y lipoxigenasa (LOX) presentes en el germen de trigo. Si bien existen distintas tecnologías para detener su acción y está comprobada la efectividad del tratamiento térmico, un tratamiento excesivo podría extender la vida útil del producto pero también afectar el valor nutricional, producir pardeamiento e incluso acelerar el proceso oxidativo y la producción de aromas y gustos indeseables (Håkansson y Jägerstad 1990, Xu et al. 2012). El objetivo de este trabajo fue determinar experimentalmente los parámetros cinéticos que definen la inactivación enzimática de LI y LOX presentes en el germen, así como evaluar la pérdida de agua y el desarrollo de color durante los tratamientos térmicos. La optimización de éstos procesos se espera colaboren en un mejor aprovechamiento de éste subproducto por el aumento de su vida útil.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con germen de trigo proveniente del Molino José Minetti de la Ciudad de Córdoba, Argentina, partida 2015. Se utilizó el material de tamaño mayor a 0,841mm.

Tratamiento térmico

El germen de trigo se trató en horno convectivo (Memmert modelo 600 D06062, Alemania) a tres temperaturas de aire: 150°C, 180 y 200°C. La velocidad del aire fue de 0,1m/s. El secado se continuó hasta que las muestras fueron visiblemente tostadas, por lo que para cada temperatura se tomaron diferentes tiempos de tratamiento. Para realizar los tratamientos, 250 g de material se distribuyeron uniformemente en bandejas de aluminio de 25cm de diámetro, con un espesor de lecho de 1 cm. La temperatura se monitoreó mediante una termocupla tipo K (1 mm de diámetro) ubicada en la base de la bandeja.

Determinación de actividad lipoxigenasa (LOX)

El método utilizado para la medición de la actividad de la enzima lipoxigenasa se basó en el propuesto por Xu et al. (2012) con pequeñas modificaciones. El mismo se basa en la medición del incremento en la absorbancia a 234 nm por la hidroperoxidación de ácido linoleico en un espectrofotómetro V-730 (Jasco, Tokyo, Japón) a 25°C. El extracto enzimático se preparó el día de la medición mezclando 1 g de muestra con 10mL de buffer acetato (pH 4,5, 0,1M) por 30 minutos a 4°C. Luego se centrifugó a 12.000 g por 30 min a 4°C. El sobrenadante resultante se almacenó a 5°C y se diluyó 20 veces con buffer acetato (pH 4,5, 0,1M) para la determinación de actividad enzimática. La solución sustrato se preparó en base a Na_2HPO_4 0,05M, ácido linoleico en una concentración aproximada de 2,53 mM y 0,08 %p/v de Tween 20. Ésta se almacenó en atmósfera de nitrógeno a 5°C al resguardo de la luz. El sistema de reacción se preparó al mezclar 2350 µL de buffer fosfato (pH 6,5, 0,1M), 100 µL de solución sustrato y 250 µL de extracto enzimático diluido. La velocidad inicial de reacción se calculó por regresión lineal de los datos entre los 30 s y 210 s de la curva de reacción. La determinación de proteínas en el extracto se realizó mediante el método de Bradford (1976). Se definió una unidad de actividad LOX como un incremento en absorbancia de 0,01 a 234 nm por minuto por mg de proteína en las condiciones de ensayo.

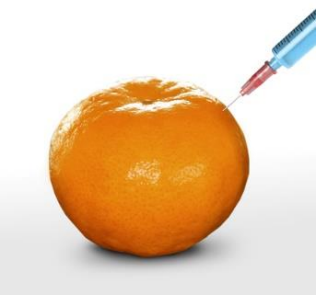
Determinación de actividad lipasa (LI)

Se utilizó un método indirecto que no requiere purificación o separación de la lipasa, sino que se estima su actividad al medir la diferencia en el porcentaje de ácidos grasos libres (FFA) tras incubación de la muestra por 48 h a 37°C. La actividad enzimática se expresó como ΔGA (% ácido oleico). La diferencia entre el grado de acidez entre la muestra antes y luego de la incubación da medida de la actividad lipolítica de la muestra.

Las velocidades de inactivación de LOX y LI de germen de trigo a diferentes temperaturas se analizaron utilizando una cinética de reacción de primer orden. Se calcularon las constantes de degradación térmica (k) mediante el gráfico del logaritmo de la actividad remanente relativa versus el tiempo de tratamiento.

Se evaluó la sensibilidad térmica de la constante de reacción mediante el cálculo de la energía de activación utilizando la ecuación de Arrhenius (Kermasha, Bisakowski, Ramaswamy, & Voort, 2007).

Determinación de color



La medición de color se realizó sobre las muestras de germen de trigo molido empleando un espectrofotómetro de superficie (Minolta 508d, EUA) con 10 mediciones en cada muestra. Los resultados se utilizaron en el cálculo del índice de pardeamiento (BI) mediante la Ec. 1 y 2 (Pathare et al. 2013).

$$BI = \frac{100\ x\ (X-0{,}31)}{0{,}17} \quad (1)$$

Donde:

$$X = \frac{(a^* + 1{,}75\ L)\ a}{(5{,}645L + a^* - 3{,}012b*} - 0{,}31 \quad (2)$$

Determinación de la cinética de pérdida de agua del germen

Para investigar las características de secado del germen de trigo es importante modelar su comportamiento durante el secado. La humedad relativa (MR) de las muestras durante el secado se calcula generalmente por la siguiente ecuación:

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e} \quad (3)$$

Donde M_t, M_0 y M_e son el contenido de humedad a cualquier tiempo de secado (kg agua/kg dm), contenido inicial de humedad (kg agua/kg dm) y contenido de humedad en el equilibrio (kg agua/kg dm), respectivamente. Los valores de M_e son relativamente pequeñas comparadas con M_t y M_0 para tiempos largos de secado (Darvishi et al. 2014) por lo que el cálculo de MR se redujo a:

$$MR = \frac{M_t}{M_0} \quad (4)$$

En éste estudio, los datos experimentales a diferentes temperaturas se ajustaron a siete modelos matemáticos mayormente utilizados para materiales orgánicos y biológicos para una geometría de capa delgada. En la Tabla 1 se muestran los modelos y los parámetros asociados (Darvishi et al. 2014).

Tabla 1. Modelos matemáticos propuestos por varios autores para las curvas de secado.

Nombre del Modelo	Modelo
Lewis	MR= exp (-k t)
Page	MR= exp (-k t^n)
Henderson and Pabis	MR= a exp (-k t)
Logarithmic	MR= a exp (-k t) + b
Wang and Singh	MR= 1 + b t + a t^2
Midilli	MR= a exp (-k t^n) + b t
Modified Page	MR= exp (-(k t)^n)

Las regresiones lineales y no lineales se realizaron utilizando el software SigmaPlot 10.0.

La habilidad de los modelos matemáticos para representar los datos experimentales se evaluó a través del coeficiente de correlación (R^2), y los parámetros estadísticos chi cuadrado reducido (χ^2) y la raíz del error cuadrático medio (RMSE) calculados de la siguiente manera (Darvishi et al., 2014):

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^{N} \frac{(MR_{pre,i} - MR_{exp,i})^2}{N-z} \quad (5)$$

$$RMSE = \left(\frac{\sum_{i=1}^{N}(MR_{pre,i} - MR_{exp,i})^2}{N}\right)^{0,5} \quad (6)$$

Donde $MR_{exp,i}$ y $MR_{pre,i}$ son la iésima humedad reducida experimental y predicho, respectivamente; N es el número de observaciones y z es el número de parámetros.
Mientras más alto es el R^2 y menores los parámetros χ^2 y RMSE, mejor es el ajuste del modelo.

Determinación de la velocidad de secado

La velocidad de secado (DR) de germen de trigo en estufa se calculó utilizando la Ec. 7 (Shi, Zheng y Zhao 2013).

$$DR = -\frac{dHbs}{dt} = -\frac{Hbs_{i+1} - Hbs_i}{t_{i+1} - t_i} \quad (7)$$

donde: Hbs es el contenido de humedad en base seca (kg agua/kg base seca); Hbs_i es el contenido de humedad a tiempo t_i (kg agua/kg base seca); Hbs_{i+1} es el contenido de humedad a tiempo t_{i+1} y t es el tiempo de secado (min).

Determinación de Coeficiente de difusividad efectiva ($Deff$)

Es aceptado que las características de secado de productos biológicos en el período de velocidades decreciente puede describirse mediante la ecuación de difusión de Fick. La solución de la ecuación de Fick para una capa infinita delgada está dada por la ecuación de Cranck, aplicable a largos períodos de secado y considerando humedad inicial uniforme. En forma logarítmica la ecuación de Crank que se escribe de la siguiente manera (Arslan y Ozcan 2011):

$$\ln MR = ln\ \frac{8}{\pi} - \frac{\pi^2\ D_{\ eff}\ t}{4\ {L_0}^2} \quad (8)$$

Donde $D_{\ eff}$ es el coeficiente de difusión a una temperatura (m^2/s) y L_0 es el medio espesor (m). Se obtuvo el coeficiente de difusión efectiva ($Deff$) para cada temperatura al graficar ln (MR) versus tiempo de tratamiento.

La dependencia del coeficiente de difusión ($Deff$) y de la constante cinética de secado (k) con la temperatura se evaluó mediante la ecuación de Arrhenius (Shi et al. 2013):

$$k = k_o \exp\ (-\frac{Ea}{RT}) \quad (9)$$

$$Deff = D_o \exp\ (-\frac{Ea}{RT}) \quad (10)$$

Donde k es la constante cinética de secado obtenida por regresiones experimentales (min^{-1}); k_o y D_o son constantes pre-exponenciales (min^{-1} y m^2/s respectivamente); Ea es la energía de activación (kJ/mol); T es la temperatura de secado (K) y R es la constante universal de los gases ($8{,}314 \times 10^{-3}$ kJ $mol^{-1}K^{-1}$). El gráfico de ln($Deff$) y ln(k) en función de la recíproca de la temperatura absoluta permite calcular a Ea.

Análisis estadístico

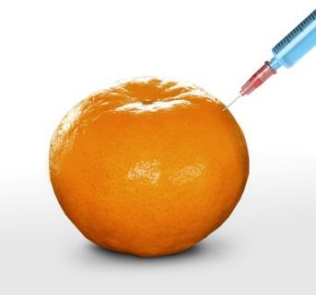
En todos los casos las determinaciones se realizaron por duplicado. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA). Se empleó el test de Fisher para establecer diferencias significativas entre tratamientos con un nivel de significancia de 0,05. El programa estadístico utilizado fue InfoStat (Di Rienzo et al., 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variación de la temperatura y el contenido de humedad durante el tratamiento térmico

En la **Figura 1** se observa la variación de contenido de humedad relativa en función del tiempo de tratamiento obtenido para diferentes temperaturas. En todos los casos la humedad decrece continuamente y la pendiente de la curva es mayor a temperaturas más altas, lo que indica que un incremento de la temperatura del aire favorece la transferencia de masa desde el germen hacia el medio.

En ningún caso se alcanzó la humedad de equilibrio, ya que en el gráfico no se observa una humedad relativa final constante. Ello se debe a que el ensayo se realizó hasta el inicio de desarrollo de color en la superficie de la muestra, sin tomar como parámetro de corte el peso o contenido de humedad de la muestra. Los tiempos y temperaturas de tratamiento son similares a los obtenidos por calentamiento infrarrojo de germen de trigo (Ibanoğlu 2002) y por tratamiento térmico convectivo de hojas de menta (Ayadi et al. 2014).



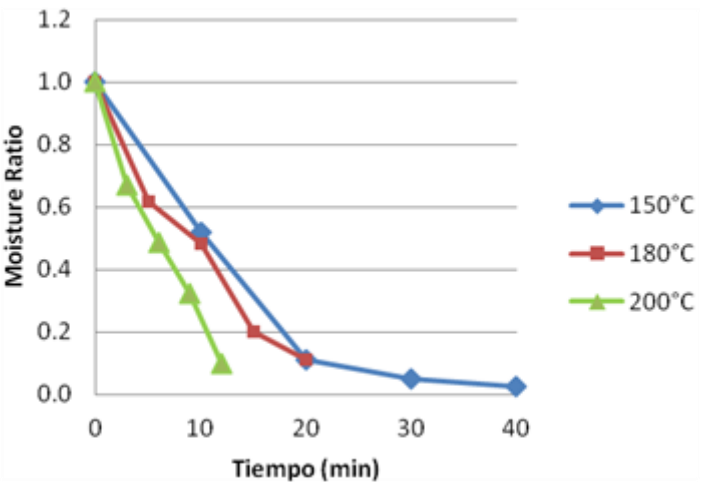


Figura 1. Variación del contenido de humedad relativa (MR) con el tiempo de tratamiento para diferentes temperaturas.

Cinética de actividad enzimática y de secado

Las curvas de inactivación de las enzimas lipoxigenasa y lipasa a distintas temperaturas en función del tiempo de tratamiento se muestran en las **Figuras 2** y **3**. En todos los casos la actividad disminuye conforme aumenta el tiempo de tratamiento y se observa un buen ajuste de la pérdida de actividad enzimática a una cinética de primer orden (R^2 entre 0,87 y 0,94) para las temperaturas ensayadas.

En la **Tabla 2** se muestran los parámetros cinéticos de inactivación enzimática de LOX y LI. Como se esperaba, las constantes cinéticas (k) son mayores al aumentar a temperatura.

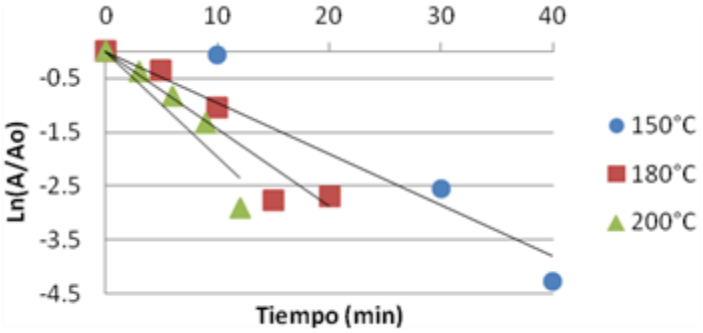
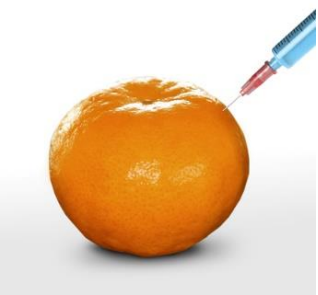


Figura 2. Inactivación térmica de enzima lipoxigenasa de germen de trigo a diferentes temperaturas.



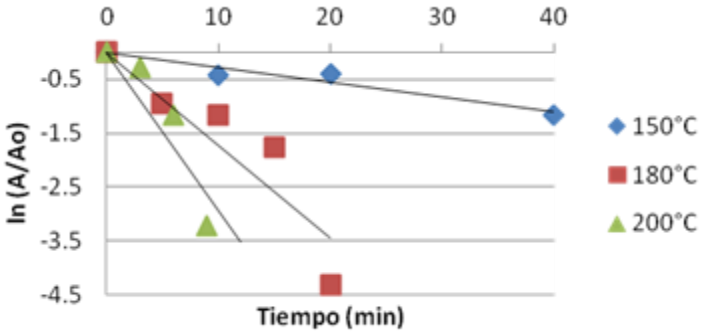


Figura 3. Inactivación térmica de enzima lipasa de germen de trigo a diferentes temperaturas.

La influencia de la temperatura de tratamiento sobre la pérdida de actividad y sobre la cinética de secado se evaluó utilizando la ecuación de Arrhenius. La *Ea* para la inactivación de LOX fue de 23,8 kJ/mol (R^2= 0,99), para LI 91,07 kJ/mol (R^2= 0,97). Se puede concluir que la enzima lipasa presenta mayor resistencia térmica que la lipoxigenasa en germen de trigo, lo que concuerda con resultados presentados por Vitriemani (1992).

Tabla 2. Constantes cinéticas de secado, degradación enzimática lipoxigenasa y lipasa.

Temperatura (°C)	Actividad LOX		Actividad LI	
	k_{LOX} (min^{-1})	R^2	k_{LI} (min^{-1})	R^2
150	0,0935	0,94	0,0278	0,93
180	0,1435	0,91	0,1722	0,84
200	0,1963	0,87	0,2928	0,83

Velocidad de deshidratación (DR) del germen durante el tratamiento térmico

Utilizando los datos experimentales de humedad y tiempo es posible estimar la velocidad de secado.

En la **Figura 4** se observa que la DR disminuye continuamente en el tiempo para todas las condiciones ensayadas. Ello evidencia que el tratamiento ocurre solo en el período decreciente, por lo que el secado es controlado por la resistencia a la transferencia de masa en el sólido, y es aplicable la segunda ley de Fick (Durance 2002). En etapas iniciales es mayor la velocidad de difusión de agua debido a mayores contenidos de humedad y menor resistencia externa. Las menores DR aparecen en etapas finales de secado por una baja difusión de humedad. Asimismo es notable y esperable que al aumentar la temperatura del aire de secado se incrementa la DR y se reducen los tiempos de tratamiento.

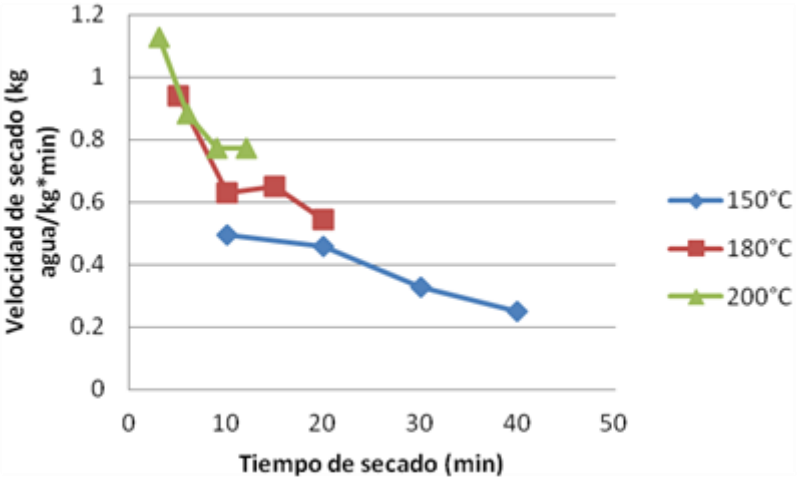


Figura 4. Curvas de velocidad de secado experimental en función del tiempo de tratamiento para diferentes temperaturas.

Modelado de pérdida de agua del germen

A continuación se muestran los resultados del modelado del comportamiento del germen de trigo en horno convectivo. En general todos los modelos ensayados obtuvieron un buen ajuste (valores de R^2 entre 0,976 y 0,988, valores del estadístico χ^2 entre 0,003 y 0,006 y de RMSE entre 0,035 y 0,050). Sin embargo el modelo que mejor describe el proceso de secado en capa delgada de germen de trigo es el de Midilli et al. (2002). Los parámetros y estadísticos asociados a éste modelo se muestran en la **Tabla 3**.

En la **Figura 5** se muestran en conjunto los datos experimentales y los predichos con el modelo de Midilli. Se trata de un modelo ampliamente utilizado, que tiene un excelente ajuste para el secado de otros productos como hojas de menta (Ayadi et al. 2014) y pimiento rojo (Darvishi et al. 2014).

Tabla 3. Coeficientes estimados y análisis estadístico del modelo de Midilli et al. para varias temperaturas.

Temperatura (°C)	k	a	b	n	R^2	χ^2	RMSE
150	0,0115	1,0002	0,0009	1,7718	0,9995	0,0004	0,0087
180	0,1701	0,9999	-0,0317	0,2177	0,9879	0,0061	0,0349
200	0,1459	1,0000	-0,0627	1,02E-9	0,9948	0,0007	0,0122

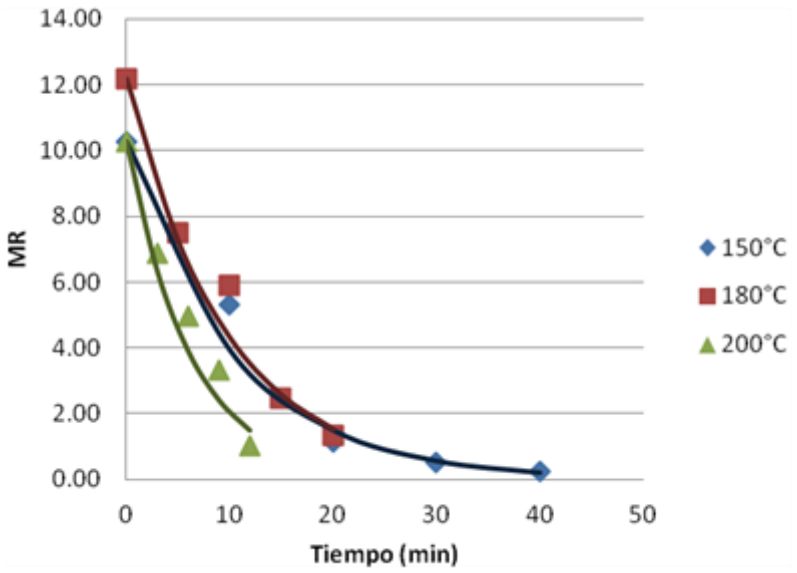


Figura 5. Relación de humedad versus tiempo a varias temperaturas de tratamiento, comparando los datos empíricos con los predichos con el modelo de Midilli et al. (2002).

Determinación del coeficiente de difusión efectiva

Con el fin de describir el tratamiento de germen en las condiciones ensayadas, se calculó el coeficiente de difusividad efectiva ($Deff$) y la influencia de la temperatura. Los valores calculados de acuerdo a la ecuación de Crank (Ec. 8) se presentan en la **Tabla 4**. Como era de esperar los coeficientes de difusividad efectiva se incrementan conforme se incrementa la temperatura del aire. Éstos valores son superiores al rango general (10^{-9}–10^{-11} m^2/s) estimado para materiales biológicos (Kaya y Aydin, 2009; Darvishi et al. 2014).

Tabla 4. Coeficiente de difusión efectiva y análisis estadístico del modelo de regresión lineal.

T(°C)	$Deff$ (m^2/s)	R^2
150	$1{,}63 \times 10^{-8}$	0,98
180	$1{,}87 \times 10^{-8}$	0,97
200	$3{,}03 \times 10^{-8}$	0,91

La energía de activación para la difusión, calculada como la pendiente del gráfico de ln($Deff$) versus la inversa de la temperatura absoluta fue de 19,16 kJ/mol (R^2=0,80). Ello es acorde a valores encontrados para materiales biológicos, (Srikiatden y Roberts 2007), e inferior al rango de 80-110kJ/mol obtenido para el secado convectivo de hojas (Panchariya et al. 2002, Kaya y Aydin, 2009).

Evolución de los parámetros de color

En la **Tabla 5** se muestran los valores obtenidos del índice de pardeamiento (BI) para diferentes temperaturas y tiempos de tratamiento. Solo se observan diferencias significativas ($p<0,05$) sobre el final del proceso, a tiempos largos. Éstos resultados se pueden atribuir a las reacciones de pardeamiento no-enzimático empiezan a ocurrir al superarse los 100°C (Broyart & Duquenoy, 1997).

Dado que no existen diferencias significativas de BI en el tratamiento en los tiempos considerados, no es posible determinar la cinética de desarrollo de color, ni asociar empíricamente éstos cambios a la actividad enzimática.

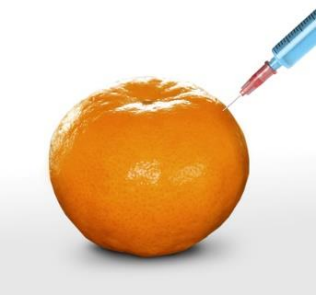
Tabla 5. Parámetros de color para las diferentes muestras de germen de trigo tratado en horno convectivo.

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	BI	
150	0	49,26 ± 2,24	a
	10	47,98 ± 1,47	a
	20	47,89 ± 1,26	a
	30	48,97 ± 2,14	a
	40	52,02 ± 3,35	b
180	0	43,99 ± 1,88	a
	5	48,99 ± 1,73	b
	10	50,55 ± 1,72	c
	15	52,33 ± 1,75	d
	20	55,13 ± 1,67	e
200	0	49,26 ± 2,24	a
	3	48,30 ± 1,09	a
	6	49,22 ± 1,79	a
	9	51,74 ± 0,98	b
	12	51,97 ± 2,11	b

[a, b, c, d, e]: según análisis de la varianza empleando test de Fisher con un nivel de significancia del 0,05.

CONCLUSIONES

El tratamiento de germen de trigo en horno convectivo es un método efectivo para inactivar las enzimas lipasa y lipoxigenasa. En ambos casos se mostró una fuerte dependencia de la actividad enzimática remanente con respecto a la temperatura de tratamiento. El ajuste a un modelo cinético de primer orden permitió determinar la energía de activación de pérdida de actividad de ambas enzimas, presentando mayor estabilidad térmica la enzima lipasa. Ello sugiere que la actividad de la enzima lipasa es un buen parámetro para el seguimiento del efecto del tratamiento térmico sobre la estabilidad el germen de trigo. El modelado de la pérdida de humedad del germen de trigo por convección puede ser descripto mediante el modelo de Midilli. El proceso corresponde al período de velocidades decrecientes donde el proceso es gobernado por la difusión en el sólido. El coeficiente de difusividad efectiva se incrementa conforme lo hace la temperatura de tratamiento. No existe un cambio de color significativo del germen en función de la temperatura en las condiciones ensayadas por lo que no es factible la utilización de los parámetros de color como indicador de actividad enzimática.



BIBLIOGRAFÍA

Ahmad, E., Fatima, S., Khan, M. M., & Khan, R. H. (2010). More stable structure of wheat germ lipase at low pH than its native state. *Biochimie*, *92*(7), 885–893. http://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.03.023

Ayadi, M., Mabrouk, S. Ben, Zouari, I., & Bellagi, A. (2014). Kinetic study of the convective drying of spearmint. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *13*(1), 1–7. http://doi.org/10.1016/j.jssas.2013.04.004

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254. http://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Broyart, B., & Duquenoy, A. (1997). Predicting Colour Kinetics During Cracker Baking, *8774*(98).

Darvishi, H., Asl, A. R., Asghari, A., Azadbakht, M., Najafi, G., & Khodaei, J. (2014). Study of the drying kinetics of pepper. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *13*(2), 130–138. http://doi.org/10.1016/j.jssas.2013.03.002

Durance, T. (2002). *Handbook of Food Preservation*. *Food Research International* (Vol. 35). http://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00143-5

Håkansson, B., & Jägerstad, M. (1990). The effect of thermal inactivation of lipoxygenase on the stability of vitamin E in wheat. *Journal of Cereal Science*, *12*(2), 177–185. http://doi.org/10.1016/S0733-5210(09)80099-4

Ibanoğlu, E. (2002). Kinetic study on color changes in wheat germ due to heat. *Journal of Food Engineering*, *51*, 209–213. http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb03625.x

Kaya, A., & Aydin, O. (2009). An experimental study on drying kinetics of some herbal leaves. *Energy Conversion and Management*. http://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.08.024

Kermasha, S., Bisakowski, B., Ramaswamy, H., & Voort, F. Van De. (2007). Comparison of microwave, conventional and combination heat treatments on wheat germ lipase activity. *International Journal of Food Science & Technology*, *28*(6), 617–623. http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb01313.x

Malekian, F., Rao, R. M., Prinyawiwatkul, W., & Marshall, W. E. (2000). Lipase and Lipoxygenase Activity , Functionality , And Nutrient Losses in Rice Bran During Storage, (870), 1–69.

Midilli, A., Kucuk, H., & Yapar, Z. (2002). A NEW MODEL FOR SINGLE-LAYER DRYING. *Drying Technology*, *20*(7), 1503–1513.

Özbek, B., & Dadali, G. (2007). Thin-layer drying characteristics and modelling of mint leaves undergoing microwave treatment. *Journal of Food Engineering*, *83*(4), 541–549. http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.004

Panchariya, P. C., Popovic, D., & Sharma, A. L. (2002). Thin-layer modelling of black tea drying process. *Journal of Food Engineering*, *52*(4), 349–357. http://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00126-1

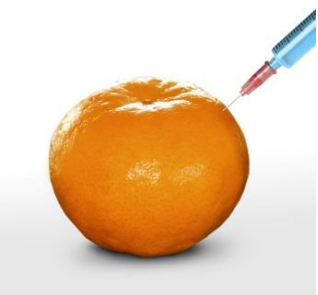
Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(1), 36–60. http://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9

Shi, Q., Zheng, Y., & Zhao, Y. (2013). Mathematical modeling on thin-layer heat pump drying of yacon (Smallanthus sonchifolius) slices. *Energy Conversion and Management*, *71*, 208–216. http://doi.org/10.1016/j.enconman.2013.03.032

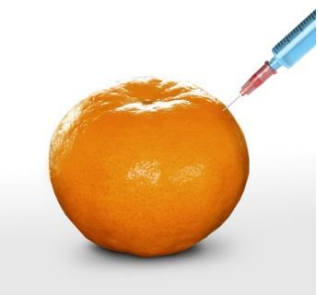
Srikiatden, J., & Roberts, J. S. (2007). Moisture Transfer in Solid Food Materials: A Review of Mechanisms, Models, and Measurements. *International Journal of Food Properties*, *10*(4), 739–777. http://doi.org/10.1080/10942910601161672

Xu, B., Miao, W. J., Guo, K., Hu, Q. S., Li, B., & Dong, Y. (2012). An improved method to characterize crude lipoxygenase extract from wheat germ. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, *4*(1), 26–32. http://doi.org/10.1111/j.1757-837X.2011.00120.x

Zhu, K. X., Zhou, H. M., & Qian, H. F. (2006). Proteins extracted from defatted wheat germ: Nutritional and structural properties. *Cereal Chemistry*, *83*(1), 69–75. http://doi.org/10.1094/CC-83-0069



AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen a CONICET, a la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba y a Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por el financiamiento recibido.



Synergistic performance of lecithin and monostearate in oil/water emulsions

Moran-Valero, M. I. [1, 2], Pizones Ruiz-Henestrosa, V. M. [1, 2], Pilosof, A. M. R. [1, 2]

[1] Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) Argentina,
[2] Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Ciudad Universitaria, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina
inesmoran52@gmail.com

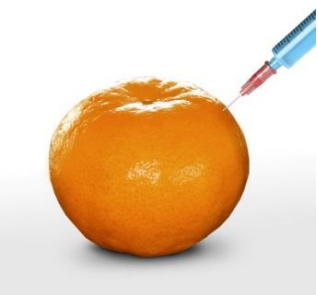
RESUMEN
En el presente trabajo se analizó el efecto de las interacciones entre dos tensioactivos de bajo peso molecular (LMWE), la lecitina y el diglicerol-monoestearato (DGME), en la formación y estabilización de emulsiones alimentarias (aceite/agua). Los sistemas con la misma relación de lecitina y DGME mostraron un fuerte efecto sinérgico, dando lugar a emulsiones con bajos porcentajes de coalescencia y floculación. Se observó que el DGME inducía una importante disminución de la pseudoplasticidad y del coeficiente de consistencia de las emulsiones, mientras que la lecitina mostró formar emulsiones más estables en base a los resultados del ζ-potencial y de la viscosidad. Finalmente, los resultados del estudio de las propiedades interfaciales de ambos tensioactivos y sus mezclas mostraron que todas las mezclas tenían una actividad interfacial similar a tiempos altos de adsorción. Sin embargo, los valores más elevados de presión interfacial a tiempos cortos se encontraron en la mezcla con la misma relación de lecitina y DGME. En los resultados de la reología interfacial se observó que la lecitina era el tensioactivo dominante, formando películas de gran viscoelasticidad. Estos resultados podrían atribuirse a la formación de un complejo entre ambos tensioactivos, que mejoran sus propiedades emulsionantes cuando se encuentran en la misma relación.

Palabras claves: Lecitina, monoglicérido, interfase agua-aceite, emulsión.

ABSTRACT
The aim of the present work was to analyse the effect of the interactions between two low-molecular weight emulsifiers (LMWE) (lecithin and diglycerol-monostearate (DGME)) in the formation and stability of food emulsions (oil/water emulsions), studying different concentration ratios of them. The systems formed with the same ratio of lecithin and DGME exhibited a strong synergism as a stable emulsion (25ºC), with lower percentages of coalescence and flocculation. It was also observed that the addition of DGME (DGME emulsions behaved as a Newtonian fluid) induced a high decrease of pseudoplasticity and the consistency coefficient. The ζ-potential and viscosity of emulsions showed that lecithin formed emulsions more stable than DGME. Interfacial dynamic properties of the adsorbed films were measured. All of the mixtures showed similar interfacial activity at long time of adsorption. The mixed system with a higher content of lecithin presented an interfacial activity that was similar to that of lecithin alone. However, higher values of interfacial pressure at the initial times were reached in the systems with the same ratio of lecithin and DGME. The interfacial dilatational rheological parameters were dominated by lecithin, forming high viscoelastic films. These results should be mainly attributed to the formation of a complex between the two surfactants, lecithin and DGMG, which enhanced their emulsification properties when they are in the same ratio.

Keywords: Lecithin, monoglyceride, oil-water interface, emulsion.

INTRODUCTION
The formation of stable colloidal dispersions (emulsions, foams, etc.) is important in food industry, being required the presence of surface-active substances (emulsifiers such as low molecular weight emulsifiers



(LMWE) and biopolymers) for their formation and stabilization. The stability and mechanical properties of these dispersed food systems depend on the way in which the emulsifiers adsorb and interact at fluid interfaces. The optimum use of the emulsifiers depends on the knowledge of their physico-chemical characteristics (surface activity, structure, miscibility, superficial viscosity, etc.) and the kinetics of the film formation at fluid interfaces (Damodaran & Paraf, 1997; McClemens, 2005, 2).

Phospholipids (lecithin) and diglycerol-monoglycerides (DGMG) are the most common examples of LMWE used in the stabilization of different food products (Codex Alimentarius, 1994) due to their amphiphilic character (Mao et al, 2014;, Pichot et al, 2013) that can rapidly cover the interface, by the Gibss-Marangoni mechanism (Carrera et al, 2005). Phospholipids are ionizable emulsifiers, which are needed to increase colloidal stability and provide interfacial interactions between food components (Bos et al, 1997; Cevec, 1993; Golberg, 1994), that improve emulsion stability and shelf life in many foods. The increasing demand for low-fat products, convenience, instant, and functional foods has placed a greater importance upon the use of phospholipids as emulsifiers in foods. In the other hand DGMG can develop different forms of liquid crystalline in these systems as well, and structure the emulsions with modified properties (termed structured emulsions) (Krog and Sparso, 2004). DGMG applications are related to the organoleptic and textural properties that DGMG confer to the final product (Norm, 2004). Thus, the modern production of industrial foods requires a complete understanding of the behavior of emulsifiers used as processing aids, both at interface and in the bulk phases, at equilibrium and under dynamic conditions (Niño et al, 2008).

Surfactants used in commercial applications typically consist of a mixture of surfactants because they can be produced at a lower cost and these mixtures can also exhibit better properties than each one alone (Rosen, 1989). Interactions between the adsorbed molecules of the emulsifiers could affect the structure, topography and dynamic characteristics (relaxation phenomena and viscoelasticity) of the mixed interfacial films (Patino et al, 2003; Wilde et al, 2004). The knowledge of the static (adsorption, structure, topography, etc.) and dynamic (dynamic surface tension and surface rheology) characteristics of surfactants mixtures at the oil-water interface is a key factor for the formation and stability of optimized food emulsions.

The aim of the present work was to investigate the impact of the combination of lecithin and diglycerol-monostearate (DGME) in the formation and stability of food emulsions. According to it, the emulsifying characteristics of the lecithin and the DGME, as well as the lecithin/DGME mixed systems (evaluating different ratios of lecithin/DGME) will be analyzed. Finally, a correlation between these properties and the analysis of the interfacial properties will also be carried on, both for the interfacial films formed solely by each surfactant and by their mixtures (lecithin/DGME).

Materials and methods

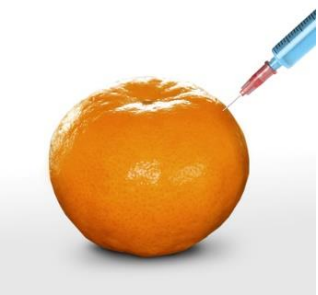
Reagents and Materials

Lecigran 1000P (de-oiled, powdered soy lecithin) was acquired from Cargill Texturizing Solution US, LLC (Decatur, United States) and a commercial DGME (glyceril-monostearate) was purchased from Química Oeste S.A. (Buenos Aires, Argentina). A commercial chia oil without further purification was used. Millipore water was used to prepare the different emulsions.

The solutions prepared for the interfacial measurements were at 0.003 % (w/w). These concentrations were used to assure the saturation of the interface by the surfactants (Álvarez Gómez & Patino, 2006). All the glassware used for interfacial measurements was cleaned using ammonium persulfate-sulfuric acid to eliminate all the possible surface-active contaminants that could interfere in the measurements and rinsed with Millipore water.

Emulsion preparation

The oil and lecigran/DGME solutions at total concentration of 1.8% (w/w) were emulsified at a 10:90 O/W ratio. Lecigran and DGME were weighed, and the oil phase was added and stirred for 5 min with a vortex. Next, the water phase was added and the final solutions were pre-emulsified with an Ultra-Turrax for 3 min at 25000 rpm. Then, the samples were emulsified for 10 min using an ultrasonic processor Vibra Cell Sonics, model VCX 750 (Sonics & Materials Inc., Newtown, Connecticut, United States) at a frequency of 20 kHz



and amplitude of 20% (Von Staszewski et al, 2014).

Droplet size determination

The droplet size of emulsions was measured using a Mastersizer 2000 with a Hydro 2000MU as dispersion unit, both from Malvern Instruments (Malvern Instruments, Worcestershire, United Kingdom). The emulsion was dispersed in recirculating water in the Hydro 2000MU with the pump speed set in 1800 rpm (Camino et al, 2011). The information about emulsion particle size was then obtained via a best fit between light scattering theory (Mie) and the measured light scattering pattern. The droplet size is reported as the volume-surface mean diameter or Sauter diameter ($D_{32}= \sum n_i d_i^3/\sum n_i d_i^2$) and the equivalent volume-mean diameter or De Broucker diameter ($D_{43}= \sum n_i d_i^4/\sum n_i d_i^3$), where n_i is the number of droplets of diameter d_i. D_{32} was used to estimate the specific surface area of the emulsions and D_{43} was used to monitor the changes in the droplet size distribution. The interpretation of these two diameters will allow to analyse the stability of the different emulsions.

The droplet sizes were reported as the average and standard deviation of ten readings made on the sample. The measurements were carried out in duplicate of emulsion samples.

Interfacial measurements

All the interfacial experiments were carried out in an automatic drop tensiometer PAT-1 (SINTERFACE Technologies, Berlin, Germany). Emulsifier-oil solutions were prepared freshly by weighing the emulsifiers in the oil in order to attain the desired concentration in solution, which was then stirred at 60ºC for 30 min. A water droplet was formed at the tip of a stainless steel capillary (constant volume: 12 µl) immersed in a glass cuvette filled with the emulsifier-oil solution. This cuvette is covered by a compartment which is thermostatized (37.0 ± 0.1 ºC) by circulating water from a thermostat. Measurements were done until steady state adsorption was reached (around 180 min) (Bellesi et al, 2014). The glass materials in contact with the solutions were properly cleaned.

Dynamic interfacial pressure

Time-dependent interfacial pressure (π) of adsorbed films at the O/W interface was determined. The interfacial pressure is $\pi = \gamma^{\circ} - \gamma$, where γ° is the subphase interfacial tension (27 mN/m), in the absence of the emulsifiers, and γ the interfacial tension of solution at each time (θ). The interfacial tension (γ) was calculated thorough the analysis of the droplet profile (Labourdenne et al, 1994). However, the reproducibility of the results, for at least two measurements, was better than 1%.

Dilatational rheology

The interfacial viscoelastic parameters (interfacial dilatational modulus, E, and its elastic, E', and viscous, E'', components) were measured as a function of time. These parameters were obtained from the change in π induced by an interfacial area perturbation (sinusoidal interfacial compression and expansion, by decreasing and increasing the drop volume at a 3% deformation amplitude (($\Delta A/A$) and an angular frequency of 0.05 Hz) (Bellesi et al, 2014; Rodríguez et al, 2015; Berthold et al, 2007,). As indicated previously, the interfacial dilatational modulus derived from the change in π, resulting from a small change in the interfacial area (Eq. (1)) (Lucassen & Van Den, 1972)

$$E\,(i\omega) = -d\pi/d\ln A = E'\,(\omega) + iE''\,(\omega) \quad (1)$$

where E (dilatational modulus) which is composed of a storage (E´) and a loss part (E´´). E´ is the interfacial elasticity and η (E´´/ω) is the interfacial viscosity, where ω is the angular frequency of the area modifications (ω = 2πf). The phase angle (θ) can be defined as: θ = arctg (E´´/E´).

ζ-potential measurements and particle size

ζ-potential of each emulsion was measured using a Dynamic Laser Light Scattering instrument (Potential Nano-ZS, Malvern Instruments, Worcestershire, United Kingdom) provided with a He-Ne laser (633 nm) and a digital correlator, Model ZEN3600. The emulsions were diluted with Millipore water at 1:1000 (emulsion:water), as described in Camino et al. (18). ζ-potential values are reported as the average and standard deviation of measurements made on two samples, with ten readings made per sample. The size of

the particles in water were also determined by Dynamic Laser Light Scattering. For particle size distribution, the CONTIN algorithm (Faría et al, 2010) was used. The assay was performed in triplicate.

Viscosity analysis

Viscosity measurements of emulsions were carried out in a cone and plate (cone spindle CP-41) LVT Brookfield Viscometer at 25 ºC at increasing and decreasing shear rates in the range 70–180 s^{-1}. Flow curves were fitted with the power law (Eq. (2)):

$$\tau = k \cdot \gamma^n \quad (2)$$

where τ is the shear stress, γ the shear rate, n the flow behaviour index and k the consistency index. Results were expressed according to the values of k and n calculated from the equation of the power law. Average values of duplicated assays were considered.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Emulsion formation and stability

Lecigran, DGME and lecigran/DGME mixtures were emulsified at 10:90 O/W ratio, using the same amount of total surfactant in all cases (1.8%) that ensured saturation of emulsions interface (Kramp et al, 1984; Álvarez Gómez et al, 2008,). Different lecigran/DGME ratios, Lec>DGME (85:15), Lec=DGME (50:50) and Lec<DGME (15:85) (w/w), were tested in order to assess their impact in the formation and stability of the emulsions. **Figure 1** shows the values of the droplets size (D_{32} and D_{43}). Lecigran emulsions once formed exhibited a D_{43} value (0.244 nm) similar to D_{32} value (0.212 nm), indicating a low level of flocculation. Contrarily, DGME emulsions exhibited a D_{43} value (1.363 nm) twice the D_{32} value (0.667 nm) pointing out an initial high degree of flocculation.

All the mixed emulsions showed droplets sizes (D_{32}) much lower than what would be expected from the simple mixing ratio of the two emulsifiers, being the size of droplets closer to single lecigran emulsion.

Nevertherless, the Lec<DGME emulsion exhibited a higher degree of flocculation. Thus the presence of lecigran in the mixture favours the formation of smaller droplets, as well as a lower initial degree of flocculation.

The stability of emulsions after 21 days of storage at 25ºC was evaluated from the evolution of droplets sizes (data not shown). Destabilization parameters: % of coalescence and % of flocculation (Table 1) were calculated for each sample (Palazolo et al, 2005; Castellani et al, 2006,):

$$\% \text{ of coalescence} = ((D_{32f} - D_{32i})/ (D_{32i}))*100 \quad (3)$$

$$\% \text{ of flocculation} = ((D_{43f} - D_{43i})/ (D_{43i}))*100 \quad (4)$$

where D_{32i} and D_{43i} were initial values for the fresh emulsions and D_{32f} and D_{43f} were final values, measured 21 days after the emulsions formation.

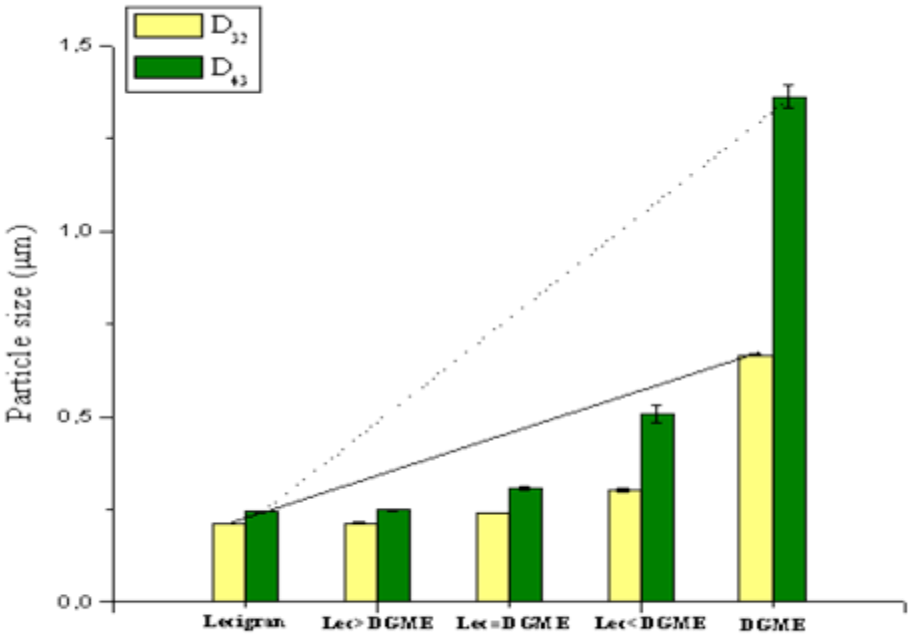


Figure 1. D_{32} (µm) and D_{43} (µm) values of emulsions once formed.

When analysing these parameters (**Table 1**) it can be observed that lecigran emulsion exhibited some flocculation and coalescence. DGME emulsion exhibited even more coalescence and a very high degree of flocculation. The degree of coalescence of Lec>DGME was similar to single lecigran emulsion but with a decreased degree of flocculation. The Lec = DGME emulsion showed half the degree of coalescence and a five times lower degree of flocculation than lecigran. The Lec<DGME emulsion exhibited a degree of coalescence similar to DGME emulsion but half the degree of flocculation. These results suggest that the presence of the lecithin inhibited the flocculation and coalescence even if present in small proportion, improving the stability of the emulsions.

Table 1. Degree of coalescence and flocculation (%) for the different emulsions, and ζ -potential values.

Emulsion	Lecigran	DGME	Lec>DGME	Lec=DGME	Lec<DGME
% Coalescence	22.64	41.68	24.77	10.00	44.70
% Flocculation	47.54	2171.24	36.03	9.74	1300.99
Z-potencial (mV)	-52.7±0.6	-45.9±0.5	-53.4±0.7	-52.8±0.4	-42.9±0.5

It seems that in O/W emulsions MG crystalline structure can exist both at interface and in oil phase (Mao et al, 2014). The crystalline MG at the oil–water interface is connected from one droplet to another, causing droplets flocculation. The presence of other emulsifiers as Tween or milk proteins, delays the crystallization of MG and the polymorphic transition of crystals (Mao et al, 2014). Therefore, the strong decrease of flocculation and coalescence in the mixed emulsions may be attributed, at least partially, to the inhibition of time dependent crystallization of interfacial DGME in the presence of lecithin.

ζ-potential

The ζ-potential (**Table 1**) is a good parameter that may help to understand the mechanism underlying the stability of the emulsions. A minimum ζ-potential value of ± 30 mV is needed to obtain physically stable

emulsions (lower electrostatic repulsion) (Guzey et al, 2006). All the emulsions exhibited highly negative values of ζ-potential. The values for Lec=DGME and Lec>DGME emulsions were similar to the emulsions formed solely by lecithin (ζ-potential ≈ -53 mV) and they presented higher absolute values than DGME emulsions. So, it can be concluded that lecithin predominated in the surface of oil droplets, further contributing to their stabilization.

Viscosity

The rheological parameters (*k* and *n*) that were determined from the power law model equation (Eq. (2)) are shown in **Figure 2** (a, b). The DGME emulsion performed as a Newtonian fluid and exhibited a very low consistency coefficient (k). Mao et al. (4) also reported that DGME (1 %) stabilized soybean oil emulsions show Newtonian behaviour. Contrarily lecithin emulsion exhibited a high pseudoplasticity (n= 0.29) and consistency. Bhattachary et al. (30) also reported that lecithin oil in water emulsions exhibits pseudoplastic behavior.

The differences in the rheological parameters of DGME and lecithin emulsions are mainly reflecting differences in interactions and in the particles structure. Also the increase of the viscosity of the aqueous phase through the formation of self bodying mesophase structures by the unadsorbed emulsifiers may be important.

Addition of DGME, even at a low ratio (Lec>DGME) or at equal ratio (Lec=DGME) induced a high decrease of pseudoplasticity and also a strong decrease of the consistency coefficient. The Lec<DGME emulsion exhibited rheological parameters similar to single DGME emulsion. Thus DGME mostly dominated the flow behaviour of mixed emulsions.

(a) (b)

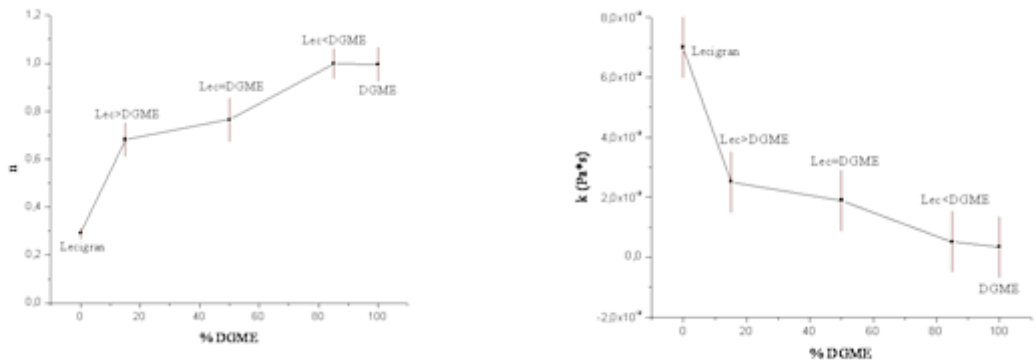
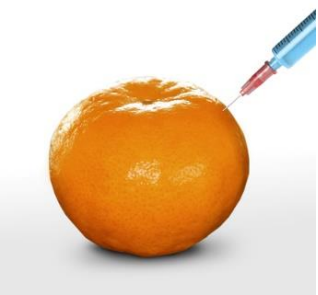


Figure 2. a) Effect of surfactant ratio on the emulsion behaviour (Newtonian or pseudo-plastic), and b) Effect of surfactant ratio on the consistency coefficient (*k*) of emulsions.



Interfacial pressure and viscoelastic properties for lecithin, DGME and mixed films at the oil-water interface

Interfacial activity

Figure 3 shows the interfacial pressure (π) evolution with the adsorption time for lecigran, DGME and lecigran/DGME mixed films. The behaviour of π is associated with the adsorption of the surfactants to the O/W interface. At long adsorption times a final value of π~24 mN/m was obtained for DGME that resulted slightly higher than that obtained for lecigran film (π~22 mN/m). Higher differences were observed at short adsorption times where lecithin adsorbed faster than DGME.

At shorter adsorption times the interfacial activity of the Lec>DGME and Lec<DGME mixed films was dominated by the lecithin, as they showed the same trend in the increase of π with time. Nevertheless higher initial values of π, even higher than those observed for single emulsifiers, were reached when the lecigran and DGME were present in the same ratio (Lec=DGME), which reflects a cooperative adsorption behaviour between the surfactants.

During competitive adsorption between both surface active molecules at high bulk concentrations (as is the case), the surface pressure is initially controlled by the component which adsorbs more rapidly (lecithin) and then by DGME (Patino & Pilosof, 2011).

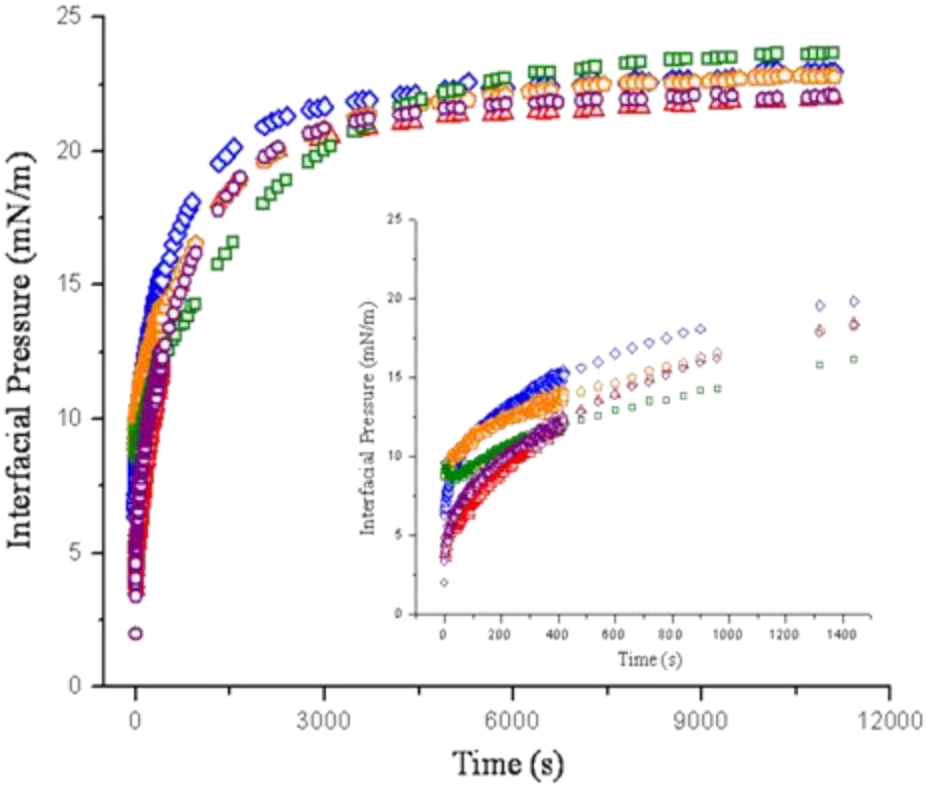


Figure 3. Surface pressure (π) versus the time (s) for lecigran, DGME and lecigran/DGME mixed films at the oil-water interface at 37°C. Symbols: (□) DGME, (○) lecigran, (Δ) Lec>DGME, (◊) Lec=DGME and (⌂) Lec<DGME.

In order to determine the adsorption rate of these components, the following empirical equation was used to fit the curves in **Figure 3** (Eq. (5):

$$\pi-\pi_0= \Delta\pi_\infty \, t/(B + t) \quad (5)$$

where π and π_0 are the interfacial pressure at the time t and at t = 0, respectively; $\Delta\pi_\infty$ is the final interfacial pressure, t is the time and B is the time required to reach half $\Delta\pi_\infty$ (Pilosof et al, 1985).
Figure 4 shows the correlation between the surfactants composition and the time required to reach half $\Delta\pi_\infty$. Lecigran adsorbed at the O/W interface about ten times faster than DGME that can be related to its ability to form initial smaller oil droplets in the emulsion (**Figure 1**). For all the mixed systems, B values were lower than those expected from the mixing ratio of the single components, showing that the adsorption rate is dominated by the lecithin.

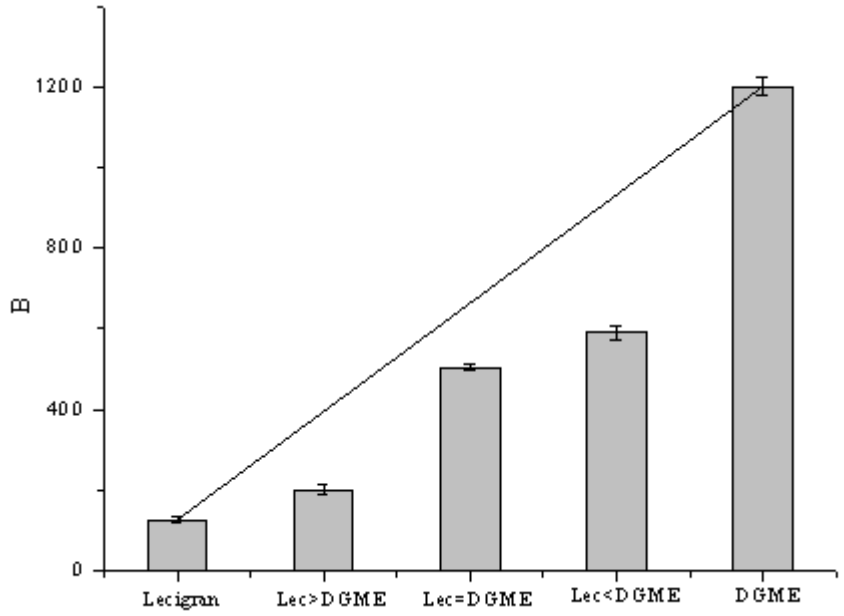


Figure 4. Correlation between surfactant ratio and time required to reach half $\Delta\pi_\infty$ (B).

Interfacial dilatational rheology
The evolution of several interfacial dilatational parameters with time is shown in **Figure 5**. All the interfacial films presented a rapid increase of phase angle and interfacial viscosity values, indicating the occurrence of rapid interactions between the adsorbed components at the O/W interface. The viscoelasticity of the lecigran film (**Figure 5a**) was lower than that of DGME film, as shown by the higher phase angle value for lecigran. All the mixed films, even that with the smaller lecigran concentration, presented the same viscoelasticity as the single lecigran film.

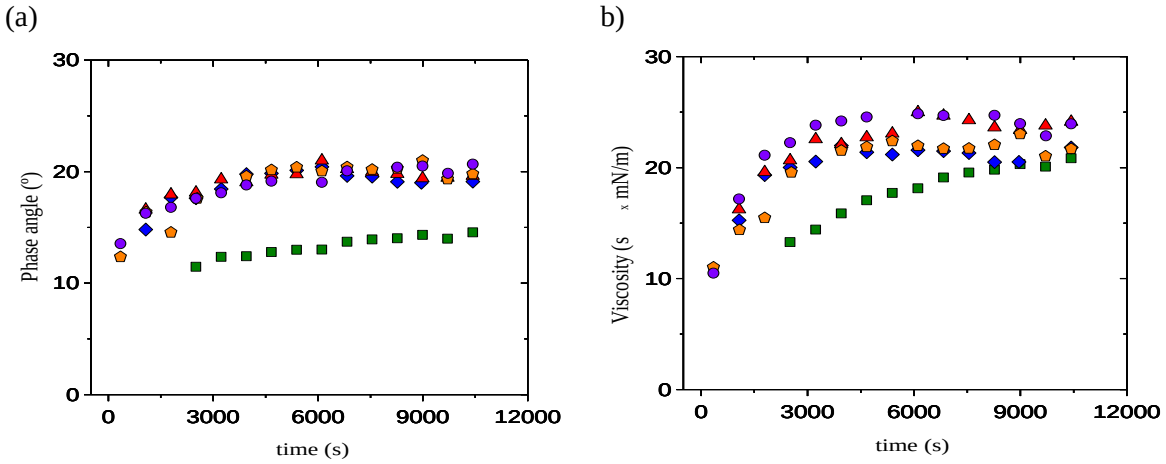


Figure 5. Time evolution of a) phase-angle (º) and b) viscosity for lecigran, DGME and mixed films at the oil-water interface at 37ºC. Symbols: (□) DGME, (○) lecigran, (Δ) Lec>DGME, (◊) Lec=DGME and (⌂) Lec<DGME.

Figure 5b shows that the interfacial viscosity of the lecigran film was higher than that of DGME film, and the mixed films showed viscosities closer to lecigran film. These results suggest that lecigran also dominated the viscosity of the mixed interfacial films.

Film rheology can affect the stability of the emulsions (Zinoviadou et al, 2012), as higher viscoelastic films may be more resistant to the coalescence of the oil droplets, therefore increasing emulsion stability (Moore et al, 1998). Nevertheless, DGME, that formed a film with significant higher viscoelasticity (low phase angle values), formed the more unstable emulsions against coalescence (Table 1), showing that other factors, such as surface charge, steric factors and bulk viscosity further affect the emulsions stability (Bos et al, 2001). In fact, lecigran emulsions exhibited higher ζ-potential values and lower initial droplets size that could account for by its higher stability.

Lecithin-DGME interactions in the bulk

As shown in **Figure 6**, lecithin dispersed in water by ultrasounds, formed particles of 100 nm. Lecithin in water creates vescicles (700-1000 nm) where it self-organizes into liquid crystalline structures consisting of several bimolecular layers. The size of the vescicles may be further modified by ultrasounds treatment that can decrease their size. DGME formed in water particles of a 200 nm. DGME can also self-assemble into different lyotropic liquid crystalline structures in water (Carrera et al, 2005). In the mixed system **(**Lec=DGME**)** the particle size distribution is similar to single DGME indicating that lecithin vescicles are mostly disintegrated by the presence of DGME which suggests an interaction between the two emulsifiers. According to Almgren, 2000 (36) surfactants added into an aqueous solution containing lecithin vescicles promoted disintegration of the lamellar structure, resulting in a formation of mixed micelles.

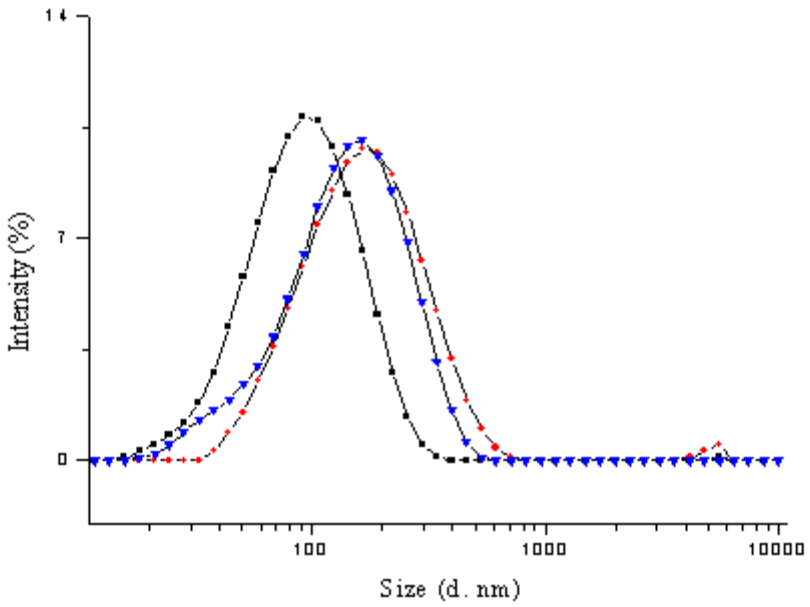


Figure 6. Size particle of lecigran, DGME and lecigran/DGME mixtures dispersed in water. Symbols: (■) lecigran, (●) DGME and (▼) lecigran/DGME mixture.

RESULTS AND DISCUSSION

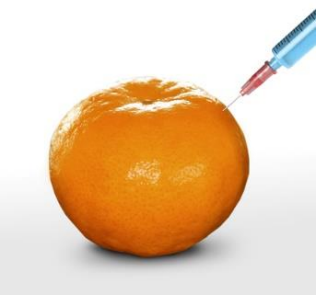
According to the emulsifying properties, the mixture with the same lecigran/DGME ratio did produce the most stable emulsions against coalescence and flocculation, showing low oil droplets diameters. The obtained results suggest that at the interface DGME would be pushed to the oil phase and lecithin would prevail at the surface of oil droplets. As DGME is more hydrophobic (HLB 3.8) than lecithin (HLB 7), when forming the emulsion (from the emulsifiers dissolved in the oil phase), DGME could remain mostly in the oil phase and lecithin in the surface interacting with water throughout phosphocholine headgroups.

The origin of synergy between lecithin and DGME may arise from hydrophobic interactions between the hydrophobic tails and hydrogen bonds between hydrophilic groups of both molecules. Whenever the kind of interactions deserve future studies, the main roles of the phospholipid in these mixed structures would be: (a) to enhance the rate of interfacial adsorption favouring the formation of emulsions with a low oil droplet size, (b) to enhance the charge of oil droplets, thus improving electrical stabilization, (c) inhibiting DGME interfacial crystallization that promotes flocculation and coalescence of emulsions, (d) enhancing steric stabilization as it appears from the interfacial ζ-potential measurements that lecithin charged groups are mainly located at the surface of oil droplets (e) increasing emulsion viscosity, thus enhancing stability.

On the other hand, DGME could (a) anchor lecithin in the interfacial film. Surfactants exist in dynamic equilibrium between the O/W interface and the continuous and disperse phases. Surfactant with relatively high water solubility can desorb from one droplet, diffuse through the aqueous phase, and adsorb onto a different droplet exposing bare interfacial regions on the droplets, promoting their coalescence (Athas et al, 2014) and (b) increase the structuring of the oil layer involved in the interfacial film, thus increasing its resistance to coalescence.

CONCLUSIONS

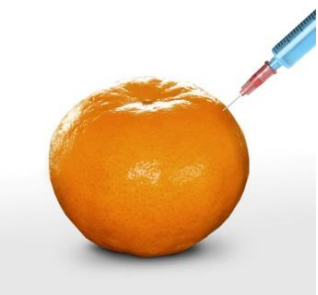
The combination of lecigran and DGME in the same ratio could be used in the formulation of new emulsions



with an outstanding stability. Nowadays, there is an important interest in the formulation of delivery systems of bioactive compounds, that could be improved their transport inside the gastrointestinal tract and inside the bloodstream, increasing their bioactive effect (Torres et al, 2011). As biocompatible and cheap, this blend may have industrial impact.

REFERENCES

Almgren M., Biochimica et Biophysica Acta, 1508 (2000) 146.
Álvarez Gómez J.M. and Rodríguez Patino J.M., Ind Eng Chsm Res, 45 (2006) 7510.
Álvarez Gómez J.M., Pizones Ruiz-Henestrosa V.M., Carrera Sánchez C., and Rodríguez Patino J.M., Food Hydrocolloid, 22 (2008a)1105.
Athas J.C., Jun K., McCafferty C., Owoseni O., Jhon V. T. and Raghavan S.R., Langmuir, 30 (2014) 9285.
Bhattacharya S., Shylaja M. H., Manjunath M.S., and Sankar U. *JAOCS 75*, (1998) 871
Bellesi F.A., Pizones Ruiz-Henestrosa V.M. and Pilosof A.M.R., Food Hydrocolloid, 36 (2014) 115.
Berthold A., Schubert H., Brandes N., Kroh L. and Miller R., Colloid Surface A, 301(2007) 16.
Bos M.A., Nylander T., Arnebrant T. and Clark D.C., Food Emulsifiers and Their Applications, 5 (1997).
Bos M.A. and Vliet T.V., Advs Colloid Int Sci, 91(2001) 437.
Camino, N.A. Carrera Sánchez C., Rodríguez Patino J.M, and Pilosof A.M.R., Food Hydrocolloid, 25 (2011) 1.
Carrera Sánchez C., Rodríguez Niño M. R., Lucero Caro A. and Rodríguez Patino J. R., J. Food Eng, 67, (2005) 225.
Castellani O., Belhommea C., David-Brianda E., Gue´rin-Dubiardb C., and M. Antona, Food Hydrocolloid, 20 (2006) 35.
Cevec G.(Eds.), Phospholipids handbook. New York: Marcel Dekker (1993).
Codex Alimentarious, Food and Agriculture Organization of the United Nations world Health Organization (FAO) (1994)
Damodaran S. and Paraf A. (Eds), Food Proteins and Their Applications, p. 1. Dekker, New York, 1997.
Faría M.E., Martínez M.J. and Pilosof A.M.R., Int Dairy J, 20 (2010) 79.
Golberg I (Eds.), In functional foods, designer foods, pharmafoods, nutraceuticals. New York: Chapman & Hall (1994)
Guzey D., Kim H.J. and McClements D.J., *Food Hydrocolloid*, 18 (2004) 967.
Kramp W., Pieroni G., Pinckard R.N. and Hanahan D.J., Chem Phy Lipids, 35 (1984) 49.
Krog N.J. and Sparso F.V. (Eds), Food emulsifiers: their chemical and physical properties. New York: Marcel Dekker (2004).
Labourdenne S., Gaudry-Rolland N., Letellier S., Lin M., Cagna A., Esposito G., Verger R. and Rivière, C. Chem Phys Lipids, 71 (1994) 163.
Lucassen J. and Van Den M.Tempel, Chem Eng Sci, 27 (1972) 1283.
Mao L., Calligaris S., Barba L. and Miao S., Food Res. Int. 58 (2014) 81
McClements D.J., *Langmuir*, 21(2005) 9777.
Moore P.B., Langley K., Wilde P.J., Fillery-Travis A. and Mela D.J., J Sci Food Agri 76 (1998) 469.
Norm V. (Eds.), Emulsifiers in food technology. In R. Whitehurst, Oxford: Blackwell Publishing Ltd. (2004)
Palazolo G.G., Sorgentini D.A. and Wagner J.R., Food Hydrocolloid, 19 (2005) 595.
Pichot R., Watson R.L. and Norton I.T., Int. J. Mol. Sci. 14 (2013) 11767.
Pilosof A.M.R., Boquet R. and Bartholomai G.B., J Food Sci, 50 (1985) 278.
998) 871.
Rodríguez Niño M.R., Lucero A. and Rodríguez Patino J.M. (2008) Colloid Surface A, 320 (2008) 260.
Rodríguez Patino J.M., Rodríguez Niño M.R. and Carrera Sánchez C., Curr Opin in Colloid In. 8, (2003) 387.
Rodríguez Patino J.M. and Pilosof A.M.R., Food Hydrocolloid, 25 (2011) 1925.
Rodríguez S.D., Von Staszewski M. and Pilosof A.M.R., Food Hydrocolloid, 50 (2015) 108.



Rosen M.J., Surfactants & Detergents Technical**,** JAOCS, 66 (1989) 1840
Torres C.F., Martín D., Torrelo G., Casado V., Fernández O., Tenllado D., Vázquez L., Morán-Valero M.I. and Reglero G., Curr Nutr Food Sci, 7 (2011) 160.
Von Staszewski M., Pizones Ruiz-Henestrosa V.M. and Pilosof A.M.R., Food Hydrocolloid, 35 (2014) 505.
Wilde P., Mackie A., Husband F., Gunning P. and Morris V., Adv Colloid Interfac. 108-109,(2004) 63.
Zinoviadou K.G., Scholten E., Moschakis T. and Biliaderis C.G., Int Dairy J, 26 (2012) 94.

ACKNOWLEDGMENTS
This research was supported by Universidad de Buenos Aires (Grant number: 20020100101007), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) (Grant number: 11220110100317) and Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (Grant numbers: PICT-2011-1279 and PICT-2014-3668).

Recuperación de biofenoles de alperujo con etanol acuoso. Determinación de las condiciones óptimas de extracción

Mussio D.F., Ceci L.N., Carelli A.A.

Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI), DIQ, Universidad Nacional del Sur-CONICET, Bahía Blanca, Argentina.
dmussio@plapiqui.edu.ar

RESUMEN

A fin de hallar las condiciones óptimas para la extracción de biofenoles de alperujo con etanol:agua se planteó un diseño experimental 2^{4-1} con 4 puntos centrales y dos réplicas. Se evaluó el efecto de los siguientes factores: A= volumen de solvente (30-50 mL), B= relación etanol:agua (1:1-4:1, v/v), C= pH (2-5) y D= tiempo de extracción (15-120 min). Las muestras de alperujo fueron previamente liofilizadas y desaceitadas; los ensayos experimentales se realizaron en un sistema `batch´ a 25 ºC; las respuestas medidas fueron el rendimiento de extracción y el contenido de fenoles totales en los extractos mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu. Sólo los factores A y B mostraron efectos significativos sobre las respuestas, no siendo significativa su interacción. A partir del análisis de los valores de la función deseabilidad para las respuestas, las condiciones óptimas de la extracción fueron: A = 50 mL (relación solvente/alperujo= 5/1, mL/g), B= 4:1. Finalmente, resultaron necesarias tres extracciones sucesivas para maximizar el rendimiento de la muestra. En conclusión, la recuperación de biofenoles de alperujo mediante extracciones sucesivas con etanol acuoso sería efectiva para la producción de extractos con potencial utilidad como antioxidantes naturales en alimentos.

Palabras clave: biofenoles, alperujo, etanol acuoso, extracción, optimización.

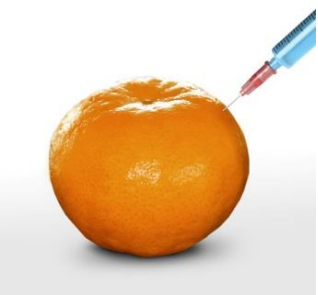
ABSTRACT

In order to find the optimal conditions for the extraction of biophenols from ‘alperujo’ using ethanol:water as solvent, a 2^{4-1} experimental design with 4 central points and two replicates was proposed. The effects of the following factors were evaluated: A= solvent volume (30-50 mL), B= ethanol:water ratio (1:1-4:1, v/v), C= pH (2-5), and D= extraction time (15-120 min). Samples of `alperujo´ were previously lyophilized and de-oiled; experimental tests were performed in a batch system at 25°C; the measured responses were the extraction yield and the total phenol content in the extracts using Folin-Ciocalteau reagent. Only A and B factors showed significant effects on the responses while their interaction was not significant. Analysing the values of the desirability function for the responses, the optimal conditions for the extraction were: A= 50 mL (solvent/alperujo ratio = 5/1, mL/g) and B= 4:1. Finally, the number of successive extractions required to maximize the throughput of phenols were three. In conclusion, the recovery of biophenols from alperujo by successive extractions with aqueous ethanol would be effective to produce extracts with a potential use as natural antioxidant in food.

Keywords: biophenols, alperujo, aqueous ethanol, extraction, optimization.

INTRODUCCIÓN

Los frutos del olivo contienen una amplia variedad de compuestos fenólicos de carácter polar (Mussio et al. 2015). Durante el proceso de dos fases para elaborar el aceite estos compuestos son transferidos mayoritariamente al alperujo, residuo semisólido de alto contenido acuoso (ap. 65%), un pH ligeramente ácido, y casi un 90% de su peso seco de materia orgánica. La presencia de biofenoles en el alperujo dificulta su disposición al ser altamente contaminantes para el suelo y cursos de agua (Nassini et al. 2013). Por otro



lado, los compuestos fenólicos constituyen una clase importante de antioxidantes naturales tanto `in vitro' como `in vivo´. Su presencia en un alimento protege a los nutrientes del deterioro oxidativo debido a su capacidad de "barrido" o "extinción" de radicales libres, como así también su capacidad para formar quelatos e inhibir metales pro-oxidantes. A su vez, su incorporación en la dieta permitiría proteger al organismo contra el daño oxidativo causado por los agentes oxidantes (oxígeno activo, radicales libres, etc.) involucrados en la etiología de enfermedades crónicas como el cáncer y la aterosclerosis (Aruoma 2003, Visioli et al. 2005).

La elección del método para extraer los biofenoles del alperujo, el solvente empleado, la temperatura y el tiempo de extracción son factores críticos. Una amplia gama de disolventes se ha utilizado para este fin, incluyendo agua, acetato de etilo (Soberón et al. 2012) y etanol (Suárez et al. 2010). El acetato de etilo se utiliza con frecuencia para extraer biofenoles de matrices acuosas tales como el alpechín, aunque la extracción con este solvente puede resultar en la pérdida de algunos glicósidos de biofenoles (Romero et al. 2002). Las soluciones hidroalcohólicas, en diferentes concentraciones relativas son a menudo las más elegidas para extraer biofenoles de los residuos sólidos (orujo) o semisólidos (alperujo). Los alcoholes son capaces de romper las paredes celulares e inhibir la acción de enzimas endógenas tales como la polifenoloxidasa y sus mezclas con agua proporcionan un muy buen disolvente para la mayoría de los compuestos fenólicos. Entre los alcoholes, el etanol es preferido por su disponibilidad, por ser un recurso de fuentes renovables y por ser admitido como un solvente seguro para el consumidor si se utiliza en condiciones de buenas prácticas de fabricación.

Otra práctica bastante frecuente es el uso de antioxidantes como el metabisulfito de sodio, entre otros, para proteger los biofenoles durante la extracción. El metabisulfito de sodio posee un amplio rango de actividades, incluyendo la inhibición competitiva de la polifenoloxidasa y acción antimicrobiana lo cual respalda su utilización en la extracción de biofenoles (Obied et al 2005). Sin embargo, su concentración debe ser cuidadosamente ajustada ya que en exceso podría actuar como agente oxidante o pro-oxidante.

En este contexto es de interés desarrollar un procedimiento para la extracción de los componentes antioxidantes contenidos en el alperujo a fin de aprovechar sus propiedades nutracéuticas en la industria alimenticia. Esto además permitiría disminuir la carga contaminante del alperujo como residuo agrícola. Con este objetivo se planteó un diseño experimental utilizando mezclas de etanol:agua a fin de hallar las condiciones óptimas para el proceso de extracción de biofenoles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Para la realización de los ensayos se utilizaron muestras de alperujo provenientes del procesamiento de aceitunas del cultivar Arbequina cosechadas en 2015 en el partido de Puán (Buenos Aires, Argentina). Las aceitunas fueron procesadas en una PyME mediante un sistema con decantador (centrífuga horizontal) de dos fases y utilizando una temperatura de batido de 25°C durante 45 min. Las muestras de alperujo fueron almacenadas inmediatamente en frío (-20°C) bajo atmósfera de nitrógeno y liofilizadas.

Contenido de humedad y aceite en el alperujo

El contenido acuoso se determinó por diferencia de peso antes y después de la liofilización de las muestras y se expresó en g/100 g alperujo. El contenido de aceite se obtuvo gravimétricamente mediante extracción Sohxlet con hexano y posterior evaporación del solvente en rotoevaporador a temperatura <40ºC bajo vacío. Los resultados se expresaron en (g/100 g alperujo) y fueron reportados tanto en base seca como húmeda.

Las determinaciones analíticas fueron realizadas por triplicado. Los resultados se expresan como valores medios ± intervalo de 95% de confianza.

Diseño experimental y metodología para la recuperación de biofenoles del alperujo

Para la recuperación de los biofenoles del alperujo se utilizó un diseño factorial en dos niveles 2^{4-1} con 4 puntos centrales y dos réplicas (**Tabla 1**). Para el diseño de experimentos se usó el Software Design Expert 7.0.0 Trial y la optimización numérica se realizó usando la función deseabilidad. Se aplicó ANOVA para establecer diferencias significativas entre los factores.

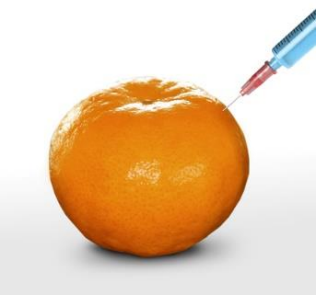


Tabla 2.Factores y niveles del diseño experimental 2^{4-1} (2 réplicas)

Factores	**Niveles**	
A: Volumen solvente (mL)	30 (-1)	50 (+1)
Relación solvente/ alperujo (v/m, mL/g)	3/1	5/1
B: Relación etanol:agua (v/v)	1:1 (-1)	4:1 (+1)
C: pH	2 (-1)	5 (+1)
D: Tiempo de extracción (min)	15 (-1)	120 (+1)

Entre paréntesis se muestran los factores codificados.

La materia prima utilizada para los ensayos experimentales de recuperación de biofenoles fue el alperujo liofilizado y desaceitado. Se utilizó un sistema 'batch' y mezclas de solventes etanol:agua conteniendo 400 mg/L de metabisulfito de sodio (Morelló et al. 2008). Las extracciones se llevaron a cabo en frascos color caramelo de 100 mL con tapa a rosca en un baño termostatizado a 25ºC con agitación magnética. Se colocaron en los frascos 10 g de alperujo liofilizado y desaceitado y las cantidades de solvente indicadas según el experimento. El pH se ajustó con HCl 6 N y se controló con tiras reactivas. Al finalizar el tiempo de extracción las mezclas se centrifugaron durante 5 minutos a 4160 rpm. Se recuperó el sobrenadante y se filtró con papel de filtro para eliminar restos de sólidos en suspensión. El extracto se evaporó a sequedad en rotoevaporador a temperatura <35ºC bajo vacío. Una vez seco, se registró el peso de extracto obtenido, se disolvió en 1 mL de metanol y se conservó a -20°C hasta su análisis.
Las respuestas medidas en los experimentos fueron: a) r**endimiento** de extracción expresado en g de extracto seco de fenoles por cada 100 g de alperujo procesado y b) **fenoles totales** extraídos expresado como g equivalentes de ácido cafeico por kg de alperujo procesado usando el reactivo de Folin-Ciocalteau (Gutfinger 1981, De Marco et al 2007).

Extracciones sucesivas en las condiciones óptimas

Una vez establecidas las condiciones óptimas de extracción se procedió a determinar la cantidad de extracciones necesarias para máximizar el rendimiento de extracción de biofenoles. Partiendo de 10 g de alperujo liofilizado y desaceitado se realizaron 4 extracciones sucesivas con etanol:agua 4:1 (v/v) analizando el volumen óptimo de solvente (50 mL) y un volumen superior (80 mL). Ambas pruebas se realizaron por duplicado a: T= 25°C, pH= 5 y tiempo= 15 min.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de humedad y aceite en el alperujo

En la **Tabla 2** se muestran los contenidos de humedad y aceite en el alperujo utilizado para la realización de los ensayos.

Tabla 3.Contenido porcentual de humedad y aceite en el alperujo

Determinación	**Media ± IC (95 %)**
Humedad (%, m/m)	66,0 ± 0,2
Aceite (**%**, m/m **b.h.)**	5,2 ± 0,3
Aceite (**%**, m/m **b.s.)**	15,2 ± 0,9

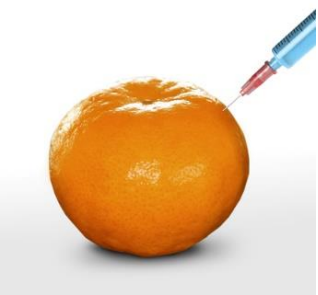
n=3, b.h.= base húmeda, b.s.= base seca.

El alto contenido de humedad de 66% se encuentra dentro de los rangos reportados en la bibliografía (55,6 – 74,5 %) al igual que el contenido de aceite residual (7,75 – 19,46 % m/m b.s.) (Alburquerque et al. 2004).

Diseño experimental

Gráficos de probabilidad semi-normal

En las **Figuras 1** y **2** se muestran los gráficos de probabilidad semi-normal para rendimiento de extracto y



fenoles totales recuperados. Los factores A (volumen de solvente) y B (relación etanol:agua) tienen efectos significativos para ambas respuestas dado que no ajustan a la recta correspondiente a efectos no significativos (ruido, efectos principales no significativos e interacciones no significativas). En ambos casos la interacción (AB) no es significativa. Además, los efectos de los factores C (pH) y D (tiempo de extracción) y de sus interacciones no son significativos.

Como se puede observar, los dos efectos principales significativos (A y B) tienen una contribución positiva indicando que el aumento del volumen de solvente usado en la extracción y el aumento de la relación etanol:agua en la mezcla de extracción potencian ambas respuestas, rendimiento y fenoles totales recuperados (**Figuras 1** y **2**). Sin embargo, el volumen de solvente influencia en forma más significativa el rendimiento de extracto (factor A más alejado de la recta en la **Figura 1**), mientras que, la relación etanol:agua tiene una influencia más significativa sobre los fenoles totales recuperados (factor B más alejado de la recta en la **Figura 2**).

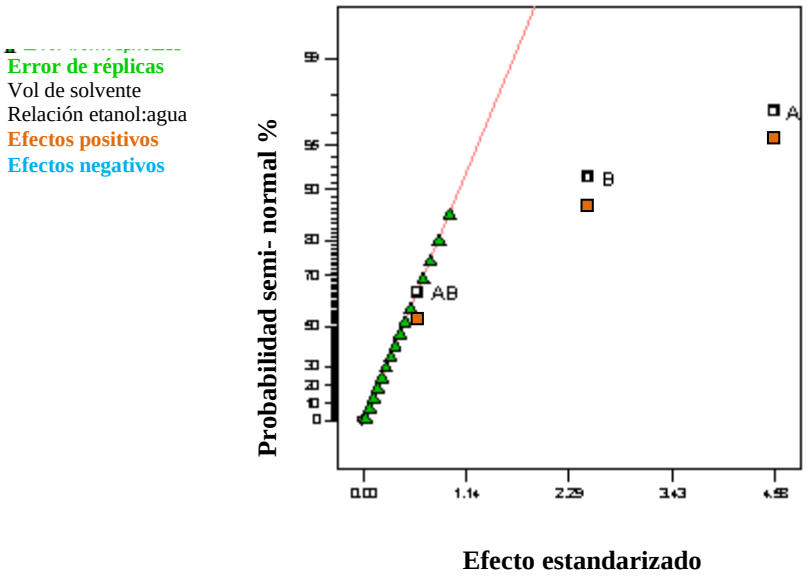


Figura 1. Probabilidad semi-normal para el rendimiento de extracto (g/100g alperujo).

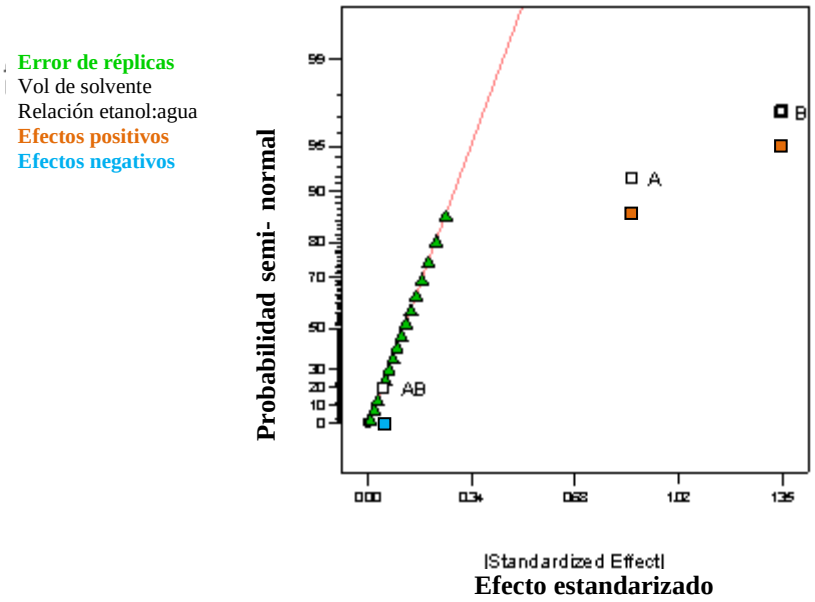
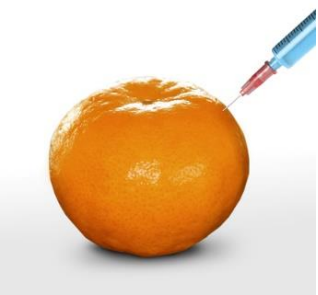


Figura 2. Probabilidad semi-normal para fenoles totales recuperados (g/kg alperujo).

Análisis de varianza

En las **Tablas 3** y **4** se muestran los resultados del ANOVA de los modelos ajustados para los factores significativos. Los modelos propuestos resultaron significativos para ambas respuestas ($p<0,0001$). Además, teniendo en cuenta los valores p, se confirma lo observado en los gráficos de probabilidad semi-normal (**Figuras 1** y **2**). También se observa que en el modelo para rendimiento de extracto es más significativo el factor A (volumen de solvente) por su menor valor p, mientras que en el modelo para el contenido de fenoles totales recuperados resulta más significativa la relación etanol:agua que tiene menor valor p.



A partir de las gráficas de Pareto se pudo confirmar que los factores A y B son significativos con una confianza mayor de 95% ya que ambos superan considerablemente el límite de Bonferroni. También se pudo observar la mayor influencia del factor A en el rendimiento de extracto y del factor B en el contenido de fenoles totales recuperados. Por otro lado, dado que el valor de la interacción entre los factores A y B (positiva para el rendimiento de extracto y negativa para el contenido de fenoles) cae por debajo del límite del valor t se pudo corroborar que ésta no es significativa.

Tabla 3.ANOVA del modelo propuesto para el rendimiento de extracto.

Fuente	SC	GL	CM	F	Prob p > F
Modelo	110,54	3	36,85	21,92	< 0,0001
A: Volumen de solvente	83,86	1	83,86	49,89	< 0,0001
B: Relación etanol:agua	25,21	1	25,21	15,00	0,0015
AB	1,46	1	1,46	0,87	0,3654

Tabla 4.ANOVA del modelo propuesto para los contenidos de fenoles totales recuperados.

Fuente	SC	GL	CM	F	Prob p > F
Modelo	10,34	3	3,45	29,57	< 0,0001
A: Volumen de solvente	2,99	1	2,99	25,65	0,0001
B: Relación etanol:agua	7,34	1	7,34	62,96	< 0,0001
AB	9,883	1	9,88	0,085	0,7749

Modelos predictivos para la extracción sólido/ líquido con etanol:agua

A continuación se presentan las ecuaciones en término de los factores reales correspondientes a rendimiento de extracto (RE, g/100 g de alperujo seco y desaceitado) y fenoles totales recuperados (FT, g/kg de alperujo seco y desaceitado) recuperados en base al análisis estadístico:

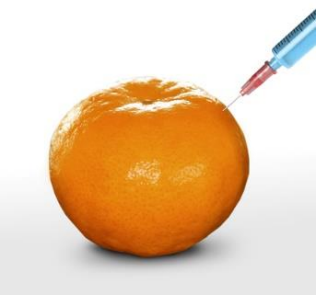
$$RE= -4{,}01365 + 0{,}17852 \times [A] + 0{,}030099 \times [B] + 0{,}020169 \times [AxB] \quad (1)$$

$$FT= -1{,}42979 + 0{,}047367 \times [B] + 0{,}51776 \times [A] - 1{,}66\times10^{2} \times [AxB] \quad (2)$$

En la **Tabla 5** se muestran los valores de los coeficientes del modelo en términos de los factores codificados con sus respectivos intervalos de confianza.

Tabla 5. Valores de los coeficientes en término de los factores codificados.

Factor del coeficiente	Rend. extracto (g/100g)	Fenoles totales (g/kg)
Ordenada al origen	5,22 ± 1,38	1,59 ± 0,37
A: Volumen de solvente	2,29 ± 1,38	0,43 ± 0,36
B: Relación etanol:agua	1,26 ± 1,39	0,68 ± 0,36
AB	0,30 ± 1,38	-0,025 ± 0,37
Punto central	3,32 ± 3,09	0,55 ± 0,82



Optimización

Observando los gráficos de la función deseabilidad para las respuestas individuales y combinadas (**Figuras 3** y **4**) se concluyó que las condiciones óptimas para la extracción son: **Volumen de solvente= 50 mL (relación solvente/ alperujo= 5/1 mL/g)** y **relación etanol:agua (v/v)= 4:1**.

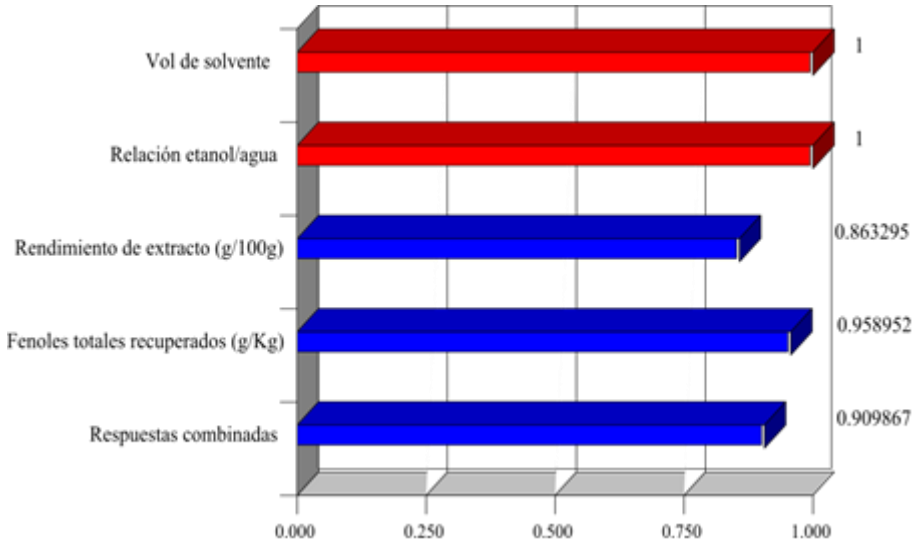


Figura 3. Deseabilidad para las respuestas individuales y combinadas en las condiciones óptimas.

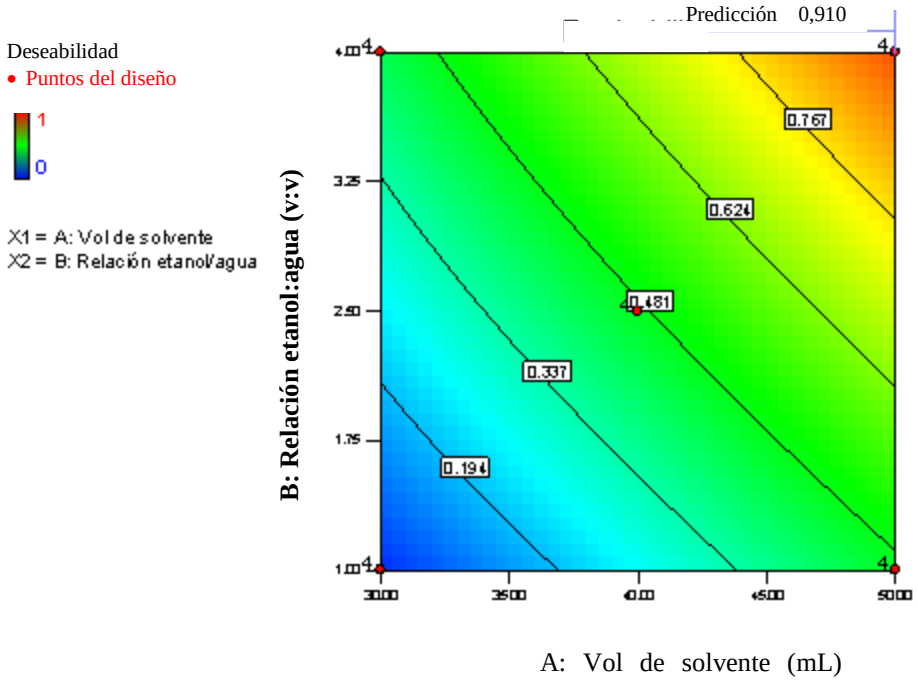
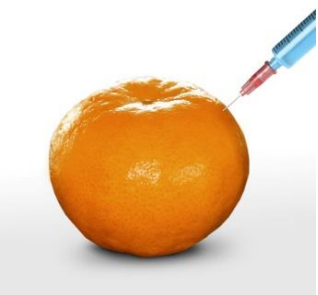


Figura 4. Variación de la deseabilidad para las respuestas combinadas.

Extracciones sucesivas en las condiciones óptimas

En las **Figuras 5** y **6** se muestran los valores de rendimiento de extracto y contenido de fenoles totales



acumulados, en función del número de extracciones, en las condiciones óptimas (A= 50 mL, B= 4:1) y con un volumen de solvente mayor a los propuestos en el diseño experimental (A= 80 mL, B= 4:1).
A partir de estos resultados se puede concluir que 3 extracciones serían suficientes para obtener el máximo rendimiento en las condiciones óptimas y que no es necesario aumentar el volumen de solvente por encima de 50 mL ya que las diferencias entre ambos volúmenes no fueron significativas.
En estas condiciones se podrían obtener unos 200 g de extracto seco por kg de alperujo seco y desaceitado con un contenido de fenoles totales de aproximadamente 5 g. Actualmente se está trabajando en la identificación de los otros componentes presentes en los extractos, tales como azúcares y azúcares alcoholes y se están realizando pruebas para medir su poder antioxidante.

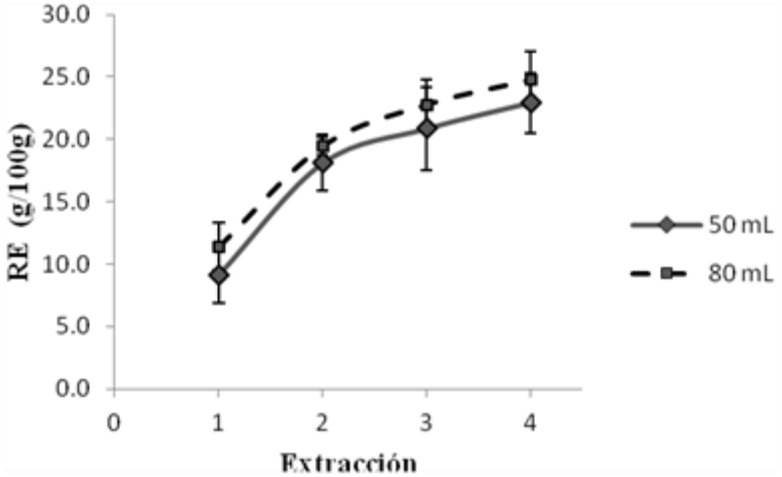


Figura 5. Rendimiento de los extractos recuperados por extracciones sucesivas a 50 y 80 mL.

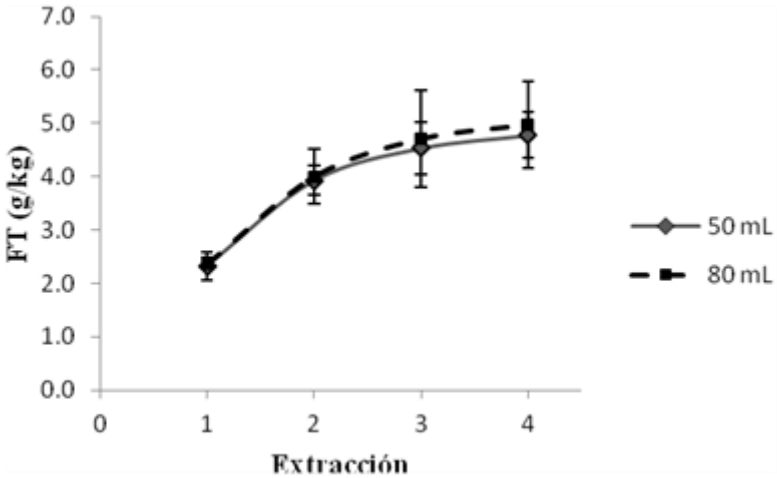


Figura 6. Fenoles totales en los extractos recuperados por extracciones sucesivas a 50 y 80 mL.

CONCLUSIONES

La recuperación de biofenoles de alperujo mediante extracciones sucesivas con etanol:agua resultó efectiva permitiendo obtener extractos con un uso potencial como antioxidantes naturales en alimentos. Por otro lado, dado que los solventes y condiciones de extracción utilizadas no presentan un riesgo considerable durante su

manipulación y que las extracciones múltiples pueden realizarse mediante el reciclaje del solvente podría ser factible la adaptación del método para su implementación a escala industrial. De esta manera, además de recuperar productos de alto valor agregado se estaría reduciendo la carga contaminante de los residuos de la industria olivícola.

BIBLIOGRAFÍA

Alburquerque JA, Gonzálvez J, García D, Cegarra J. 2004. Agrochemical characterisation of ‘‘alperujo’’, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. Bioresource Technology, 91: 195–200.

Aruoma OI. 2003. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 523: 9-20.

De Marco E, Savarese M, Paduano A, Sacchi R. 2007. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. Food Chemistry, 104: 858-867.

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

Morelló J, Vuorela S, Romero M, Motilva M, Heinonen M. 2005. Antioxidant activity of olive pulp and olive oil phenolic compounds of the Arbequina cultivar. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 2002-2008.

Mussio DF, Ceci LN, Carelli AA. 2015. Biofenoles en las corrientes de procesamiento de aceite de oliva virgen. En: Penci C, Ribotta PP. Andreatta A, Rosmini M, editores. Trabajos completos del V CICYTAC 2014. Investigaciones y avances en ingeniería de los alimentos. 1ª ed. Córdoba: Ministerio de Industria, Comercio, Minería y Desarrollo Científico Tecnológico. Secretaría de Ciencia y Tecnología, pag 129-135.

Nasini L, Gigliotti G, Balduccini MA, Federici E, Cenci G, Proietti P. 2013. Effect of solid olive-mill waste amendment on soil fertility and olive (*Olea europaea*) tree activity. Agriculture, Ecosystems & Environment, 164: 292-297.

Obied H, Allen M, Bedgood D, Prenzler P, Robards K. 2005. Investigation of Australian olive mill waste for recovery of biophenols. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 9911-9920.

Romero C, Brenes M, García P, Garrido A. 2002. Hydroxytyrosol 4-β-D-glucoside, an important phenolic compound in olive fruits and derived products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 3835-3839.

Soberón LF, González MT, Carelli AA, Ceci LN. 2013. Recuperación de biofenoles de alperujo de Arbequina a escala laboratorio. En: Penci C, Ribotta PP. Andreatta A, Giner SA, Rosmini M, editores. Trabajos completos del IV CICYTAC 2012. Ingeniería y tecnología. 1ª ed. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba, pag 277-281.

Suárez M, Romero MP, Motilva MJ. 2010. Development of a phenol-enriched olive oil with phenolic compounds from olive cake. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 10396-10403.

Visioli F, Bogani P, Grande S, Galli C. 2005. Mediterranean food and health: building human evidence. Jornal of Physiology and Pharmacology, 56: 37-49.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, PIP (2013) 243), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), la Universidad Nacional del Sur (UNS, PGI 24/M132).

Estabilidad coloidal de sistemas concentrados constituidos por micelas de caseína mediante reometría dinámica

Olivares M.L., Berli C.L.A., Zorrilla S.E.

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

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar el potencial de interacción entre micelas de caseína (MC) en sistemas concentrados a través de la interpretación reológica de datos experimentales obtenidos por reometría dinámica. A partir de barridos de frecuencia (0.01 a 1 Hz) en dispersiones de MC a distintas concentraciones se obtuvieron los módulos elásticos a alta frecuencia ( ) mediante ajuste de los datos experimentales con un modelo de Maxwell. Los potenciales de interacción entre MC ( ) se obtuvieron a partir de los valores de utilizando el modelo de Buscall. Asimismo, a partir de valores de obtenidos con predicciones teóricas del tipo DLVO propuestas para MC y para partículas coloidales estabilizadas estéricamente, se obtuvieron los valores de aplicando también el modelo de Buscall. Se observó que los módulos obtenidos de datos experimentales coinciden con las predicciones teóricas propuestas para MC. Así, esta metodología de análisis permite predecir la estabilidad de leches concentradas a través de reometría dinámica y generar bases científicas para nuevos desarrollos relacionados con la industria láctea.

Palabras clave: concentrados de leche, micelas de caseína, potencial de interacción, reometría dinámica.

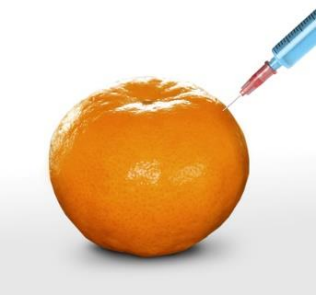
ABSTRACT

The objective of this work was to determine the pair interaction potential between casein micelles (MC) in concentrated systems through rheological interpretation of dynamic experimental data. From frequency sweeps (0.01 to 1 Hz) in CM dispersions at different concentrations, the elastic moduli at high frequencies ( ) were obtained by fitting the experimental data using a Maxwell model. From the values of , the pair interaction potentials between MC ( ) were obtained using the Buscall model. In addition, from values of obtained with DLVO-type theoretical predictions proposed for MC and for sterically stabilized colloidal particles, values were obtained applying also the Buscall model. It was observed that moduli obtained from experimental data are in agreement with theoretical predictions proposed for CM. Therefore, this methodology of analysis allows predicting stability of milk concentrates through dynamic rheometric data and to generate scientific bases for new developments related to the dairy industry.

Keywords: concentrated milks, casein micelles, interaction potential, dynamic rheometry.

INTRODUCCIÓN

La leche es una dispersión coloidal diluida compuesta fundamentalmente por micelas de caseína (MC) y grasa. Estas micelas se encuentran dispersas en una fase continua compuesta fundamentalmente por agua, sales, lactosa y proteínas de suero (Walstra 2006). Las MC están formadas por la asociación de cuatro caseínas (α_{s1}-, α_{s2}-, β- y κ-caseínas). Estas proteínas se organizan en la estructura micelar en función de su carácter hidrofílico o hidrofóbico. A pesar de que la estructura interna de las MC es todavía un tema controversial, existe consenso en considerar que la mayoría de las κ-caseínas se encuentran presentes sobre la superficie de las micelas y forman una capa o "cepillo" extendiendo su porción C-terminal hacia el suero. Esta organización genera la conocida estabilización estérica (Horne 2006, Horne 2009, Dalgleish 2011, Dalgleish y Corredig 2012).



Cuando la leche descremada es concentrada, la presencia de las MC tiene un impacto crucial sobre las propiedades macroscópicas y funcionales de los productos obtenidos (Liu et al. 2012). Sin embargo, la información sobre cómo las MC se comportan y actúan recíprocamente en tales regímenes concentrados es todavía escasa (Bouchoux et al. 2009, Dahbi et al. 2010, Dalgleish y Corredig 2012, Qu et al. 2015). La concentración de la leche descremada es una operación unitaria importante en varias etapas del procesamiento de la leche. En particular, la producción de leche en polvo requiere de una etapa previa de concentración hasta un 40-50% de sólidos totales. Por lo tanto, resulta relevante analizar el efecto de la concentración sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la leche.
La reología es una buena herramienta para estudiar la microestructura de suspensiones y para ejecutar un adecuado control de calidad de productos de naturaleza coloidal. Cuando se aplica una deformación oscilatoria de pequeña amplitud, la microestructura del material bajo estudio es mínimamente perturbada. En estas condiciones, los parámetros reológicos permiten obtener información referente a la energía interpartícula y a la estructura coloidal. El objetivo de este trabajo fue determinar el potencial de interacción entre MC en concentrados constituidos por MC a través de interpretación reológica de datos experimentales obtenidos por reometría dinámica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estructura de las MC

Para este análisis se consideró a las MC con una estructura simple compuesta por una zona central (core) de radio a con un cepillo de κ-caseínas de longitud *H*. Así, el radio hidrodinámico de las partículas es $a_H = a + H$ (Olivares et al. 2013, 2016). Se utilizó un valor de $a_H =$ 71.3 nm y de *H*= 4.9 nm (Tuinier y de Kruif 2002; de Kruif et al. 2012). La distancia promedio entre los centros de las partículas se relaciona con la fracción volumétrica de la zona central ϕ_p de la siguiente forma,

$$R = 2a\left(\phi_m / \phi_p\right)^{1/3} \quad (1)$$

donde ϕ_m es la fracción volumétrica de máximo empaque. Asimismo, la fracción volumétrica ϕ es,

$$\phi = \phi_p \left(a_H / a\right)^3 \quad (2)$$

Obtención de G'_∞ a partir de datos experimentales

A partir de barridos de frecuencias de dispersiones de MC reportadas en la literatura (Bouchoux et al. 2009, Olivares et al. 2016) se obtuvieron los valores de G'_∞ para distintas fracciones volumétricas con el modelo generalizado de Maxwell. Para las regresiones se utilizaron las expresiones para los módulos de almacenamiento elástico $G'\left(\omega_j\right)$ y de disipación viscosa $G''\left(\omega_j\right)$ (Bird et al. 1987):

$$G'\left(\omega_j\right) = \sum_{k=1}^{N} \frac{G'_{\infty,k} \lambda_k^{\,2} \omega_j^{\,2}}{1 + \left(\lambda_k \omega_j\right)^2} \quad (3)$$

$$G''\left(\omega_j\right) = \sum_{k=1}^{N} \frac{G'_{\infty,k} \lambda_k \omega_j}{1 + \left(\lambda_k \omega_j\right)^2} \quad (4)$$

Los parámetros de regresión $G'_{\infty,k}$ se obtuvieron utilizando el complemento *Solver* de Microsoft Excel 2010, con el algoritmo *Evolutionary* que permite obtener mínimos totales de las funciones evaluadas. El módulo elástico a alta frecuencia resulta:

$$G'_{\infty} = \sum_{k=1}^{N} G'_{\infty,k} \quad (5)$$

λ_k son los tiempos de relajación de la dispersión. Estos tiempos de relajación se seleccionaron considerando intervalos de décadas. El mayor tiempo de relajación $\lambda_{\max}$ se eligió teniendo en cuenta la condición $\lambda_{\max}\omega_{\min} > 1$ donde $\omega_{\min}$ es la menor frecuencia para la cual se obtuvieron los datos experimentales. El menor tiempo de relajación $\lambda_{\min}$ se eligió teniendo en cuenta la condición $\lambda_{\min}\omega_{\max} < 1$ donde $\omega_{\max}$ es la mayor frecuencia para la cual se obtuvieron los datos experimentales. Los datos experimentales obtenidos por Olivares et al. (2016) fueron ajustados con el modelo de Maxwell espectrado de tres términos fijando como tiempos de relajación $\lambda_1 = 1$ s, $\lambda_2 = 10$ s y $\lambda_3 = 100$ s. Los datos experimentales obtenidos por Bouchoux et al. (2009) fueron ajustados con el modelo de Maxwell espectrado de cuatro términos fijando como tiempos de relajación $\lambda_1 = 0.1$ s, $\lambda_2 = 1$ s, $\lambda_3 = 10$ s y $\lambda_4 = 100$ s. La regresión de los módulos para cada tiempo de relajación fue llevada a cabo minimizando la diferencia entre los valores experimentales ($G'_{j,\exp}$, $G''_{j,\exp}$) y estimados ($G'_{(\omega_j)est}$, $G''_{(\omega_j)est}$):

$$\sum_{j=1}^{N} \left\{ \left[\frac{G'_{(\omega_j)est}}{G'_{j,\exp}} - 1 \right]^2 + \left[\frac{G''_{(\omega_j)est}}{G''_{j,\exp}} - 1 \right]^2 \right\} \quad (6)$$

Las fracciones volumétricas de las dispersiones reportadas por Bouchoux et al. (2009) se estimaron utilizando el valor de voluminosidad de las MC reportado por estos autores (4.4 mL/g).

Obtención del módulo G'_{∞} para dispersiones de MC a partir de un modelo reológico

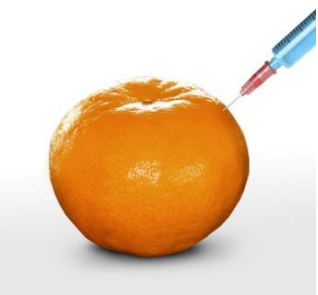
El cambio del módulo elástico a alta frecuencia (G'_{∞}) con la fracción volumétrica permite analizar la evolución del potencial de interacción a medida que disminuye la distancia interpartícula (Mewis y Wagner 2012). Para sistemas compuestos de partículas con fuerzas fuertemente repulsivas se han propuesto distintas expresiones que permiten correlacionar G'_{∞} con el potencial de interacción interpartícula $U(R)$ (Buscall 1991, Berli y Quemada 2000). En el presente análisis se usó la ecuación obtenida por Buscall (1991),

$$G'_{\infty} = \frac{N\phi_m}{5\pi R} \frac{\partial^2 U(R)}{\partial R^2} \quad (7)$$

donde $\phi_m = 0.68$ es la fracción volumétrica de máximo empaque reportada para MC (Nöbel et al. 2012) y $N = 7.5$ es el número de partículas vecinas en un estado desordenado (Mewis y Wagner 2012). Se obtuvieron valores de G'_{∞} a partir de una predicción de energía potencial de interacción propuesta para MC, la cual considera la contribución de las energías potenciales de interacción de van der Waals ($U_{vdW}(R)$), electrostática ($U_{el}(R)$) y estérica ($U_{es}(R)$) (Tuinier y de Kruif, 2002, Olivares et al. 2013),

$$U_T(R) = U_{vdW}(R) + U_{el}(R) + U_{es}(R) \quad (8)$$

Las expresiones de cada energía potencial de interacción constan en detalle en la bibliografía antes mencionada. Asimismo, se obtuvieron valores de G'_{∞} a partir de una predicción de energía potencial de



interacción propuesta para partículas estabilizadas estéricamente (Berli y Quemada 2000, Israelachvili 2011),

$$U(R) = Ak_B Te^{-[\pi(R-2a)/H]} \quad (9)$$

donde A es una constante relacionada con la longitud H y la distancia media δ entre cada cadena de polímero (en este caso, cada molécula de κ-caseína).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Figura 1** muestra barridos de frecuencia típicos de dispersiones de MC. Los símbolos son resultados experimentales obtenidos por Olivares et al. (2016) y Bouchoux et al. (2009). Todas las dispersiones analizadas presentaron valores de G' mayores que G'', sin exhibir puntos de cruce. Ambos módulos aumentan con la frecuencia, indicando propiedades elásticas dominantes y características de geles débiles. La dependencia con la frecuencia de los módulos sugiere la existencia de fenómenos de relajación que ocurren aún a escalas de tiempos cortos y la pequeña diferencia entre los módulos indica que un bajo porcentaje de la energía almacenada es recuperada (Lopes da Silva y Rao 1999). Las líneas en la **Figura 1** representan los valores obtenidos a través del modelo de Maxwell (Ecuaciones 3 y 4).

Los valores de G'_∞ para las distintas dispersiones analizadas se muestran en la **Tabla 1**. Se observa que a medida que aumenta la fracción volumétrica de MC, los G'_∞ aumentan, indicando que cuando la distancia entre MC disminuye, las dispersiones adquieren mayor elasticidad.

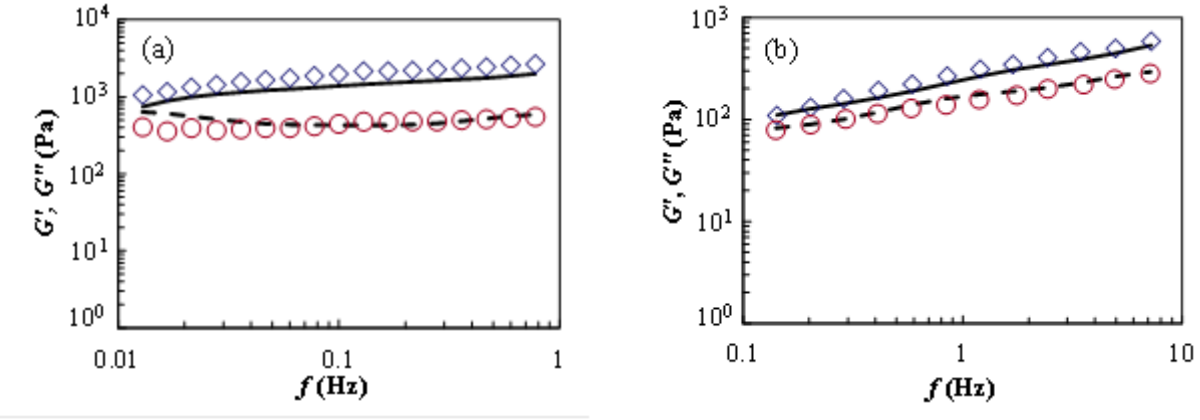


Figura 1. Barridos de frecuencia de dispersiones de MC: (a) Concentrado de leche descremada con una fracción volumétrica de MC ϕ =0.723 (Olivares et al. 2016), (b) Dispersiones de MC con una fracción volumétrica ϕ = 0.783 (Bouchoux et al. 2009). Los símbolos son valores experimentales: (◊) G', (○) G''. Las líneas sólidas son las predicciones de $G'(\omega)$ y las líneas de trazos son las predicciones de $G''(\omega)$ obtenidas con el modelo de Maxwell.

En la **Tabla 1**, se presentan los valores de U/k_BT obtenidos a partir de los valores experimentales de G'_∞. Se obtuvieron valores similares de U/k_BT a partir ambos conjuntos de datos experimentales. Se observa que U/k_BT aumenta a medida que la fracción volumétrica de MC aumenta, indicando que a medida que la distancia entre MC disminuye, las fuerzas repulsivas interpartículas aumentan.

Tabla 1. Valores de G'_∞ y de U/k_BT para las distintas dispersiones de MC analizadas.

Datos experimentales	ϕ	G'_∞ (Pa)	U/k_BT
Olivares et al. (2016)	0.689	2872	0.74
T = 298 K	0.723	4058	1.03
	0.758	9011	2.26
Bouchoux et al. (2009)	0.708	54	0.01
T = 293 K	0.783	899	0.23

La **Figura 2** se presenta como comprobación cruzada de valores del módulo elástico a altas frecuencias adimensional en función de la fracción volumétrica de MC obtenidos a partir de datos experimentales y con las predicciones teóricas que involucran expresiones de potenciales de interacción propuestas para MC y para partículas estabilizadas estéricamente. La coincidencia de las predicciones teóricas con los valores experimentales de G'_∞ indica que el modelo de Buscall es apropiado para explicar el comportamiento reológico de sistemas concentrados constituidos por MC en experimentos de reometría dinámica.

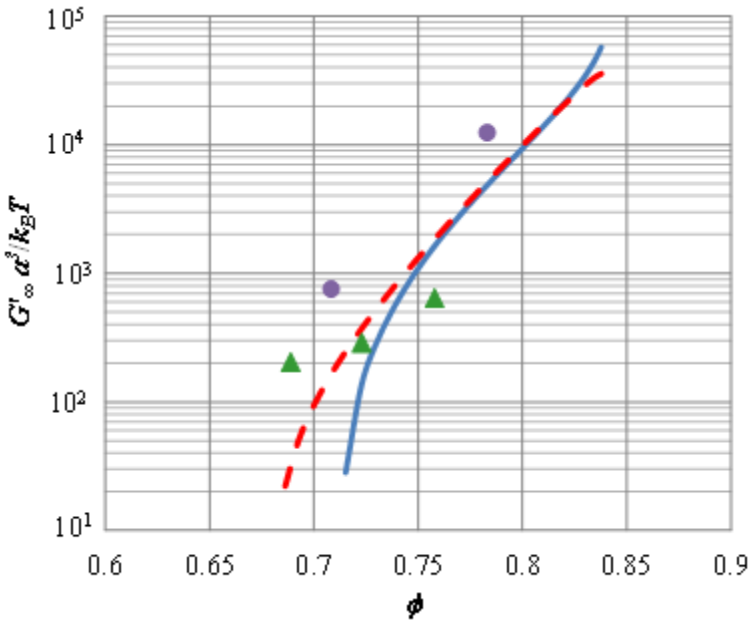


Figura 2. Módulo elástico a altas frecuencias adimensional en función de la fracción volumétrica de MC. Los símbolos son valores experimentales: (●) Bouchoux et al. (2009), (▲) Olivares et al. (2016). Las líneas sólida y de trazos corresponden a valores obtenidos con predicciones teóricas de potenciales de interacción propuestas para MC (Tuinier y de Kruif 2002) y para partículas estabilizadas estéricamente (Berli y Quemada 2000, Israelachvili 2011), respectivamente.

CONCLUSIONES

En este trabajo se obtuvieron satisfactoriamente los potenciales de interacción entre MC en sistemas concentrados a partir de datos experimentales obtenidos por reometría dinámica. La metodología de análisis

propuesta permitiría a su vez resolver el problema inverso: predecir el comportamiento viscoelástico del material conociendo los potenciales de interacción interpatícula. La coincidencia de las predicciones teóricas utilizando el modelo de Buscall con los valores experimentales de G'_{∞} sugiere que en sistemas concentrados las MC adoptan un estado desordenado.

BIBLIOGRAFÍA

Berli CLA, Quemada D. 2000. Rheological modeling of microgel suspensions involving solid-liquid transition. Langmuir, 16:7968–7974.

Bird, RB, Hassager O, Armstrong RC, Curtiss CF. 1987. Dynamics of Polymeric Liquids. Vol 1. New York: John Wiley and Sons. pág 273.

Bouchoux A, Debbou B, Gésan-Guiziou G, Famelart M-H, Doublier J-L, Cabane B. 2009. Rheology and phase behavior of dense casein micelles dispersions. J Chem Phys, 131:165106-1-11.

Buscall R. 1991. Effect of long-range repulsive forces on the viscosity of concentrated lattices: comparison of experimental data with an effective hard-sphere model. J. Chem. Soc. Faraday Trans, 87(9):1365-1370.

Dahbi L, Alexander M, Trappe V, Dhont JKG, Schurtenberger P. 2010. Rheology and structural arrest of casein suspensions. J Colloid Interf Sci, 342:564–570.

Dalgleish DG, Corredig M. 2012. The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. Annu Rev Food Sci Technol, 3:449–467.

Dalgleish DG. 2011. On the structural models of bovine casein micelles—review and possible improvements. Soft Matter, 7:2265–2272.

de Kruif CG, Huppertz T, Urban VS, Petukhov AV. 2012. Casein micelles and their internal structure. Adv Colloid Interfac, 171–172:36–52.

Horne DS. 2006. Casein micelle structure: models and muddles. Curr Opin Colloid In, 11:148–153.

Horne DS. 2009. Casein micelle structure and stability. En: Thompson A, Boland M, Singh H (eds) Milk proteins from expression to food. San Diego: Academic Press. pág 133–179.

Israelachvili J. 2011. Intermolecular & Surface Forces. 3ra ed. London: Academic Press. pág 138.

Liu DZ, Dunstan DE, Martin GJO. 2012. Evaporative concentration of skimmed milk: effect on casein micelle hydration, composition, and size. Food Chem, 134:1446–1452.

Lopes da Silva JA, Rao MA. 1999. Rheological behavior of food gel systems. En: Rao MA (ed) Rheology of fluid and semisolid foods: principles and applications. Gaithersburg: Aspen Publishers Inc. pág 319–368.

Mewis J, Wagner NJ. 2012. Colloidal Suspension Rheology. Cambridge: Cambridge University Press. pág 144.

Nöbel S, Weidendorfer K, Hinrichs J. 2012. Apparent voluminosity of casein micelles determined by rheometry. J Colloid Interf Sci, 386:174–180.

Olivares ML, Achkar NP, Zorrilla SE. 2016. Rheological behavior of concentrated skim milk dispersions as affected by physicochemical conditions: change in pH and CaCl2 addition. Dairy Science & Technology, 96: 525-538.

Olivares ML, Berli CLA, Zorrilla SE. 2013. Rheological modelling of dispersions of casein micelles considered as microgel particles. Colloids Surf A, 436:337–342.

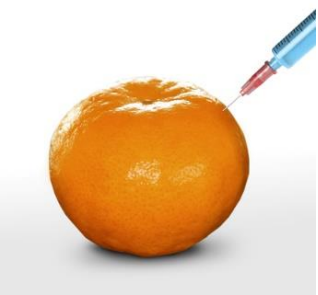
Qu P, Bouchoux A, Gésan-Guiziou G. 2015. On the cohesive properties of casein micelles in dense systems. Food Hydrocoll, 43:753–762.

Tuinier R, de Kruif CG. 2002. Stability of casein micelles in milk. J Chem Phys, 117(3):1290–1295.

Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ. 2006. Dairy Science and Technology. 2da ed. Boca Raton: CRC Press. pág 11.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas



(CONICET), la Universidad Nacional del Litoral (UNL) y por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica.

Caracterización de la estabilidad de emulsiones preparadas con partículas de almidón de arroz químicamente modificado

Rasia M.C.[1], Castagnini J.M.[1], Capodoglio D.L.[1],
Tisocco O.D.[1], Zorrilla S.E.[2]

[1] Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Entre Ríos, Argentina.
[2] INTEC, CONICET - Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina
rasiam@fcal.uner.edu.ar

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar la estabilidad de emulsiones preparadas a partir de almidones nativos y químicamente modificados de dos variedades de arroz y aceite esencial de mandarina verde. Se prepararon las emulsiones utilizando el almidón nativo y su forma modificada de las variedades YERUA y GURI. Se analizaron el índice de emulsificación (EI) y la distribución del tamaño de partícula. Se estudiaron emulsiones considerando diferentes concentraciones de almidón (50, 100, 150, 200 mg/mL) y tiempos de almacenamiento (1 h; 1, 4 y 7 días). Los almidones nativos resultaron ineficientes para la estabilización de las emulsiones. El EI aumentó con la concentración de almidón modificado, obteniéndose el mayor valor (0,71 ± 0,05) para 200 mg/mL de YERUA y el menor valor (0,42 ± 0,01) para 50 mg/mL de GURI. Para todas las concentraciones, se observó que el EI se mantuvo constante a partir de 1 día de almacenamiento. El diámetro promedio de volumen (D4,3) fue afectado significativamente por todos los factores estudiados, mientras que la media volumen/superficie (D3,2) no fue afectada por el tipo de almidón. El D4,3 disminuyó con el aumento en la concentración de almidón al igual que el D3,2. En general, ambos parámetros se mantuvieron constantes con el tiempo de almacenamiento.

Palabras claves: Almidón de arroz, almidón modificado con OSA, aceite esencial de mandarina verde, emulsión, estabilidad.

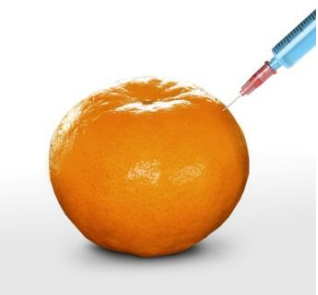
ABSTRACT

The aim of this work was to study the stability of emulsions prepared from natives and chemically modified starches of two varieties of rice and green mandarin essential oil. The emulsions were prepared using native starch and modified starch of the varieties YERUA and GURI. Emulsification index (EI) and particle size distribution were analyzed. Emulsions were studied considering different starch concentrations (50, 100, 150, 200 mg / mL) and storage times (1 h; 1, 4 and 7 days). Native starches were inefficient in stabilizing emulsions. IE increased with the concentration of modified starch, the highest value (0.71 ± 0.05) being obtained for 200 mg / mL of YERUA and the lowest value (0.42 ± 0.01) for 50 mg / mL GURI. For all concentrations, it was noted that IE remained constant after 1-day storage. The volume mean diameter (D4,3) was significantly affected by all studied factors, while the volume/surface mean diameter (D3,2) was not affected by the type of starch. The D4,3 decreased when starch concentration increased similarly as the D3,2. In general, both parameters remained constant with the storage time.

Keywords: Rice starch, OSA modified starch, green mandarin essential oil, emulsion, stability.

INTRODUCCIÓN

El arroz es una materia prima de gran producción en la provincia de Entre Ríos. La industria en esta provincia se desarrolla en 19 molinos, en los cuales se obtiene más del 80% del total nacional del arroz procesado (Ministerio de Agroindustria 2016). Durante el procesamiento de arroz, se descascara el grano



entero y se procesa hasta obtener el arroz pulido, que es el producto que más se consume. Del grano de arroz se pueden obtener otros productos con mayor valor agregado tal como el almidón. El almidón de arroz tiene excelentes características organolépticas ya que es blanco, no tiene olor ni sabor y no genera problemas alergénicos. Sin embargo, su utilización en la industria en su forma nativa es limitada dada su baja estabilidad ante las condiciones de los procesos durante la producción de alimentos, tales como altas temperaturas, fuerzas de cizalla, pH y refrigeración. Para superar esta desventaja, el almidón puede ser químicamente modificado por un tratamiento con anhídrido octenil succínico (OSA). El grupo hidrofóbico octenil aumenta la afinidad de los almidones por los aceites. Los almidones modificados con OSA (E1450) están aprobados para aplicaciones alimenticias con un grado de modificación de hasta 3% basado en el peso seco del almidón (Rayner et al. 2012). Se ha estudiado su uso en la preparación de emulsiones (Bello-Pérez et al. 2015, Marefati et al. 2013, Marefati et al. 2015, Song et al. 2015) y en la encapsulación de compuestos lábiles (Cano-Higuita et al. 2015, Carneiro et al. 2013, Malacrida et al. 2015).

Una aplicación en creciente estudio es la utilización de estos almidones modificados en las emulsiones estabilizadas por partículas sólidas, llamadas emulsiones Pickering (Bello-Pérez et al. 2015, Song et al. 2014, Song et al. 2015, Timgren et al. 2013). Éstas resultan más estables a los mecanismos de inestabilidad tales como coalescencia y maduración de Ostwald, respecto a los sistemas estabilizados por surfactantes. Se cree que la razón para el aumento de estabilidad observado en las emulsiones Pickering es que las partículas previenen la interacción interfacial por exclusión de volumen, es decir, las partículas crean una barrera física previniendo el contacto entre las gotas. Esto no es diferente de otros emulsificantes tales como hidrocoloides y proteínas; sin embargo, una vez que las partículas se adsorben a la interfase aceite-agua quedan efectivamente atrapadas allí debido a su tamaño y su humectabilidad parcial (Rayner et al. 2012). Con esta finalidad, se han realizado estudios con almidones de distinto origen vegetal (Timgren et al. 2013) y se ha estudiado su aplicación en la formación de emulsiones con compuestos oleosos modelo (Marefati et al. 2013, 2015, Song et al. 2015). En este trabajo, el propósito de la estabilización es desarrollar procedimientos adecuados para la protección de aceite esencial de mandarina verde, otra materia prima de interés regional a la que también se pretende dar mayor valor agregado.

La mayor cantidad de cítricos cultivados en el NEA de la República Argentina son mandarinas (49%) y naranjas (47%) del total de la región. Se observa además un crecimiento (7%) en los últimos años en la cantidad de mandarinas producidas tanto para consumo como fruta destinada a la industria (INTA 2015). De los aceites esenciales producidos en la industria local, el aceite de mandarina de “raleo” (o mandarinas verdes) se destaca por su precio, siendo aproximadamente 5 a 10 veces mayor que el del aceite de limón; esto se debe a la calidad de los aromas conseguidos con este aceite como materia prima. Actualmente es producido y almacenado en tambores en cámaras de frío y luego es comercializado a granel. Como todos los aceites esenciales, está constituido por mezclas complejas de hidrocarburos, compuestos oxigenados y residuos volátiles, esto lo hace muy inestable a los factores externos como la temperatura, el oxígeno y la luz. El objetivo de este trabajo fue estudiar la estabilidad de distintas emulsiones preparadas a partir de almidones nativos y químicamente modificados de dos variedades de arroz y aceite esencial de mandarina verde.

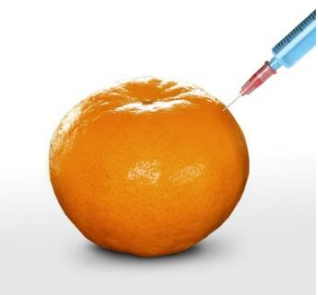
Materiales y Métodos

Materiales

Se usaron las variedades de arroz YERUA PA y GURI INTA CL cultivadas en la zona de Concordia (Entre Ríos, Argentina) y provistas por Dos Hermanos S.A. (Concordia, Argentina). La variedad GURI INTA CL es de grano largo fino y se caracteriza por tener alto contenido en amilosa y baja temperatura de gelatinización. La variedad YERUA PA es de grano largo ancho y tiene baja amilosa y baja temperatura de gelatinización. El aceite esencial de mandarina verde fue provisto por Litoral Citrus S.A. (Concordia, Argentina). El anhídrido octenil succínico fue adquirido de Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich de Argentina S.R.L., Buenos Aires, Argentina). Los demás reactivos utilizados fueron de grado analítico.

Extracción del almidón de arroz

La extracción del almidón de arroz consiste en separar las proteínas presentes de los gránulos de almidón. La



mayoría de las proteínas del arroz son solubles en álcali (Singh Sodhi y Singh 2003) por lo que se utilizó el método de extracción con álcali con algunas modificaciones. Este método consiste en sumergir harina de arroz en una solución de NaOH 0,25% en una relación 1:5 durante 24 h. Luego el sobrenadante es descartado y se completa el volumen nuevamente con solución. Se agita por 10 min y se deja decantar hasta el día siguiente. Este paso es repetido 6 veces para asegurar una completa remoción de las proteínas. Por último, el almidón se neutraliza con una solución diluida de HCl y se seca en estufa a 40°C. Luego del secado, se muele y se tamiza.

Modificación química del almidón de arroz con OSA

La modificación química consistió en suspender 100 g de almidón de arroz en agua destilada en constante agitación. Se ajustó el pH a 8,5 por adición de una solución de NaOH 3%. La suspensión se llevó a 35°C y se mantuvo a esta temperatura durante la reacción. Un volumen de OSA correspondiente al 3% respecto del almidón, diluído 1:3 en alcohol absoluto, se agregó lentamente (dosificando durante 2 h). El tiempo de reacción fue de 4 h. Finalizado este tiempo, se ajustó el pH a 6,5 con una solución de HCl 3%. La mezcla fue lavada dos veces con agua destilada y dos veces con etanol al 70%, centrifugada y secada en estufa a 40°C durante 24 h. Por último, se molió y se pasó por un tamiz de 44 μm.

Preparación de las emulsiones

Las emulsiones fueron preparadas tomando como referencia los trabajos de Bello-Pérez et al. (2015) y Timgren et al. (2013). Como fase continua se utilizó un buffer de fosfato (5 mM, pH 7, con NaCl 0,2 M) y como fase dispersa, aceite esencial de mandarina verde. La relación fase dispersa:fase continua fue de 1:2. El almidón tanto nativo como modificado se agregó en cuatro niveles de concentración: 50, 100, 150 y 200 mg de almidón por mL de aceite. Para homogeneizar las dos fases se utilizó un homogeneizador Ultraturrax IKA T18 (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Alemania) a 11000 rpm durante 2 min. Las emulsiones fueron preparadas por duplicado.

Índice de emulsificación

Las emulsiones, inmediatamente después de formadas, se colocaron en una probeta graduada de 50 mL y se determinó el índice de emulsificación (EI) mediante el método de separación gravitacional (McClements 2007). Durante el tiempo de almacenamiento (1 hora; 1, 4 y 7 días) se determinó el volumen de cremado y se calculó el IE como la relación entre el volumen de la capa de cremado y el volumen total de emulsión (Ecuación 1). Se determinó un valor de EI para cada emulsión preparada.

$$EI = \frac{Volumen\ de\ la\ capa\ de\ cremado}{Volumen\ total\ de\ la\ emulsión} \qquad (1)$$

Distribución del tamaño de la gota

La determinación del tamaño de la gota se realizó por difracción láser utilizando un equipo Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido). Para la emulsión se usó agua como agente dispersante. La velocidad de bombeo fue de 1900 rpm. Se usó como índice de refracción de las emulsiones 1,474 y 1,33 para el agente dispersante. Los resultados fueron expresados como el diámetro promedio de volumen (D4,3) y la media volumen/superficie (D3,2). Estas determinaciones se realizaron durante el tiempo de almacenamiento (1 hora; 1, 4 y 7 días) para evaluar la evolución del tamaño de la gota en el tiempo. Las determinaciones se realizaron por duplicado para cada emulsión preparada.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos experimentales se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido por un test de comparación de medias. Todas las comparaciones fueron realizadas con un nivel de confianza del 95%. Los datos fueron expresados como media y la desviación estándar de dos experimentos. Se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, Inc., Virginia, Estados Unidos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las **Figuras 1** y **2**, se muestran las emulsiones preparadas con los almidones nativos luego de 1 h y con 7

días de almacenamiento. Se puede observar que los almidones nativos resultaron ineficientes para estabilizar las emulsiones, lo que puede deberse a su escasa hidrofobicidad. Si bien para la variedad YERUA se observa un cierto grado de emulsificación (para las concentraciones de 150 y 200 mg/mL), en los demás casos estudiados, las emulsiones se separaron en dos fases inmediatamente después de formadas. Se puede observar claramente que en la parte superior se separó el aceite esencial y en el fondo del tubo, el almidón precipitó. Además puede observarse que la separación de las fases en las emulsiones más concentradas de la variedad YERUA aumenta con el tiempo de almacenamiento.

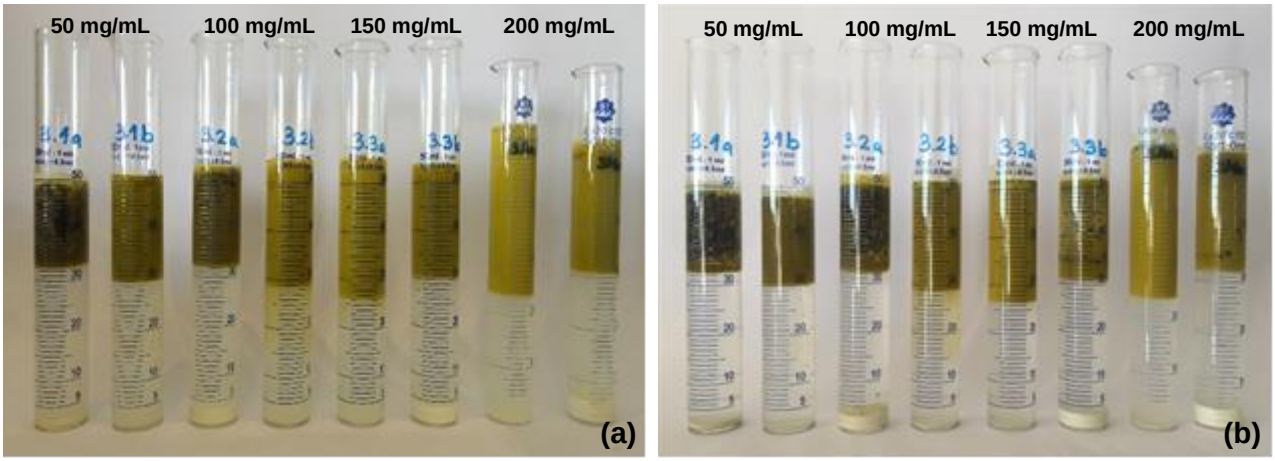


Figura 1. Emulsiones preparadas con almidón nativo de arroz variedad YERUA. (a) 1 h, (b) 7 días.

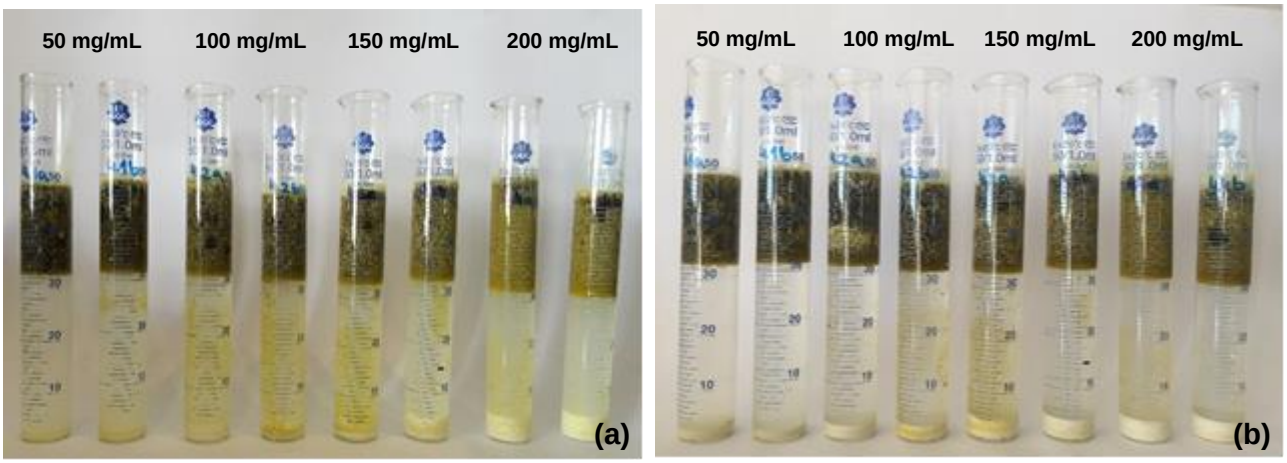


Figura 2. Emulsiones preparadas con almidón nativo de arroz variedad GURI. (a) 1 h, (b) 7 días.

Es interesante mencionar que Bello-Pérez et al. (2015) y Timgren et al. (2013) estudiaron la capacidad emulsificante de distintos almidones y utilizaron el colorante Solvent Red 26 (de color rojo) para evaluar la interacción de las gotas de aceite en las emulsiones. Las gotas estables no tuvieron intercambio de colorante y por lo tanto, los autores observaron que la fase emulsionada permaneció blanca o con un color levemente rosa. Un aumento en el color rojo indicó que las gotas fueron menos estables. En nuestro caso, se podría usar el característico color verde oscuro del aceite esencial de mandarina verde como indicador cualitativo de la estabilidad de la emulsión. Las gotas estabilizadas se observan de color verde claro, mientras que un aumento en el color verde oscuro indica una escasa adsorción del almidón a la interfase.

En las **Figuras 3** y **4**, se pueden observar las emulsiones obtenidas con los almidones modificados luego de 1 h y con 7 días de almacenamiento. Se puede observar que el aumento en la concentración de almidón modificado de 50 a 200 mg/mL aumentó el volumen de cremado (en la parte superior del tubo, de color

verde). Esto puede deberse a que aumenta la viscosidad de la fase acuosa y aumentan las fuerzas atractivas entre las partículas de almidón modificado y las gotas del aceite en la emulsión (Song et al. 2015). Asimismo, Jia et al. (2015) y Song et al. (2015) han reportado que la adsorción de las partículas a la superficie de las gotas de aceite en la emulsión aumenta la densidad efectiva, minimizando así la diferencia de densidades entre la fase dispersa y la fase continua.

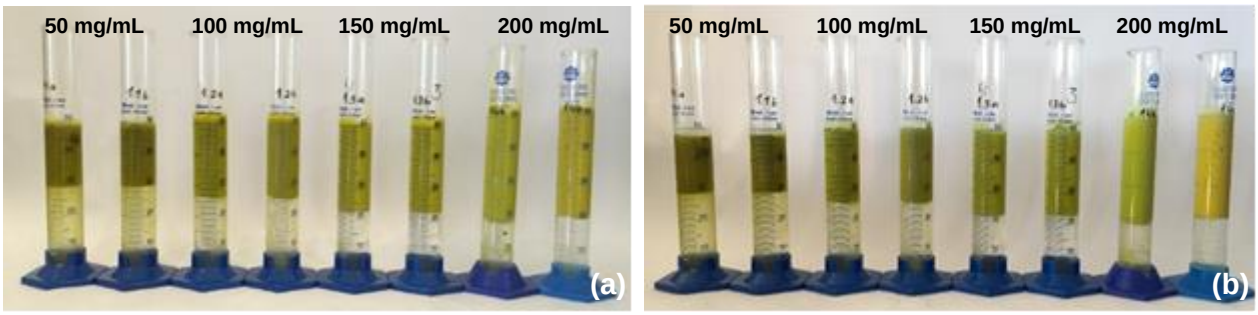


Figura 3. Emulsiones preparadas con almidón modificado de arroz variedad YERUA. (a) 1 h, (b) 7 días.

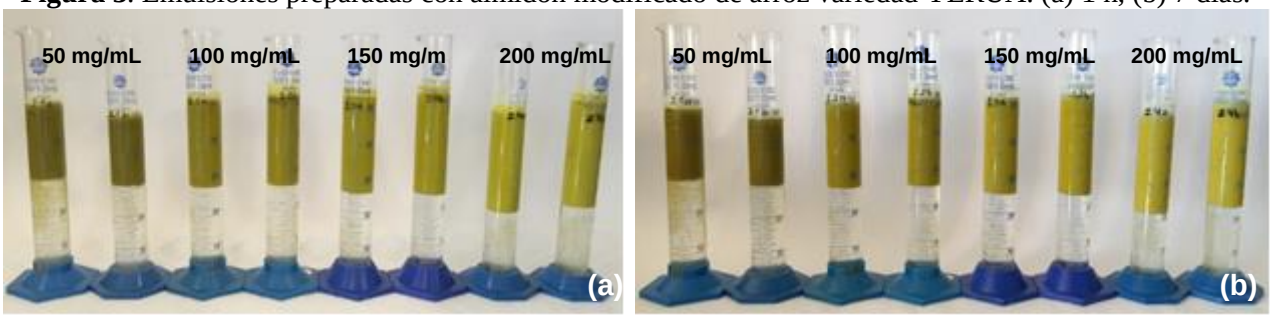


Figura 4. Emulsiones preparadas con almidón modificado de arroz variedad GURI. (a) 1 h, (b) 7 días.

La eficiencia en la encapsulación de los aromas y aceites esenciales depende en gran medida de la estabilidad de la emulsión inicial, es decir, mejor estabilidad resultará en una mayor eficiencia (Jafari et al. 2008). La separación gravitacional es uno de los mecanismos de inestabilidad más comúnmente encontrado en la industria. Por otro lado, mediante esta metodología los científicos pueden establecer el grado de cremado o sedimentación que ha ocurrido en un producto a un determinado tiempo (McClements 2007). Con el propósito de evaluar la estabilidad de las emulsiones formadas con los almidones de arroz modificados químicamente, se determinó la capacidad emulsificante de los gránulos de almidón modificado por medio el índice de emulsificación (EI).

En las **Tablas 1** y **2**, se presentan los valores de EI obtenidos. El EI fue afectado significativamente por todos los factores estudiados: variedad de arroz, concentración de almidón y tiempo de almacenamiento. El EI aumentó con la concentración de almidón modificado, obteniéndose el mayor valor (0,71 ± 0,05) para la concentración de 200 mg/mL de la variedad YERUA y el menor valor (0,42 ± 0,01) para la concentración de 50 mg/mL de la variedad GURI, a 1 h a partir de su preparación. Para todas las concentraciones, se observó que el EI se mantuvo constante a partir de 1 día de almacenamiento. Esto indica que para los posteriores usos es conveniente dejar las emulsiones en almacenamiento durante 1 día para lograr una emulsión estabilizada. Cabe destacar que las emulsiones preparadas con almidón modificado de la variedad YERUA presentaron valores mayores de EI que las correspondientes emulsiones preparadas con el almidón modificado de la variedad GURI.

En las **Tablas 1** y **2**, también se muestran los valores de diámetro promedio de volumen (D4,3) y de la media volumen/superficie (D3,2). El diámetro D4,3 fue afectado significativamente ($p < 0,05$) por todos los factores estudiados (tipo de almidón modificado, concentración de almidón, tiempo de almacenamiento). El D4,3 disminuyó con el aumento en la concentración de almidón. Rayner et al. (2012) observaron un límite de

concentración de almidón por encima del cual el tamaño de la gota se mantuvo constante. En nuestro caso, puede observarse que no se alcanzó un valor límite, es decir que todavía podría usarse concentraciones más altas en la preparación de las emulsiones.

Asimismo, se observó que las curvas de distribución de tamaño para la variedad YERUA fueron del tipo unimodal, mientras que para la variedad GURI resultaron levemente bimodales para las concentraciones más bajas (50 y 100 mg/mL).

Cuando se utilizó la variedad YERUA, se obtuvieron emulsiones con tamaños más pequeños, donde el rango de tamaño de partículas (D4,3) estuvo entre 46,7 ± 0,9 μm para una concentración de 200 mg/mL y 69,1 ± 13,9 μm para una concentración de 50 mg/mL, a 1 h desde su preparación. Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos para el IE, en donde las emulsiones para YERUA resultaron más estables que las correspondientes a la variedad GURI. También en concordancia con los resultados para el IE se puede observar que los tamaños se mantuvieron constantes durante el tiempo de almacenamiento para las emulsiones más concentradas del almidón modificado de la variedad YERUA.

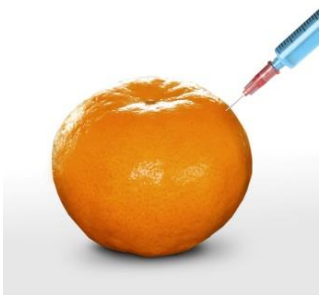
La media volumen/superficie (D3,2) no fue afectada por el tipo de almidón. Al igual que el D4,3, el valor de D3,2 disminuyó con el aumento de la concentración de almidón modificado. En general, el D3,2 se mantuvo constante con el tiempo cuando se usó la variedad YERUA.

Tabla 1. Caracterización de las emulsiones preparadas con almidón modificado de la variedad YERUA. Letras distintas por columnas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Concentración	Tiempo de almacenamiento	IE	D4,3 (μm)	D3,2 (μm)
50 mg/mL	1 h	0,43 ± 0,01 ^{a}	69,1 ± 13,9 ^{abcd}	54,6 ± 1,6 ^{cde}
	1 día	0,40 ± 0,01 ^{a}	92,6 ± 23,6 ^{cde}	67,1 ± 3,2 ^{fg}
	4 días	0,40 ± 0,00 ^{a}	109,7 ± 13,5 ^{e}	70,6 ± 9,4 ^{g}
	7 días	0,40 ± 0,00 ^{a}	93,6 ± 19,5 ^{de}	68,8 ± 0,7 ^{g}
100 mg/mL	1 h	0,54 ± 0,01 ^{c}	63,9 ± 2,8 ^{abcd}	54,0 ± 0,1 ^{cde}
	1 día	0,50 ± 0,01 ^{b}	84,8 ± 24,4 ^{bcde}	61,7 ± 3,0 ^{efg}
	4 días	0,48 ± 0,00 ^{b}	89,3 ± 27,8 ^{bcde}	61,8 ± 8,8 ^{efg}
	7 días	0,48 ± 0,00 ^{b}	87,5 ± 3,4 ^{bcde}	57,4 ± 4,0 ^{def}
150 mg/mL	1 h	0,63 ± 0,01 ^{d}	59,7 ± 6,0 ^{abcd}	47,8 ± 1,1 ^{bcd}
	1 día	0,54 ± 0,02 ^{c}	76,2 ± 17,4 ^{abcde}	55,3 ± 1,4 ^{cde}
	4 días	0,55 ± 0,01 ^{c}	76,4 ± 5,9 ^{abcde}	47,5 ± 6,2 ^{abcd}
	7 días	0,55 ± 0,01 ^{c}	73,1 ± 16,0 ^{abcd}	51,0 ± 8,9 ^{bcd}
200 mg/mL	1 h	0,71 ± 0,05 ^{e}	46,7 ± 0,9 ^{a}	37,7 ± 2,6 ^{a}
	1 día	0,62 ± 0,01 ^{d}	59,3 ± 20,6 ^{abc}	42,8 ± 4,0 ^{ab}
	4 días	0,62 ± 0,01 ^{d}	62,6 ± 18,7 ^{abcd}	45,3 ± 3,5 ^{abc}
	7 días	0,62 ± 0,01 ^{d}	55,9 ± 0,1 ^{ab}	41,9 ± 1,0 ^{ab}

Tabla 2. Caracterización de las emulsiones preparadas con almidón modificado de la variedad GURI. Letras distintas por columnas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Concentración	Tiempo de almacenamiento	IE	D4,3 (μm)	D3,2 (μm)
50 mg/mL	1 h	0,42 ± 0,00 ^{bc}	86,5 ± 4,1 ^{abcd}	62,6 ± 4,1 ^{cd}
	1 día	0,40 ± 0,01 ^{ab}	88,2 ± 36,9 ^{abcd}	62,8 ± 14,4 ^{cd}
	4 días	0,39 ± 0,01 ^{ab}	70,4 *	57,5*
	7 días	0,38 ± 0,01 ^{a}	133,0 *	77,6*



100 mg/mL	1 h	0,48 ± 0,03 ^{def}	86,1 ± 10,7 ^{abcd}	58,0 ± 0,9 ^{cd}
	1 día	0,46 ± 0,01 ^{de}	81,6 ± 3,1 ^{abcd}	63,9 ± 6,3 ^{cd}
	4 días	0,46 ± 0,01 ^{cd}	88,5 ± 2,9 ^{abcd}	54,3 ± 10,6 ^{cd}
	7 días	0,45 ± 0,01 ^{cd}	105,2 ± 4,8 ^{cd}	64,5 ± 9,2 ^{cd}
150 mg/mL	1 h	0,54 ± 0,03 ^{gh}	65,0 ± 5,2 ^{a}	54,7 ± 0,7 ^{cd}
	1 día	0,50 ± 0,02 ^{fg}	71,7 ± 2,7 ^{abc}	60,4 ± 3,6 ^{cd}
	4 días	0,50 ± 0,02 ^{ef}	103,8 ± 21,8 ^{bcd}	58,5 ± 19,7 ^{cd}
	7 días	0,50 ± 0,02 ^{ef}	110,8 ± 28,9 ^{d}	68,6 ± 15,1 ^{d}
200 mg/mL	1 h	0,61 ± 0,01 ^{i}	64,7 ± 12,0 ^{a}	47,0 ± 2,0 ^{bc}
	1 día	0,57 ± 0,02 ^{h}	68,0 ± 8,9 ^{ab}	26,3 ± 3,9 ^{a}
	4 días	0,55 ± 0,02 ^{h}	103,3 ± 23,5 ^{bcd}	33,6 ± 3,3 ^{ab}
	7 días	0,55 ± 0,02 ^{h}	106,4 ± 16,3 ^{cd}	62,0 ± 12,5 ^{cd}

* La desviación estándar no se pudo determinar.

CONCLUSIONES

Con este trabajo se pudo demostrar la capacidad emulsificante de los almidones de arroz modificados químicamente. Estos sistemas estabilizados con partículas de almidón modificado tienen aplicación potencial para la protección de ingredientes lábiles como los aceites esenciales. Las mejores condiciones de estabilidad se obtuvieron con la variedad de arroz YERUA. El valor más alto de índice de emulsificación se obtuvo para la concentración de 200 mg/mL de la variedad YERUA, el cual se mantuvo sin cambios a partir del primer día de almacenamiento. Los valores de tamaño de partícula estuvieron en concordancia con los resultados obtenidos mediante el índice de emulsificación.

BIBLIOGRAFÍA

Bello-Pérez LA, Bello-Flores CA, Nuñez-Santiago MC, Coronel-Aguilera CP, Alvarez-Ramirez J. 2015. Effect of the degree of substitution of octenyl succinic anhydride-banana starch on emulsion stability. Carbohydrate Polymers, 132: 17–24.

Cano-Higuita DM, Malacrida CR, Telis VRN. 2015. Stability of curcumin microencapsulated by spray and freeze drying in binary and ternary matrices of maltodextrin, gum arabic and modified starch. Journal of Food Processing and Preservation, 39: 2049–2060.

Carneiro HCF, Tonon RV, Grosso CRF, Hubinger MD. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. Journal of Food Engineering, 115: 443–451.

INTA. 2015. Informe citrícola de la provincia de Entre Ríos 2015. Informe disponible online http://inta.gob.ar/documentos/informe-citricola-de-la-provincia-de-entre-rios-2015

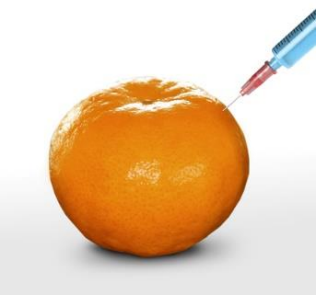
Jafari SM, Assadpoor E, He Y, Bhandari B. 2008. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. Drying Technology, 26: 816–835.

Jia X, Xu R, Shen W, Xie M, Abid M, Jabbar S, Wang P, Zeng X, Wu T. 2015. Stabilizing oil-in-water emulsion with amorphous cellulose. Food Hydrocolloids, 43: 275–282.

Malacrida CR, Ferreira S, Zuanon LAC, Nicoletti Telis VR. 2015. Freeze-drying for microencapsulation of turmeric oleoresin using modified starch and gelatin. Journal of Food Processing and Preservation, 39: 1710–1719.

Marefati A, Rayner M, Timgren A, Dejmek P, Sjöö M. 2013. Freezing and freeze-drying of Pickering emulsions stabilized by starch granules. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 436: 512–520.

Marefati A, Sjöö M, Timgren A, Dejmek P, Rayner M. 2015. Fabrication of encapsulated oil powders from starch granule stabilized W/O/W Pickering emulsions by freeze-drying. Food Hydrocolloids, 51: 261–271.



McClements DJ. 2007. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47: 611–649.
Ministerio de Agroindustria. 2016. Cadena del Arroz. Informe de coyuntura. Informe disponible online. http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss_alimentos_y_bebidas/_archivos/160600_Informe_ARROZ.pdf
Rayner M, Timgren A, Sjöö M, Dejmek P. 2012. Quinoa starch granules: A candidate for stabilising food-grade Pickering emulsions. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92: 1841–1847.
Singh Sodhi N, Singh N. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches separated from rice cultivars grown in India. Food Chemistry, 80: 99–108.
Song X, Pei Y, Qiao M, Ma F, Ren H. 2015. Preparation and characterizations of Pickering emulsions stabilized by hydrophobic starch particles. Food Hydrocolloids, 45: 256–263.
Song X, Pei Y, Zhu W, Fu D, Ren H. 2014. Particle-stabilizers modified from indica rice starches differing in amylose content. Food Chemistry, 153: 74–80.
Timgren A, Rayner M, Dejmek P, Marku D, Sjöö M. 2013. Emulsion stabilizing capacity of intact starch granules modified by heat treatment or octenyl succinic anhydride. Food Science & Nutrition, 1: 157–71.

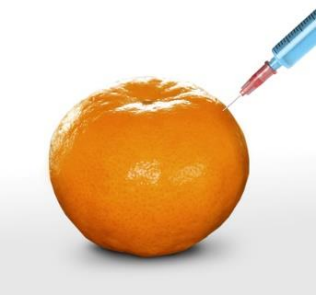
AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen especialmente a las empresas Litoral Citrus S.A. y Dos Hermanos S.A., por haber donado las muestras de aceite esencial de mandarina verde y de arroz para realizar la investigación. Este trabajo fue parcialmente financiado por la Universidad Nacional de Entre Ríos (proyecto PID Novel 8076) y por el CONICET.

Secado de café pergamino por lecho fluidizado con asistencia de microondas

Reyes Chaparro J.[1], Durán Barón R.[3], Arballo J.R.[1,2], Campañone L.A.[1,2]

[1] CIDCA (CONICET-CCT La Plata y Universidad Nacional de La Plata). Calle 47 y 116, La Plata (1900), Argentina.
[2] Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería (UNLP), Calle 1 y 47, La Plata (1900), Argentina.
[3] Universidad Popular del Cesar, Grupo Optimización Agroindustrial, sede Sabanas, bloque F. Valledupar, Colombia.
lacampa@ing.unlp.edu.ar

RESUMEN
Tradicionalmente el secado del café pergamino húmedo en Colombia, se realiza por secado solar y aire caliente. El tiempo, temperatura, color del grano y principalmente el contenido de humedad final entre 10-12% b.h. se utilizan para establecer el punto final del proceso. Se estudiaron los cambios en las características físicas y parámetros hidrodinámicos del café pergamino húmedo en lecho fluidizado y secado por microondas, utilizando un diseño factorial 3^2 (velocidad del aire: 2, 4 y 6 m/s con 50, 80 y 100% de potencia del microondas) hasta alcanzar el nivel de humedad final. La fluidización se obtiene circulando aire al sector de secado a través de una placa (33 cm x 32 cm) con un tamaño de orificios de 5 mm con una distancia entre ellos de 7 mm (2116 orificios). En el sector de secado, el producto en estado fluidizado, fue irradiado mediante un magnetrón (1000 W). La mejor condición es: velocidad del aire de 4 m/s con 100% de potencia del microondas en 72 minutos, con una reducción del contenido de humedad hasta 11,3% b.h. La difusividad efectiva varió entre $9{,}19\times10^{-12}$ y $1{,}33\times10^{-11}$ m^2/s. La energía de activación y factor pre-exponencial se determinó como 2,9 W/g y 2×10^{-10} m^2/s.



Palabras clave: Fluidización, Microondas, Café Pergamino.

ABSTRACT
Traditionally drying of wet parchment coffee in Colombia, it is by solar drying and hot air. Time, temperature, grain color and mainly the final moisture content between 10-12% w.b. are used to set the end point of the process. The changes were studied in the physical characteristics and hydrodynamic parameters of wet parchment coffee in fluidized bed and microwave drying by using a factorial design 3^2 (air speed: 2, 4 and 6 m/s with 50, 80 and 100% microwave power) until reach the final moisture level. The fluidization is obtained by circulating air to the drying sector through a plate (33 cm x 32 cm) with a size of holes 5 mm with a distance between them of 7 mm (2116 holes). In the drying sector, the product in the fluidized state, was irradiated by a magnetron (1000 W). The best condition is air velocity of 4 m/s with 100% microwave power for 72 minutes, with moisture content 11.3% w.b. The effective diffusivity varied between 9.19×10^{-12} and 1.33×10^{-11} m^2/s. The activation energy and pre-exponential factor for moisture diffusion was determined as 2.9 W/g y 2×10^{-10} m^2/s.

Keywords: Fluidization, Microwave, Parchment Coffee.

INTRODUCCIÓN

El café es el líder en la industria de bebidas calientes en términos de facturación y se espera que este dominio continué (ICO 2014). El café colombiano es catalogado por ser suave, muy aromático con un perfil de taza muy destacado y se procesa por vía húmeda. En Colombia, el caficultor se encarga de obtener el café pergamino seco que vende a las empresas, las cuales continúan con el proceso de trilla, tostado, molienda y posterior comercialización, sin embargo en los últimos años se ha incrementado la venta del café lavado, con una humedad aproximada de 52% b.h. (Pabón y Peñuela 2016). El secado es una de las operaciones unitarias más comúnmente usadas para prolongar la vida útil de los alimentos y facilitar su comercialización. En Colombia y específicamente la región del Cesar, el secado del grano se realiza por secado solar y aire caliente. El secado solar es el más utilizado y consiste en extender los granos en patios de concreto exponiéndolo al sol durante 24 a 32 horas utilizando rastrillos, sacos de fique y palas de metal para realizar un secado homogéneo hasta llegar a un porcentaje de humedad del 10 al 12 % b.h.

Existen varias técnicas de secado: silo secador (Henao et al. 2010), secadores rotativos (Castaño et al. 2009), secador parabólico (Oliveros et al. 2008), asimismo han sido desarrollados modelos experimentales como secador por lote semiautomático de bandejas (Vargas y Garzón 2010), lecho fluidizado (López 2005) y utilizando microondas (Cunha et al. 2003).

En la actualidad ha sido demostrado que pueden combinarse dos o más técnicas de secado para lograr una mejor calidad y aumentar la vida útil (Sivakumar et al. 2016). Con la combinación de lecho fluidizado con calentamiento por microondas se pueden minimizar inconvenientes como la transferencia poco efectiva por conducción, secado no uniforme, defectos causados por sobrecalentamiento y reducir los tiempos de proceso. Estos efectos combinados pueden mitigar la venta del café lavado.

El objetivo de este trabajo fue determinar las características físicas (dimensiones, porosidad y factor de forma), parámetros hidrodinámicos (velocidad de fluidización) además estudiar la cinética de secado aplicando un modelo teórico (segunda Ley de Fick) y la obtención de los parámetros de transporte (difusividad) y su dependencia con la potencia de microondas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se trabajó para cada tratamiento 500 g de café pergamino del género *coffea*, especie *arábica*, variedad *castillo* obtenidas por la cooperativa comercializadora Coovalleupari en el departamento del Cesar, Colombia. Fueron clasificadas según características físicas (dimensiones, porosidad, factor forma) y el contenido inicial de humedad fue determinado por la norma NTC 2325 (2005).

Método de secado

En la **Fig. 1** se muestra un esquema del sistema de secado por lecho fluidizado con asistencia de microondas empleado en este trabajo. El mismo consiste en un horno de microondas doméstico (MW1050STC, Samsung Electronics Inc.) con una potencia 1000 W y frecuencia 2450 MHz. El equipo incluye un ventilador centrífugo que genera diferentes velocidades del aire para producir el efecto de fluidización. El horno tiene una placa perforada fluidizadora (33 cm x 32 cm) para distribuir el aire de forma homogénea y además sirve para depositar los granos de café. El vapor de agua proveniente del secado se elimina haciéndolo pasar a través de las aberturas en la parte superior de la pared del horno a la atmósfera exterior.

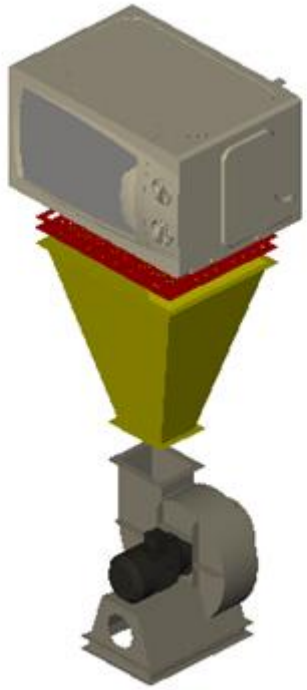


Figura 1. Esquema del sistema de secado lecho fluidizado-microondas.

Los experimentos se realizaron con tres niveles de potencia de microondas 500, 800, 1000 W aplicando tres velocidades de entrada de aire 2, 4, 6 m/s (**Tabla 1**).

Tabla 1. Condiciones para el proceso de secado.

TRATAMIENTO (T)	P (W)	Velocidad del aire (m/s)
T1	500	2,0
T2	500	4,0
T3	500	6,0
T4	800	2,0
T5	800	4,0

T6	800	6,0
T7	1000	2,0
T8	1000	4,0
T9	1000	6,0

La pérdida de humedad se registró a intervalo de 3 minutos durante el proceso de secado hasta alcanzar una humedad final comprendida entre 10 y 12% b.h.

Difusividad Efectiva

El mecanismo de movimiento de la humedad dentro de un sólido puede ser considerado como un proceso difusivo que domina el fenómeno de transporte. La segunda ley de Fick para la difusión (Ec. 1) ha sido utilizada para describir el proceso de secado. Crank (1975) propuso la solución analítica (Ec. 2) considerando las siguientes suposiciones para la transferencia de humedad:

1. Distribución de la humedad inicial uniforme en toda la partícula.
2. Transferencia de masa unidireccional y simétrica con respecto al centro (geometría esférica).
3. El contenido de humedad en la superficie de la partícula alcanza instantáneamente el equilibrio con la condición del aire circundante.
4. Coeficiente de difusión constante y el encogimiento despreciable.
5. Caída de presión despreciable (lechos pequeños), flujo de Darcy y permeabilidad constante.

De esta forma, se consideran válidas las ecuaciones siguientes:

$$\frac{\partial M}{\partial t} = D_{eff}\left(\frac{\partial^2 M}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 M}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 M}{\partial z^2}\right) \quad (1)$$

Siendo la solución analítica para una geometría esférica:

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e} = \frac{6}{\pi^2}\sum_{n=1}^{\infty}\frac{1}{n^2}exp\left(-n^2\pi^2\frac{D_{eff}t}{R^2}\right) \quad (2)$$

donde MR es la relación de humedad; M_t es el contenido de humedad (Kg H_2O/Kg sólido seco); M_0 es el contenido de humedad inicial (Kg H_2O/Kg Solido Seco); M_e es el contenido humedad en equilibrio, D_{eff} es la difusividad efectiva (m^2/s), R es el radio de la partícula (0,0059 m), t es el tiempo de secado (s).

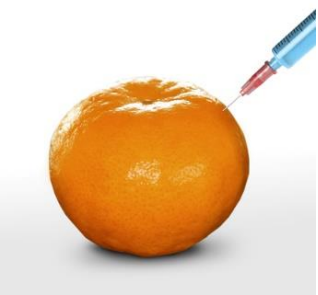
Teniendo en cuenta el primer término de serie y aplicando logaritmo natural, la solución analítica (Ec. 2) se simplifica a la siguiente forma (Hernández et al. 2008):

$$\ln(MR) = \ln\left(\frac{6}{\pi^2}\right) - \pi^2\frac{D_{eff}t}{R^2} \quad (3)$$

A partir de la pendiente de la recta ln (MR) vs t, se puede obtener D_{eff} del café pergamino.

Energía de activación

Durante el proceso de secado por microondas, se puede encontrar una relación entre la difusividad efectiva y la potencia de microondas a través de la ecuación modificada tipo Arrhenius obtenida por Dadali et al. (2007):



$$D_{eff} = D_o exp\left(-\frac{E_a m}{P}\right) \quad (4)$$

donde E_a es energía de activación (W/g), m es peso de la muestra (g), D_o es factor pre-exponencial (m^2/s) y P es potencia de microondas (W).
Con el fin de obtener los coeficientes de la Ec. 4, se graficó los valores obtenidos de D_{eff} vs m/P y se obtuvieron los valores de E_a y D_0.

Calidad del café pergamino seco

Las muestras de café pergamino seco obtenidas en el presente trabajo fueron evaluadas por análisis físico y prueba de taza (análisis sensorial). La empresa y comercializadora Manosalva Naranjo S.A.S realizó dicha prueba basándose en las normas: NTC 4883-2011, 2324-1987, 3314-1992 y 3556-2002.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del café pergamino

Las características físicas y parámetros hidrodinámicos del café pergamino variedad *castillo* (**Tabla 2**) permiten clasificarlo como partícula tipo D (Geldart 1973). Estos resultados son similares a los reportados por Sánchez et al. (2007) y Shans y Mathew (2015).

Tabla 2. Características físicas del café pergamino variedad *castillo*.

Parámetros	**Resultados** *
Largo (cm)	1,18±0,13
Ancho (cm)	0,83±0,05
Altura (cm)	0,51±0,09
Humedad (% b.h)	50,80±1,65
Densidad (Kg/m^3)	1065,31±0,03
Esfericidad	0,67±0,05
Porosidad del lecho	0,42±0,03
Velocidad mínima de fluidización teórica (m/s)	2,00±0,02

* Promedio±Desviación Estándar

El contenido de humedad está dentro del rango reportado por Patiño et al. (2016), que informaron valores promedios de 53% b.h. Este es un importante indicador de riesgo para la calidad en el almacenamiento, trillado, tostado y molido (Puerta 2006).

Considerando los altos valores de contenido de humedad en partículas de café pergamino, la velocidad mínima de fluidización (V_{mf}) es un factor importante en la comprensión del comportamiento hidrodinámico de lechos fluidizados (Sivakumar et al. 2016). Los resultados experimentales muestran que la velocidad mínima de fluidización es de 2 m/s y la velocidad máxima de fluidización es de aproximadamente 6 m/s (turbulento), los cuales son similares a los reportados por Shans y Mathew (2015).

Curva de secado

El contenido de humedad del café pergamino variedad *castillo* se redujo de 52% b.h. hasta el rango de 10-12% b.h para las diferentes condiciones de secado evaluadas. Las curvas de secado se presentan en la **Fig. 2**.

Los resultados indicaron que mientras mayor es la potencia de microondas y menor la velocidad del aire aplicada en el proceso de secado, menores son los tiempos requeridos para deshidratar el café pergamino. Esta disminución es debido a la penetración de la energía de microondas por el calor generado volumétricamente dentro de las partículas, creando una gran diferencia de presión de vapor entre el centro y la superficie, que es la característica de calentamiento empleando microondas (Datta y Anantheswaran 2001). Con respecto a la variación de la velocidad de fluidización, a partir de los resultados se puede observar que a medida que aumenta la velocidad aumenta el tiempo de secado esto puede ser debido al efecto de la distribución de las microondas dentro del horno, que presenta valores máximos en la parte inferior. Cuando las velocidades son bajas (2 m/s) los granos de café se mantienen en la parte inferior de la cavidad lo cual hace que la absorción de las microondas sea máxima. En cambio cuando las velocidades de fluidización son altas (6 m/s) los granos de café ascienden a la parte media y superior del horno ubicándose fuera de la zona de máxima absorción.

Cuando se compararon los tiempos de secado de lecho fluidizado con asistencia de microondas y otros métodos de secado reportados en literatura (López 2005, Ciro et al 2011), el tiempo de secado se redujo aproximadamente en un 20 a 40% con el empleo de la energía de microondas. Esto significa que la contribución de la energía de microondas en la fluidización es significativa.

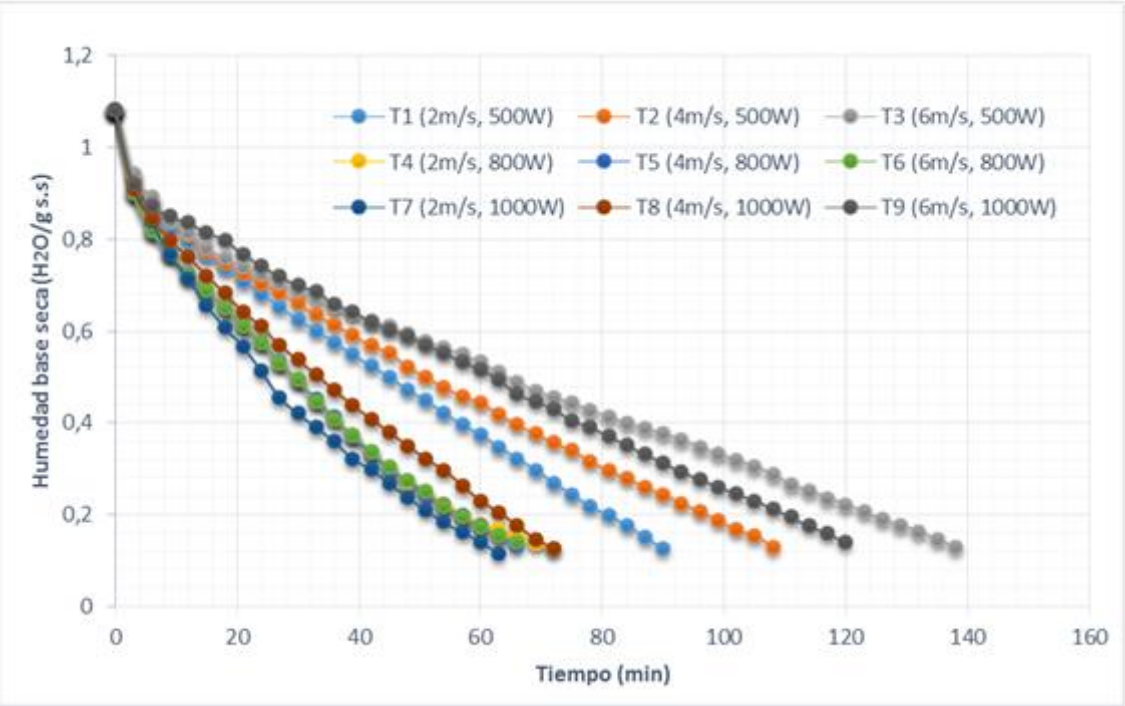


Figura 2. Curvas de secado de café pergamino variedad *castillo* a diferentes velocidades y potencias.

Asimismo, la fluidización es esencial para eliminar la humedad que se acumula en la superficie de las partículas por el constante movimiento interno creado por parte de las microondas y también proporciona la uniformidad del secado entre las partículas (Sumnu et al. 2005).

Difusividad efectiva

Los valores determinados de la difusividad efectiva (D_{eff}) para diferentes velocidades de aire y potencias del microondas se informan en la **Tabla 3** junto a los valores de R^2. Los valores se encuentran dentro del rango general de 10^{-8}-10^{-12} m^2/s para diferentes productos alimenticios (Zogzas et al 1996).

Tabla 3. Valores de D_{eff} para los experimentos realizados.

Tratamiento	P (W)	Velocidad del aire (m/s)	D_{eff} (m^2/s)	R^2
1	500	2,0	$1,33\times10^{-11}$	0,95
2	500	4,0	$9,19\times10^{-12}$	0,96
3	500	6,0	$5,45\times10^{-12}$	0,96
4	800	2,0	$2,37\times10^{-11}$	0,99
5	800	4,0	$2,62\times10^{-11}$	0,98
6	800	6,0	$2,61\times10^{-11}$	0,98
7	1000	2,0	$3,05\times10^{-11}$	0,99
8	1000	4,0	$2,16\times10^{-11}$	0,96
9	1000	6,0	$7,14\times10^{-11}$	0,96

Como puede observarse, la D_{eff} aumenta con el aumento de la potencia del microondas, debido a una mayor absorción de energía por alimento lo cual promueve el aumento de presión en el interior del grano produciendo un aumento en la velocidad de pérdida de agua. Con respecto al efecto de la velocidad de aire, puede apreciarse que, a bajos niveles de potencia de microondas (500W), a medida que la velocidad aumenta el coeficiente de difusión efectivo disminuye; por otro lado a potencias mayores no se puede observar una tendencia clara con respecto a este parámetro.

Energía de activación

Los valores de energía de activación (E_a) y factor pre-exponencial (D_0) para el secado por lecho fluidizado con asistencia de microondas se calcularon por regresión y se presentan en la **Fig. 3**.

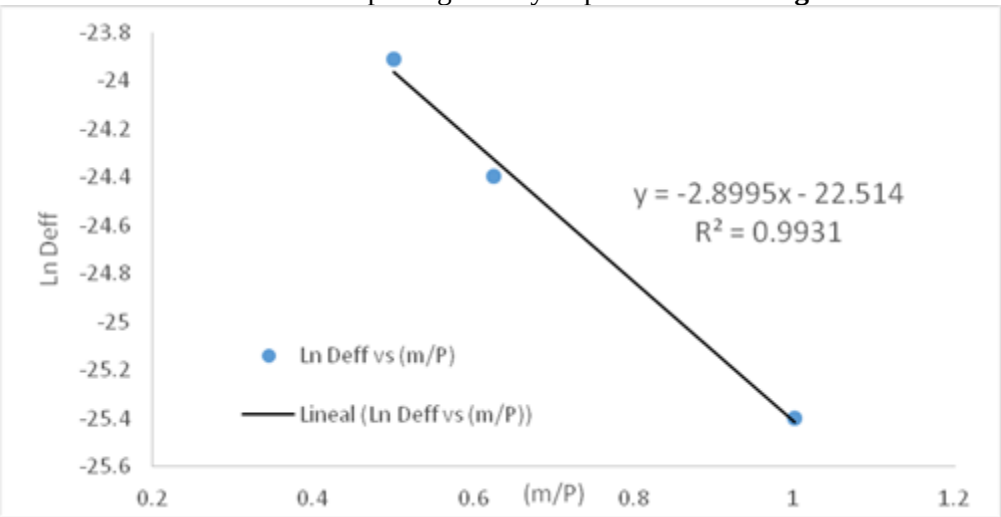


Figura 3. Relación de tipo Arrhenius entre los valores de D_{eff} y la potencia de microondas.

Los valores obtenidos de D_0 y E_a fueron de 2×10^{-10} m^2/s y 2,9 W/g, respectivamente. El valor de E_a obtenido representa la energía requerida para iniciar la difusión de la humedad del café pergamino durante el secado, indicando que puede llevarse a cabo en forma satisfactoria con requerimientos de energía relativamente bajos (Zarein et al 2015).

Los valores obtenidos de E_a del café pergamino variedad *castillo* en secado de lecho fluidizado con asistencia de microondas son inferiores a los reportados en literatura (Sumnu et al. 2005, Dadali 2007, Ganesh et al. 2010, Zarein et al 2015). Esta reducción de la energía de activación puede atribuirse al efecto de calentamiento volumétrico por microondas, lo que aumenta la velocidad de secado y la difusividad de humedad (Khoshtaghaza et al. 2015, Arballo et al. 2014).

Calidad del café pergamino seco

La calidad del café pergamino fue determinada por la prueba de Análisis Cuantitativo Descriptivo (QDA). La cual consiste en un análisis físico seguido de un análisis sensorial (prueba de taza). Dicha prueba fue realizada por la empresa y comercializadora Manosalva Naranjo S.A.S basándose en las normas correspondientes (Norma Técnica Colombiana –NTC- 4883-2011, 2324-1987, 3314-1992 y 3556-2002). La prueba QDA utiliza para el análisis físico una escala de 0 a 10 para describir la presencia de defectos en los granos de café, significando 0 extra bajo, 1-3 bajo, 4-6 medio, 6-9 alto y 10 extra alto. Para la prueba de taza se empleó la metodología propuesta por el Institute of Food Technologists de Estados Unidos (IFT, 1981), la cual presenta una escala de 1 a 9 donde el numero 1 desagrada extremadamente y el 9 agrada extremadamente.

Tabla 4. Análisis Físico.

	TRATAMIENTO (T)								
Tipos de defecto	**T1**	**T2**	**T3**	**T4**	**T5**	**T6**	**T7**	**T8**	**T9**
Decolorado sobresecado*	1,8	2,0	1,9	3,8	3,9	3,7	4,1	1,5	1,6
Cardenillo	3,0	2,8	2,7	3,0	2,9	2,7	3,0	2,9	2,9
Decolorado ámbar o mantequillo	1,0	1,1	0,9	1,0	0,6	1,1	0,9	0,8	0,9
Negro total o parcial*	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cristalizado*	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Materia extraña	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

* Defectos provenientes del proceso de secado.

La **Tabla 4** presenta los resultados de los análisis físicos llevados adelante para cada tratamiento, estos defectos tienen su origen en el proceso de producción (cultivo, cosecha, etc.), fermentación y secado propiamente dicho. Considerando la escala de defectos, se puede apreciar que el tratamiento 7 muestra las peores condiciones físicas evidenciadas por la alta calificación en cuanto al defecto "decolorado sobresecado". Este defecto muestra la influencia de las altas temperaturas durante el proceso de secado, el alto valor en este tratamiento puede ser debido al poco movimiento del café dentro del horno lo cual promueve una alta transferencia de calor que hace que el grano se caliente rápidamente sobrepasando la temperatura óptima de secado de 50ºC. Por otro lado, el tratamiento 8 muestra las mejores condiciones físicas con una puntuación de 1,5, este mejoramiento en las condiciones de secado puede ser debido al mayor movimiento de los granos de café promovido por una mayor velocidad de fluidización que hace que los granos de café salgan de la zona de máxima absorción de las microondas, facilitando un calentamiento más lento y una mejor distribución de la potencia dentro del grano. Cabe destacar que no se encontraron granos que presenten los defectos "negro total o parcial", "cristalizado" y "materia extraña".

Tabla 5. Análisis de prueba de taza.

	TRATAMIENTO (T)								
Características	**T1**	**T2**	**T3**	**T4**	**T5**	**T6**	**T7**	**T8**	**T9**
Limpieza	5,9	6,2	6,6	6,0	6,1	6,1	6,2	6,6	6,5
Dulzura	7,2	7,2	7,2	7,2	7,1	7,0	7,2	7,4	7,3
Acidez	7,1	7,1	7,2	6,0	6,5	6,0	5,2	7,3	7,1
Cuerpo	6,0	6,1	5,0	6,2	6,3	4,9	6,0	6,2	6,1
Sabor	7,2	5,0	7,1	7,1	7,3	7,2	6,1	7,3	7,0
Sabor residual	7,2	7,4	7,3	7,1	7,1	5,0	6,0	7,5	7,4
Balance	6,2	6,1	6,2	6,1	6,1	6,0	6,0	6,5	6,1
Impresión global	7,1	7,1	7,2	7,1	7,1	7,1	7,0	7,5	7,3
Totales	53,9	52,2	53,8	52,8	53,6	49,3	49,7	56,3	54,8

En la prueba de taza (**Tabla 5**) se realiza el análisis sensorial de la infusión de café. Considerando el análisis realizado, el tratamiento 8 muestra la mayor aceptabilidad en cuanto a la mayoría de las características evaluadas, mostrando los mayores valores en dulzura, sabor, acidez y sabor residual. Esta mayor aceptabilidad (impresión global 7,5) puede correlacionarse con las mejores condiciones evidenciadas en el análisis físico (**Tabla 4**) para este mismo tratamiento. Los tratamientos con menor aceptabilidad fueron el 6 y 7, mostrando bajos valores especialmente en cuanto al cuerpo, acidez y sabor residual, estos resultados también pueden correlacionarse con los obtenidos del análisis físico que da cuenta de una elevada intensidad en el proceso de secado. En resumen describe un café: muy bueno, equilibrado y balanceado (Manosalva Naranjo S.A.S). Teniendo en cuenta el puntaje total y según la escala de (SCAA 2004), se ubicó como un café de carácter comercial.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, la aplicación del secado de lecho fluidizado con asistencia por microondas permitió reducir en gran medida el tiempo de secado contribuyendo con productos de adecuada calidad. La variación del contenido de humedad en el café pergamino variedad *castillo* para el secado de lecho fluidizado-microondas se modeló teóricamente usando la segunda ley de Fick y a partir de la solución analítica de Crank se obtuvieron los coeficientes de difusión efectivos, dando valores entre $9{,}19\times10^{-12}$ y $1{,}33\times10^{-11}$ m^2/s. Aplicando una relación tipo Arrhenius entre el coeficiente de difusión y la potencia de microondas se encontró que la energía de activación es 2,9 W/g y el factor pre-exponencial 2×10^{-10} m^2/s. La mejor aceptabilidad general fue para el tratamiento 8: velocidad del aire de 4 m/s con 100% de potencia del microondas, tiempo de proceso 72 minutos hasta alcanzar una humedad final de 11,3% b.h.

BIBLIOGRAFÍA

Arballo JR, Campañone LA, Mascheroni RH. 2014. Modelado matemático de la transferencia de calor y materia y de la presión durante la deshidratación con microondas de alimentos como medios porosos. Mecánica Computacional, 33: 2147-2160.

Castaño F, Rubio FR, Ortega MG. 2009. Modelado de secaderos rotatorios en isocorriente. Revista Iberoamericana Automática e Informática Industrial, 6: 32-43.

Ciro H, Cortés M, López J. 2011. Secado de Café en Lecho Fijo con Intermitencia Térmica y Flujo de Aire Pulsado. Revista Facultad Nacional Agronómica de Medellín, 64: 6247-6255.

Crank J. 1975. The Mathematics of Diffusion. 2ª edition. Oxford: Clarendon Press.

Cunha ML, Canto MW, Marsaioli A. 2003. Secagem de café cereja descascado por ar quente e microondas. Revista ciência, Tecnologia Alimentos, 23: 381-385.

Dadalı G, Kılıc D¸ Ozbek B. 2007. Estimation of Effective Moisture Diffusivity of Okra for Microwave Drying. Drying Technology, 25: 1441–1446.

Datta A, Anantheswaran R. 2001. Handbook Microwave technology for Food applications. 1ª edition. New York: Marcel Dekker, Inc.

Fermín N, Galán H, García J, Bracho N. 2012. Evaluación de la calidad fisicoquímica y sensorial de tres marcas comerciales de café tostado y molido. Revista Científica UDO Agrícola, 12: 428-438.

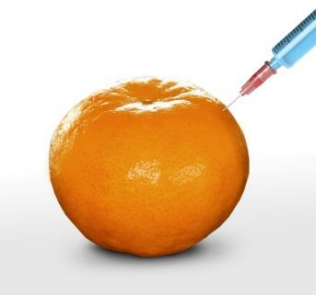
Ganesh P, Regupathi I, Miranda LR, Murugesan T. 2010. Moisture Diffusivity and Energy Consumption during Microwave Drying of Plaster of Paris. Chemical Product and Process Modeling, 5:1-23.

Geldart D. 1973. Types of gas Fluidization. Powder Tecnology, 7: 285-292.

Henao JD, Soto A, Góngora MA, Cortés F. 2010. Automation of coffee dryer (type silo) of laboratory. Revista Ingeniería y Región, 7: 73-83.

Hernández WN, Ruiz II, Salgado MA Rodríguez GC, García MA. 2008. Modeling heat and mass transfer during drying of green coffee beans using prolate spheroidal geometry. Journal of Food Engineering 86: 1-9.

Institute of Food Technologists - IFT. 1981. Guide for testing food and beverage products. Sensory



Evaluation Division of the Institute of Food Technologists. Food Technology 35: 50-59.
International Coffee Organization – ICO. 2014. A Review of the markets, challenges and opportunities facing the sector. London, United Kingdom.
Khoshtaghaza MH, Darvishi H, Minaei S. 2015. Effects of Microwave - fluidized bed drying on quality, energy consumption and drying kinetics of soybean kernels. Journal Food Scientists & Technologists, 52: 4749-4760.
López EA. (2005). Secado de café en lecho fluidizado. Revista Ingenieria e Investigación, 26: 25-29.
Norma Técnica Colombiana - NTC 2324. 1987. Café verde. Examen olfativo y visual y determinación de materia extraña y defectos. Bogotá, Colombia: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC).
Norma Técnica Colombiana - NTC 2325. 2005. Café verde. Determinación de la pérdida de masa a 105°C. Bogotá, Colombia: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC).
Norma Técnica Colombiana - NTC 3314. 1992. Sector agropecuario. Café y sus productos. Vocabulario. Términos y definiciones. Bogotá, Colombia: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC).
Norma Técnica Colombiana - NTC 3566. 2002. Café verde. Preparación de muestras para uso en análisis sensorial. Bogotá, Colombia: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC).
Norma Técnica Colombiana - NTC 4883. 2011. Café verde. Análisis Sensorial. Café. Metodología para análisis sensorial cuantitativo descriptivo del café. Bogotá, Colombia: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC).
Oliveros CE, Ramírez CA, Sanz JR, Peñuela AE. 2008. Secador parabólico mejorado. Revista Cenicafé 51: 01-08.
Pabón JP, Peñuela AE. 2016. Efecto de la aplicación de agua ozonizada como técnica de conservación del café pergamino húmedo. Revista Cenicafé 67: 63-72.
Patiño M, Pencue E, Vargas R. 2016. Determinación del contenido de humedad en granos de café pergamino seco utilizando speckle dinámico. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 14: 84-91.
Puerta G. 2006. La humedad controlada del grano preserva la calidad del café. Revista Cenicafé 49: 01-08.
Sánchez J, Anaya I, Vizcarra M, Gutiérrez G, Pineda T .2007. Estudio de la hidrodinámica del café tostado (coffea arábica l.) en lecho fluidizado. Revista Mexicana de Ingenieria Química, 6: 185-192.
Shans MS, Mathew E. 2015. Hydrodynamic study of four duct swirling fluidized bed and the effect of air temperature on fluidization. International Journal of Science, Engineering and Technology Research, 4: 3618-3623.
Sivakumar R, Saravanan R, Elaya AP, Iniyan S. 2016. Fluidized bed drying of some agro products – A Review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 61:280–301.
Specialty Coffee Association of America – SCAA. 2004. Manual de catación del programa de cafés especiales de Colombia. California. Pág. 30.
Sumnu G, Goksu I, Esin A. 2005. Effect of microwave on fluidized bed drying of macaroni beads. Journal of Food Engineering, 66: 463–468.
Vargas EM, Garzón FA. 2010. Montaje y puesta en marcha de un secador por lotes semiautomático de bandejas por aire caliente. Revista Ingenieria e Investigación, 30: 43-51.
Zarein M, Samadi SH, Ghobadian B. 2015.Investigation of microwave dryer effect on energy efficiency during drying of apple slices. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 14: 41-47.
Zogzas NP, Moroulis ZB, Marinos-kouris D. 1996. Moisture diffusivity data compilation in foodstuffs. Drying Technology, 14: 2225–2253.

Obtención de aceite de canola libre de insolubles empleando etanol como único solvente

Sánchez RJ [1], Fernández MB [1,2], Nolasco SM [1,3]

(1) TECSE – Facultad de Ingeniería – Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Av. Del Valle 5737, Olavarría, Buenos Aires, Argentina.
(2) CIFICEN (Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires-CONICET-CICPBA), Pinto 399, Tandil, Buenos Aires, Argentina.
(3) Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC), La Plata, Argentina.
snolasco@fio.unicen.edu.ar

RESUMEN
Se estudió, a partir de granos de canola, la extracción sólido-líquido utilizando etanol como solvente (sistema batch, 60°C) y posterior separación del aceite del extracto obtenido. Se utilizaron dos métodos para obtener el aceite: en el primero (M1) el extracto total libre de solvente (ELS) fue lavado con hexano, obteniendo el aceite como fracción del extracto soluble en hexano (ESH). El segundo (M2), consistió en la evaporación parcial del solvente (etanol) del extracto total (E), enfriamiento, centrifugación y separación por decantación de las fases generadas: fase rica en aceite (FRA), fase rica en solvente (FRS) y fase sólida (FS). M1 arrojo un rendimiento de ELS promedio de 45% en base seca (%bs) y de ESH de 39,0%bs. Por M2 se obtuvo un rendimiento de FRA de 30,9%bs y de 10,4%bs para la FRS, la cual presentó un contenido de aceite de 7,8%bs El rendimiento de aceite obtenido por M1 fue significativamente mayor ($p<0,05$) al obtenido por M2 (FRA), pero no significativamente diferente ($p\geq0,05$) al total de aceite obtenido por M2 (FRA más aceite en FRS).

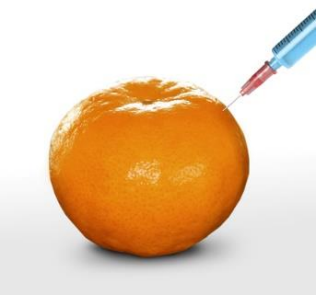
Palabras Clave: Etanol, Aceite de canola, Extracción.

ABSTRACT
The solid-liquid extraction from canola seed was studied using ethanol as a solvent (batch device, 60°C) and subsequent separation of the oil from obtained extract. The oil was obtained following two different methods: in the first method (M1) the free solvent total extract (ELS) was washed with hexane, obtaining oil as a fraction of hexane-soluble extract (ESH). The second method (M2) consisted of partial evaporation of solvent (ethanol) of the total extract (E), cooling, centrifugation and separation by decantation of the generated phases: rich oil phase (FRA), rich solvent phase (FRS) and solid phase (FS). The mean yield of ELS employing M1 method was 45% dry basis (bs) and achieved a 39.0 %bs of ESH. Also by M2 technique the yield obtained was 30.9 %bs FRA and 10.4 %b.s. FRS, which had an oil content of 7.8 %bs. Oil yield obtained by M1 was significantly higher ($p <0.05$) than that obtained by M2 (FRA), but not significantly different ($p \geq0.05$) to the total oil obtained by M2 (FRA plus oil in FRS).

Keywords: Ethanol, Canola oil, Extraction.

INTRODUCCIÓN

El aceite de canola es el tercero consumido en el mundo, conocido como el "aceite del corazón", presenta una óptima y distintiva relación de ácidos grasos ω-6:ω-3 (2:1), baja concentración de grasas saturadas y elevada concentración de fitoesteroles y otros compuestos bioactivos; lo que lo hace altamentente recomendado para su consumo. La harina es rica en compuestos fenólicos y presenta un contenido de proteínas de 38-43% con una adecuada composición de aminoácidos, la cual se destina a la elaboración de concentrados proteicos para el consumo humano y animal (Eklund et al. 1971, Shahidi 1990).
El proceso de extracción de aceite a partir de oleaginosas se lleva a cabo por prensado y/o extracción sólido-



líquido, donde el solvente más utilizado en la industria es el hexano debido a su estabilidad, alto poder solubilizante y conveniente punto de ebullición lo que favorece su recuperación (Lusas et al. 1994, Sicaire et al. 2015,). No obstante, este solvente derivado del petróleo es altamente inflamable, originando un aumento en los costos de los sistemas de seguridad industrial, y ocasionando efectos negativos al medioambiente y la salud. A su vez, la harina obtenida luego del proceso de extracción debe ser desolventizada para su posterior uso (elaboración de concentrados proteicos, alimentación animal), proceso que representa un alto costo energético.

El etanol ha comenzado a estudiarse como solvente alternativo ya que tiene un bajo costo y puede ser producido por fermentación a partir de diferentes materiales biológicos y utilizando tecnología sencilla; es por esto que se lo reconoce como solvente "natural" o "biorenovable". A su vez, no produce contaminación medioambiental y presenta una menor volatilidad que el hexano, lo que lo convierte en un solvente más seguro. Debido a su naturaleza polar podría lograrse la extracción de compuestos minoritarios de importancia nutricional como fitoesteroles y compuestos fenólicos elevando la calidad del aceite obtenido; sin embargo al mismo tiempo se produce la extracción de compuestos insolubles como algunos fosfátidos, pigmentos y azúcares los cuales son necesarios remover del aceite (Sineiro et al. 1996).

Recientemente se estudió la extracción de aceite de soja utilizando distintas proporciones de etanol-agua como solvente, dando como resultado la extracción de una fracción proteica además del aceite (Sawada et al. 2014). Por su parte Baümler et al. (2016) estudiaron la extracción de aceite de collet de girasol utilizando etanol como solvente, reportando la extracción de insolubles en aceite como azúcares entre otros; y separándolos mediante un fraccionamiento con hexano. En trabajos previos se estudió de manera exploratoria la extracción de aceite de canola utilizando etanol como solvente y posteriormente fraccionando el extracto con hexano (Sánchez et al. 2015); sin embargo no se ha desarrollado un método de obtención de aceite libre de insolubles a partir del extracto obtenido con alcohol sin la utilización de hexano. El objetivo de este trabajo fue estudiar, a partir de granos de canola, la extracción sólido-líquido utilizando etanol como solvente y desarrollar una metodología libre de hexano para la separación del aceite del extracto obtenido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se contó con una partida de 10 kg de granos de canola variedad invernal suministrados por AL HIGH TECH S.R.L. (Argentina). Los granos de canola fueron caracterizados en función de su composición proximal acorde a la metodología estándar, mediante determinación de humedad (ASAE S352.2, 1997 y AOCS Ba 24-38, 1998), contenido de aceite (IUPAC 1.122, 1992), contenido de proteínas (AOCS Ai 4-91, 1998) utilizando un destilador BÜCHI (Model 435, Switzerland), fibra cruda (AOCS Ba 6-84, 1998), cenizas (AOCS Ba 5a-49, 1998) y contenido de carbohidratos como extracto libre de nitrógeno (ELN) calculado por diferencia usando la ecuación (1):

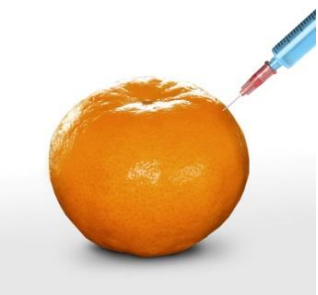
$$\text{ELN} = 100 - (\text{aceite} + \text{proteinas} + \text{fibra cruda} + \text{cenizas}) \quad (1)$$

Extracciones

Para cada extracción se molieron 15 g de granos de canola y se pusieron en contacto con etanol 99% en un sistema batch agitado (agitador magnético) con un baño termostáticamente controlado a una temperatura constante de 60°C durante 4 horas, condiciones óptimas determinadas previamente (datos no publicados). Se utilizó una relación 17 ml de solvente/g de harina. Transcurrido el tiempo preestablecido, se centrifugó el contenido en un equipo refrigerado Presvac MSP-4650 R Plus (Argentina) durante 5 minutos a 5438 G. Posteriormente se filtró el contenido y la micela se recogió en un balón (E), el aceite se obtuvo siguiendo dos métodos diferentes.

Obtención de aceite

En la **Figura 1** se muestra el esquema de los distintos métodos (M1 y M2) aplicados para la obtención del aceite:



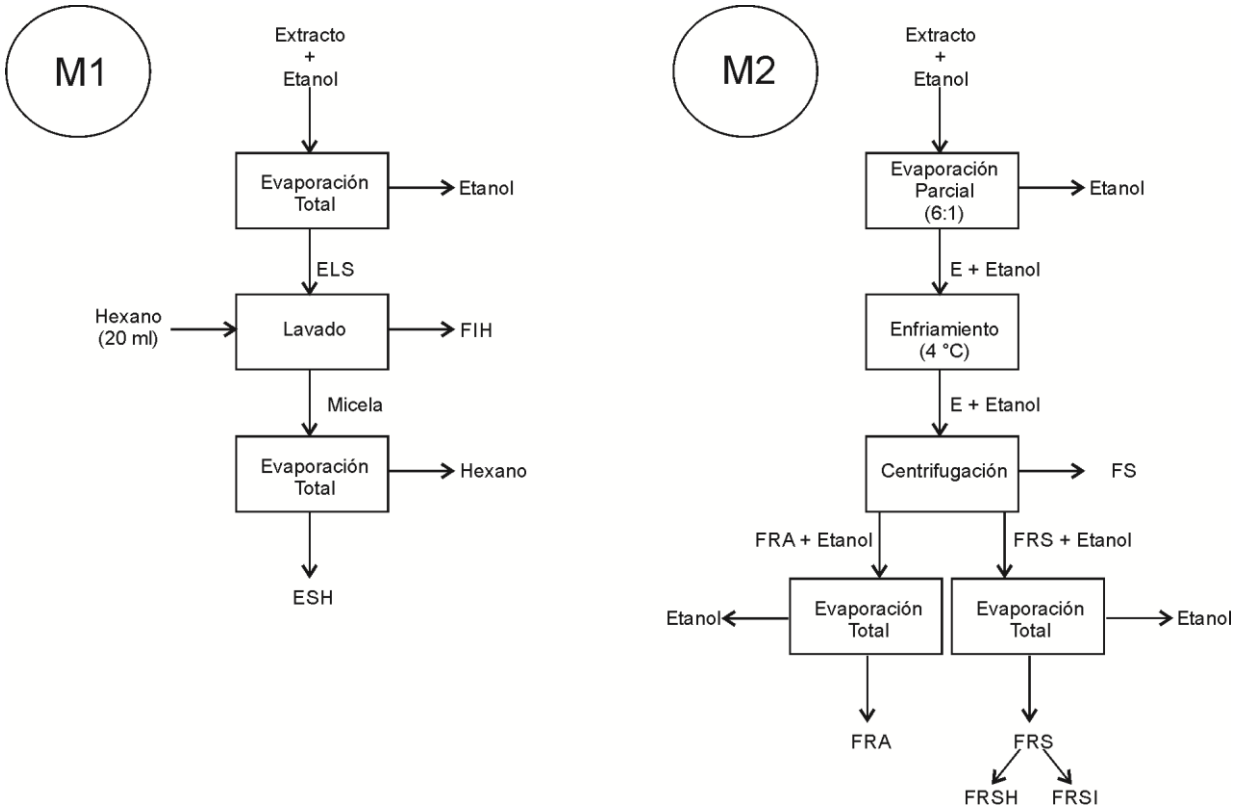


Figura 1. Esquema de los métodos aplicados para la obtención de. M1: Lavado con hexano. M2: Separación de fases. E: Extracto total. FIH: Fracción insoluble en hexano para el M1. FRSI: Fracción rica en solvente insoluble en hexano para el M2. FS: Fase sólida obtenida por el M2. FRSH: Fracción soluble en hexano de la fase rica en solvente obtenida por el M2. ESH: Extracto soluble en hexano para el M1. FRA: Fase rica en aceite para el M2.

Lavado con hexano (M1)

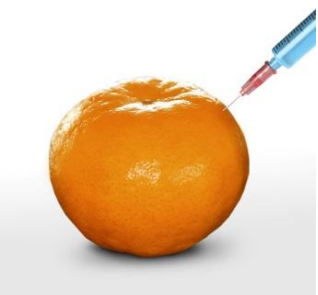
Aplicando el método M1, se evaporó la totalidad del solvente del extracto total obtenido en l extracción con etanol en un evaporador rotatorio R-3000 Büchi (Suiza) obteniendo el extracto total libre de solvente (ELS), el cual fue lavado con hexano (20 ml) y filtrado. De la solución recogida se evaporó el hexano, obteniendo la fracción de extracto soluble en hexano (ESH), la misma a su vez fue centrifugada durante 15 minutos a temperatura ambiente y 5438 G (Presvac MSP-4650 R Plus). La cuantificación de todas las fracciones se realizó gravimétricamente. Los ensayos se realizaron por duplicado.

Separación de fases (M2)

El método M2 consistió en la evaporación parcial del solvente (hasta una relación aproximada de 6:1 solvente:aceite) del extracto total (E), con la consecuente generación de tres fases: una fase rica en aceite (FRA), una fase rica en solvente (FRS) y una fase sólida (FS). Luego el extracto fue enfriado a 6°C y centrifugado a 5438 G durante 15 minutos. Posteriormente las tres fases generadas fueron separadas por decantación, se evaporó el etanol de cada fase, y la cuantificación se realizó gravimétricamente. A su vez, se realizó un fraccionamiento con hexano para determinar el contenido de solubles en hexano de la fase rica en solvente (FRSH). Los ensayos se realizaron por duplicado.

Análisis estadístico

A los fines de detectar diferencias entre los rendimientos observados se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) considerándose que las medias eran significativamente diferentes si $p \leq 0,05$ utilizando el software Infostat (Infostat, 2004).



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la materia prima

En la **Tabla 1** se muestra la composición proximal de los granos de canola.

Tabla 1. Composición proximal de los granos de canola en base seca (%bs)

Composición proximal de los granos de canola	
Humedad (% bs)	5,8±0,1
Aceite (% bs)	46,3±0,3
ELN (% bs)	24,9±0,8
Proteinas (% bs)	20,3±0,1
Fibra cruda (% bs)	5,0±0,1
Cenizas (%bs)	3,5±0,1

La muestra de granos de canola presentó un contenido de aceite dentro del rango reportado por la bibliografía para esta especie (33-55 %, Windauer y Ploschuk 2006) y un contenido de cenizas similar al informado por Fernández et al. (2012) para granos de canola variedad Barrel (3,7 %b.s.). El contenido de proteína obtenido experimentalmente (aproximadamente 20 %) correspondió a un 37,8 % en base seca (%bs) en la harina desgrasada, siendo similar al reportado por Shahidi (1990) para harina de canola desgrasada (37,7%), mientras que el contenido de fibra cruda en la harina desgrasada (9,3 %bs) fue menor al observado por el mismo autor (11,8 %bs). A su vez, el contenido de ELN obtenido correspondiente al 46,3 % de la harina resultó mayor al reportado por Cruz-Suarez et al. (2001) para harina de canola comercial (35,0% bs).

Rendimientos de extracción

En la **Figura 2** se muestran los rendimientos (expresados en porcentaje base seca y respecto a la muestra original, %bs) obtenidos de las distintas fracciones por los métodos M1 y M2:

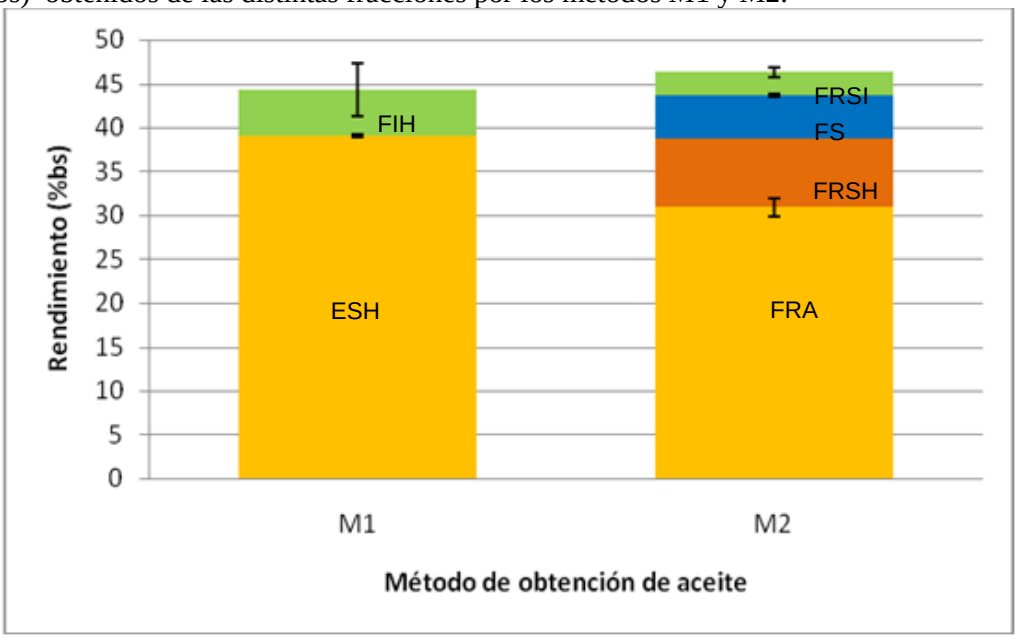


Figura 2. Rendimientos de extracción para distintos métodos de obtención de aceite. M1: Lavado con hexano. M2: Separación de fases. FIH: Fracción insoluble en hexano para el M1. FRSI: Fracción rica en solvente insoluble en hexano para el M2. FS: Fase sólida obtenida por el M2. FRSH: Fracción soluble en hexano de la fase rica en solvente obtenida por el M2. ESH: Extracto soluble en hexano para el M1. FRA: Fase rica en aceite para el M2.

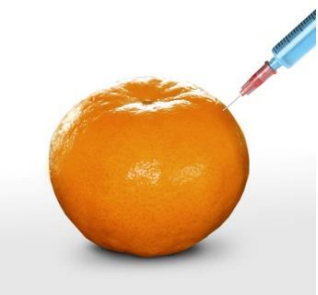
El rendimiento de ELS obtenido para M1 no fue significativamente diferente ($p \geq 0,05$) al reportado en

trabajos previos para una temperatura de extracción de 50°C (Sánchez et al. 2015).
Dado que el etanol puede extraer compuestos como hidratos de carbono y proteínas (Chien y Joff 1990) entre otros, la diferencia entre ELS y ESH (5,2±3,0 % bs) puede atribuirse a estos compuestos, siendo necesario estudios posteriores para determinar la composición de dicha fracción. Baümler et al. (2016) obtuvieron 9,98% bs collets de insolubles en hexano en collets de girasol por extracción con Soxhlet utilizando etanol (95%) como solvente, detectando que mayoritariamente se componían de azúcares y fosfolípidos.
En el caso de M2, el rendimiento de FRA fue significativamente menor al rendimiento de ESH obtenido por M1 (diferencia de 8,2 % bs), sin embargo el total de aceite obtenido por M2 (FRA+FRSH, 38,7±1,0 %bs) no se diferenció significativamente al aceite obtenido por M1 (ESH). A su vez, el 66 % de los sólidos insolubles en aceite presentes en el extracto total (E) lograron separarse por el M2 como fracción precipitada (FS). Cabe destacar que se observó una fracción sólida insoluble en aceite (aproximadamente 25 % de ESH) pero soluble en hexano en el aceite obtenido por M1 (ESH), la cual no es detectada en el aceite extraído del grano con hexano (Fernández et al. 2012, Zárate et al. 2015, Sánchez et al. 2017). Esta fracción sólida insoluble podría atribuirse a fosfolípidos y otros lípidos minoritarios con funciones estructurales en los cuerpos grasos y en otras organelas de las células vegetales, los cuales podrían ser extraídos por el etanol (compuesto polar) pero no por solventes no polares como el hexano. Yatsu y Jacks (1972) realizaron la extracción de aceite con hexano de cuerpos grasos aislados y observaron por micrografía electrónica las membranas que no fueron extraídas por el hexano, a su vez Tzen y Huang (1992) separaron el material interfacial de cuerpos grasos extrayendo el aceite con dietil éter y disolviendo el material interfacial (proteínas, fosfolípidos, glicolipidos, etc.) en mezclas de cloroformo y metanol. Sin embargo, una vez disueltas las estructuras conformadas por estos compuestos, los mismos podrían solubilizarse en el hexano. Por su parte, no se observó la presencia de estos compuestos en la FRA obtenida por M2, los mismos podrían encontrarse disueltos en la FRS. Tanto la cantidad de solubles en hexano disuelta en FRS (FRSH) observada (25 % de FRA+FRSH) como su aspecto sólido libre de solvente, es consistente con lo planteado apoyan lo planteado anteriormente. A su vez el rendimiento de FRA no fue significativamente diferente al rendimiento de FRSH sin tener en cuenta la fracción sólida insoluble en aceite (28,1±0,1 %bs), mostrando que con el método M2 puede obtenerse la misma cantidad de aceite que con M1 libre de sólidos y sin la utilización de hexano.
La canola presenta un alto contenido de compuestos fenólicos (6,3 -18,4 mg/g en harina desgrasada; Kozlowska et al. 1990), entre ellos se ha detectado la presencia de canolol (potente antioxidante) en el aceite de canola de granos sometidos a tratamientos térmicos (Koski et al. 2003, Wakamatsu et al. 2005). En trabajos previos se ha detectado un contenido de 27 ppm de canolol en aceite de canola extraído con hexano, 168 ppm para granos pretratados con microondas (Sánchez et al. 2017); mientras que se encontró un contenido de hasta 495 ppm en aceite de canola extraído por prensado de granos sometidos a pretratamientos combinados hidrotérmico-microondas (datos no publicados). Debido a la elevada solubilidad de los compuestos fenólicos en etanol, podría esperarse que la fase FRS contenga la mayor parte de los compuestos fenólicos del extracto total (E) y que la FRSH obtenida luego de un fraccionamiento con hexano de FRS sea un extracto potencialmente rico tanto en fosfolípidos como en canolol. Se requieren análisis posteriores sobre el extracto FRSH que permitan confirmar estas hipótesis.

CONCLUSIONES

El proceso de extracción solido-líquido con etanol aplicado a granos de canola permitió obtener rendimientos de extracto total libre de solvente promedios de 45 % bs. A partir de los dos métodos de obtención de aceite propuestos, se observó un rendimiento de aceite obtenido por el M1 de 39 % bs, mientras que el M2 (libre de hexano) permitió obtener 3 fracciones: una fase rica en aceite (FRA), una fase solida (FS) y una fase rica en solvente (FRS), la cual a su vez presentó compuestos solubles en hexano (FRSH). La adición de los rendimientos de FRA y los solubles en hexano de la fase FRS y no resultó significativamente distinta al rendimiento de fracción de aceite obtenida por el M1, mientras que se logró separar el 66% de los compuestos insolubles en hexano por precipitación (FS). A su vez el M2 permitió obtener un aceite (FRA), a diferencia del obtenido por M1, libre de sólidos insolubles en aceite y con un rendimiento no

significativamente distinto al obtenido por M1 sin sólidos insolubles en aceite; mostrando la potencialidad del M2 para obtener aceite sin sólidos, sin la utilización de hexano y sin perder rendimiento. A su vez se obtuvo una fracción (FRSH) potencialmente rica en antioxidantes y fosfolípidos. Los resultados muestran la factibilidad de la extracción y separación de aceite con etanol sin la utilización de hexano, siendo necesario futuros estudios que permitan optimizar el método estudiado, así como análisis de calidad de todas las fracciones obtenidas teniendo en cuenta las posibles propiedades funcionales y antioxidantes de las mismas.



BIBLIOGRAFÍA

AOCS. 1998. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, 5th ed D. Firestone (ed), AOCS Press, Champaign.

ASAE. 1999. Standard Engineering Practices data, 46 th edn. Publ by American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, USA.

Baümler ER, Carrín ME, Carelli AA. 2016. Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent. Journal of Food Engineering, 178: 190-197.

Chien JT, Hoff JE, Lee MJ, Lin HM, Chen YJ, Chen LF. 1990. Oil extraction of dried ground corn with ethanol. The Chemical Engineering Journal, 43(3): B103-B113.

Cruz-Suarez LE, Ricque-Marie D, Tapia-Salazar M, McCallum IM, Hickling D. 2001. Assessment of differently processed feed pea (Pisum sativum) meals and canola meal (Brassica sp.) in diets for blue shrimp (Litopenaeus stylirostris). Aquaculture, 196(1): 87-104.

Eklund A, Ågren G, Langter T. 1971. Rapeseed protein fractions: I.—Preparation of a detoxified lipid-protein concentrate from rapeseed (Brassica napus L.) by a water-ethanol extraction method. Journal of the Science of Food and Agriculture, 22(12): 650-652.

Fernández MB, Perez EE, Crapiste GH, Nolasco SM. 2012. Kinetic study of canola oil and tocopherol extraction: parameter comparison of nonlinear models. Journal of Food Engineering, 111(4): 682-689.

Infostat. Grupo Infostat. Universidad Nacional de Córdoba: Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2004.

Koski A, Pekkarinen S, Hopia A, Wähälä K, Heinonen M. 2003. Processing of rapeseed oil: effects on sinapic acid derivative content and oxidative stability. European Food Research and Technology, 217(2): 110-114.

Kozlowska H, Naczk M, Shahidi F, Zadernowski R. 1990. Phenolic acids and tannins in rapeseed and canola. In Canola and Rapeseed.US: Springer pag 193-210.

Lusas EW, Watkais LR, Rhee KC. 1994. Separación de grasas y aceites por métodos no tradicionales. Aceites y Grasas 14: 87-99.

Rao RK, Arnold LK. 1956. Alcoholic extraction of vegetable oils. III. Solubilities of babassu, coconut, olive, palm, rapeseed, and sunflower seed oils in aqueous ethanol. Journal of the american oil chemists society, 33(9): 389-391.

Sánchez RJ, Fernández MB, Nolasco SM. 2015. Aceite de canola: Estudio exploratorio de extracción con etanol. En: VIII Congreso Argentino de Ingeniería Química (CAIQ2015) – Libro de trabajos completos, Buenos Aires: AAIQ 05a-1772-618.

Sánchez RJ, Mateo CM, Fernández MB, Nolasco SM. 2017. Bidimensional modeling applied to oil extraction kinetics of microwave-pretreated canola seeds. Journal of Food Engineering, 192: 28-35.

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.

Shahidi F. 1990. Canola and rapeseed: production, chemistry, nutrition, and processing technology. New York: Springer Science & Business Media pag. 11

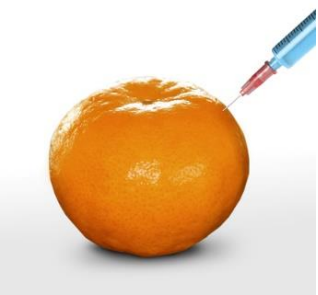
Sicaire AG, Vian M, Fine F, Joffre F, Carré P, Tostain S, Chemat F. 2015. Alternative Bio-Based Solvents for Extraction of Fat and Oils: Solubility Prediction, Global Yield, Extraction Kinetics, Chemical Composition and Cost of Manufacturing. International journal of molecular sciences, 16(4): 8430-8453.

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(9): 1121-1125.

Tzen JT, Huang AH. 1992. Surface structure and properties of plant seed oil bodies. The Journal of cell biology, 117(2): 327-335.

Wakamatsu D, Morimura S, Sawa T, Kida K, Nakai C, Maeda, H. 2005. Isolation, identification, and structure of a potent alkyl-peroxyl radical scavenger in crude canola oil, canolol. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 69(8): 1568-1574.

Windauer LB, Ploschuk EB. 2006. Cultivos Industriales. Editorial Facultad de Agronomía. Argentina. pp.



66-73.
Yatsu LY, Jacks TJ. 1972. Spherosome membranes half unit-membranes. Plant physiology, 49(6): 937-943.

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen el financiamiento a la ANPCyT (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica) y a la Facultad de Ingeniería (Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires). También agradecen en forma especial AL HIGH TECH S.R.L. (Argentina) por donar la canola utilizada durante este trabajo.

Deshidratación osmótica de pera con aplicación de pectina y alginato como recubrimientos: cambios estructurales.

Soteras, E. M. [(1)], Rodriguez, A.[(4)], Garcia, M. A.[(2)], Campañone, L.[(2,3)]

(1) Fac. Ingeniería y Ciencias Agropecuarias. UNSL. Ruta Prov. Nº 55, extremo Norte. Villa Mercedes, San Luis, Argentina.
(2) CIDCA (CONICET-CCT, UNLP y CICPBA). 47 y 116, La Plata, Argentina.
(3) Fac. Ingeniería, UNLP, 1 y 47, La Plata, Argentina.
(4) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Centro de Investigación de Agroindustria. Instituto Tecnología de Alimentos. De los Reseros y Nicolás Repetto s/n, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.
emsoteras@unsl.edu.ar

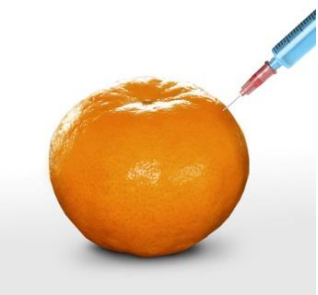
RESUMEN
El objetivo del trabajo fue estudiar la deshidratación osmótica (DO) y la influencia de la aplicación de recubrimientos comestibles (RC) sobre la textura y microestructura de cubos de pera. Las muestras se sometieron a DO en soluciones de sacarosa (SAC) y de jarabe de glucosa (JG) de 60 ºBrix a 40ºC, durante diferentes tiempos. Los recubrimientos utilizados fueron pectina de bajo metoxilo (Pec) y alginato de sodio (Alg). Se determinó la cinética de pérdida de agua (WL) y ganancia de sólidos (SG) de las muestras sometidas a DO. La textura se analizó a través de la firmeza de las muestras. A través de observaciones al ESEM se evaluó la microestructura del producto y las características del recubrimiento. Los resultados mostraron diferencias para las distintas condiciones operativas: muestras deshidratadas en JG con aplicación de Alg como recubrimiento presentaron mayor WL y aquellas deshidratadas en SAC y recubiertas con pectina, presentaron un marcado efecto barrera al ingreso de sólidos. La firmeza de la muestras se conservó cuando se aplicaron los recubrimientos. Empleando la técnica ESEM se comprobó la presencia de los recubrimientos antes y después de la DO. En conclusión la aplicación de Pec y Alg como recubrimientos forman un hidrogel sobre la superficie del producto que favorece la WL, reduce la SG y permite buena retención de la firmeza.

Palabras Claves: Textura, Microestructura, Sacarosa, Glucosa, Cinéticas.

ABSTRACT
The aim of this work was the study of osmotic dehydration (OD) and the influence of the application of edible coatings (RC) on texture and microstructure of pear cubes. The samples were subjected to OD in sucrose solutions (SAC) and glucose syrup (JG) at 60 °Brix and 40°C for different times. The coatings used were low methoxyl pectin (Pec) and sodium alginate (Alg). Water loss (WL) and solid gain (SG) kinetics of the samples subjected to OD was determined. The texture was analyzed through firmness of the samples. Through ESEM observations product microstructure and coating characteristics were evaluated. The results showed differences among several operating conditions: dehydrated samples in JG with Alg application as a coating presented greater WL and those dehydrated in SAC and coated with Pec had a marked barrier effect to solid uptake. The firmness of the samples was retained when the coatings were applied. ESEM allowed verifying the presence of the coatings before and after DO process. In conclusion, the application of Pec and Alg as coatings form a hydrogel on the surface which favors WL, reduces SG and allows good firmness retention.

Keywords: Texture, Microstructure, Sucrose, Glucose, Kinetics.

INTRODUCCIÓN



La deshidratación osmótica (DO) es un proceso en el cual se pone en contacto un alimento con una solución hipertónica concentrada de azúcares y/o sales, en algunos casos directamente con azúcares o alcoholes de alto peso molecular. Como consecuencia se produce una salida de agua y de sustancias propias del alimento hacia la solución, mientras que los solutos de la misma son incorporados al alimento (Ahmed et al. 2016; Abraão et al. 2013; Khin et al. 2007). De esta forma, se reduce la actividad acuosa del producto y se evitan las reacciones químicas de deterioro y el crecimiento microbiano.

Además, la DO tiene las siguientes ventajas: (1) una mejor retención del color y sabor del producto, (2) las temperaturas de proceso suaves no afectan a las características semi-permeables de las membranas celulares, y (3) menor requerimiento de energía en comparación con el secado por aire caliente de convección forzada. A pesar de esas ventajas, sus aplicaciones comerciales son todavía bastante limitadas debido a la gran absorción de solutos, ya que se pueden alterar las características organolépticas y nutricionales del producto (Jalaee et al. 2011; Mitrakas et al. 2008; Khin et al. 2007).

En los productos frutihortícolas se han utilizado recubrimientos a base de diferentes polisacáridos (pectina de bajo (LMP) y alto metoxilo (HMP), metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa, maltodexterinas, almidón de papa y maíz, alginato de sodio y quitosano) para reducir la ganancia de sólidos durante la DO, mejorar las propiedades organolépticas y nutritivas y la vida útil del producto osmodeshidratado (Jalaee et al. 2011). Las propiedades de barrera de los recubrimientos dependen principalmente de su composición y del método utilizado para su aplicación. A los efectos del proceso osmótico, los recubrimientos comestibles deben tener las siguientes propiedades: buena resistencia mecánica, propiedades sensoriales satisfactorias, formación fácil y rápida con técnicas simples, alta difusividad del agua y mantenimiento del hidrogel en la solución osmótica (Matuska et al. 2006).

De acuerdo a lo expuesto, en el presente estudio, se investigó el efecto de la aplicación de recubrimientos de Pectina (Pec) y de Alginato (Alg) en combinación con lactato de calcio sobre la deshidratación osmótica de cubos de pera y su influencia en los cambios estructurales del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se trabajó con peras de la variedad Packham's Triumph (*Pyrus Communis*), con un contenido de humedad de 85.8 ± 1.7 % y 12.8 ± 1.8 % de sólidos solubles. Para formular los recubrimientos se utilizó pectina de bajo metoxilo (Genu®–Pectin, tipo LM 102 AS, EEUU), alginato de Sodio (Alginic acid sodium salt, Powder, Viscosity 20-40 cP, Sigma), lactato de calcio pentahidratado (Parafarm®, Argentina), jarabe de glucosa (El Bahiense, Argentina) y sacarosa comercial (Ledesma, Argentina).

Deshidratación Osmótica (DO) de las muestras

Las peras fueron lavadas, peladas y cortadas en cubos de 1 cm^3. Se prepararon soluciones de sacarosa y jarabe de glucosa de 60ºBrix, estandarizadas utilizando un refractómetro digital (Hanna Instruments modelo HI96801, USA).

Los cubos de peras fueron pesados (aprox. 50 gr. de muestra) y sometidos a DO por inmersión en la soluciones, a una temperatura de 40ºC. Tanto la concentración del medio osmodeshidratante como la temperatura utilizada fueron adoptadas en concordancia con lo informado por diferentes autores (Talens et al. 2012; Mitrakas et al. 2008; Khin et al. 2006). La DO se realizó con agitación a 100 rpm en un equipo Shaker (marca FERCA, modelo TT400), para distintos tiempos de proceso: 1, 2, 4, 8 y 16 hs. Transcurrido el tiempo de deshidratación se procedió a la extracción de las muestras, la cual se realizó escurriendo la solución excedente y lavando los cubos rápidamente con agua destilada. Luego se secaron con papel absorbente. Una vez realizado el acondicionamiento de las muestras se registraron los pesos de las mismas. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Preparación y aplicación de los recubrimientos

Se prepararon soluciones acuosas de pectina al 3% (p/p), de alginato al 2% (p/p) y de lactato de calcio al 5% (p/p). La metodología utilizada para la aplicación del recubrimiento de pectina (Pec) y alginato (Alg) fue la siguiente: los cubos de pera se sumergieron primero en la solución del hidrocoloide seleccionado durante 5

min, luego se escurrió la solución excedente sobre una malla plástica (2 min), se sumergieron en la solución de lactato de calcio durante 5 min, con el fin de provocar la gelación química (hidrogel) y se escurrieron nuevamente (2 min). Las muestras con recubrimientos fueron sometidas a DO como se describió previamente.

Contenido de humedad

La determinación de la humedad se realizó por secado en estufa de vacío a 70ºC durante 48 hs hasta alcanzar peso constante (AOAC 1980). Las muestras se analizaron por triplicado.

Determinación de sólidos solubles

La determinación de sólidos solubles (SS) se realizó por medio de un refractómetro digital (Hanna Instruments modelo HI96801, USA) midiendo los ºBrix (ºBr) sobre el extracto obtenido del prensado y filtrado de una muestra de los cubos frescos y tratados, a temperatura ambiente y por triplicado.

Los resultados de las cinéticas de las DO se analizaron según las siguientes ecuaciones:

$$WR_{DO}=100(m_i-m_f)/m_i \quad (1)$$

$$WL_{DO}=WCo-WC_{DO}(1-WR_{DO}/100) \quad (2)$$

$$SG_{DO}=TS_{DO}(1-WR_{DO}/100)-TSo \quad (3)$$

Donde,

(1) WR_{DO}= Pérdida de peso porcentual en la DO (%); m_i = Masa total de muestra sin tratar (g); m_f = Masa final de las muestras luego de la DO (g).

(2) WL_{DO} = Pérdida de agua (%); WCo = Contenido de inicial humedad = 100 * (g agua inicial / g muestra inicial); WC_{DO} = Contenido de humedad después de la DO = 100 * (g agua / g muestra tratada).

(3) SG_{DO} = Ganancia de Sólidos (%); TSo = Contenido de Sólidos totales iniciales = 100 * (g sólidos inicial / g muestra inicial); TS_{DO} = Contenido de Sólidos totales después de la DO = 100 * (g sólidos / g muestra tratada).

Textura

La textura de las muestras sometidas a DO se evaluó mediante ensayos de punción con un texturómetro Universal Testing Machine, modelo TATX2i marca Stable Micro Systems (Surrey, Inglaterra), registrando la fuerza (N) en función del tiempo (s). En el ensayo se empleó una sonda SMSP/3 de 3 mm de diámetro, la velocidad de penetración fue de 0.5 mm/s, la distancia de penetración fue de un 50% de la altura de la muestra, este porcentaje fue seleccionado con el fin de registrar los cambios que sufre el tejido vegetal hasta el centro de la muestra. A partir de los ensayos se calculó la fuerza máxima de penetración (N). Los valores se normalizaron con respecto a los valores de las muestras frescas, a fin de disminuir las desviaciones. Se calculó el parámetro:

-Fuerza Normalizada de Penetración (FNP, adimensional): definida como la relación entre la fuerza máxima para producir la fractura superficial de la muestra tratada y la fuerza máxima para producir la fractura superficial de la muestra fresca.

Se midieron 15 muestras a temperatura ambiente (25ºC), realizándose el ensayo por duplicado.

Evaluación de la microestructura

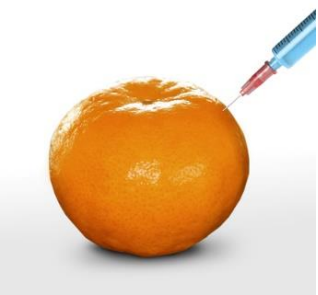
Con el fin de estudiar las características microestructurales tanto de los productos como de los recubrimientos seleccionados, se realizaron observaciones al microscopio electrónico de barrido ambiental (ESEM). Se utilizó un Microscopio tipo Electrónico, subtipo SEM (modelo Quanta 200-marca FEI) que permite trabajar en modo ambiental perteneciente al Laboratorio de Investigaciones de Metalurgia Física (LIMF) (Departamento de Mecánica de la Facultad de Ingeniería – UNLP). Se evaluaron la adhesividad del recubrimiento al tejido vegetal y los cambios de espesor del hidrogel debido a la DO con las diferentes soluciones deshidratantes. A tal fin se observaron las muestras antes y después del tratamiento osmótico.

Análisis estadísticos de los resultados

El análisis estadístico se realizó con el software STATGRAPHICS PLUS 5.1, aplicando test ANOVA y contraste de Múltiple Rangos por el procedimiento de diferencias significativa (HSD) de Tukey, para ver las diferencias entre los tratamientos con un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los ensayos de deshidratación osmótica se evaluaron los efectos de los tratamientos aplicados y de los recubrimientos utilizados. Realizando un análisis estadístico se observó un efecto significativo ($p<0.05$) de las condiciones aplicadas en cuanto a la pérdida de agua (WL) y la ganancia de sólidos (SG) de



las muestras con y sin recubrimiento. A medida que transcurrió el tiempo de DO mayor fue la WL para todos los tratamientos. En el caso de SG el comportamiento con el tiempo fue similar en Sacarosa (SAC), pero en Jarabe de glucosa (JG) la SG se mantuvo, como se observa en las Figuras 1 y 2. También, se evidencia que la WL fue mayor para los tratamientos realizados con la aplicación de los recubrimientos y que la SG disminuyó en los mismos casos.

La **Tabla 1** muestra los diferentes valores de WL y SG luego de 16 horas de DO, obtenidos para los distintos tratamientos. Se observa que para las condiciones DO 60ºBr-40ºC en SAC, la aplicación de los recubrimientos presentó diferencias significativas ($p<0.05$) con respecto a las muestras sin recubrir, siendo este efecto independiente del tipo de recubrimiento aplicado (a base de alginato o pectina). Respecto a la SG se presentaron diferencias en todas las muestras. Para los tratamientos de DO 60ºBr-40ºC en JG se presentaron diferencias significativas ($p<0.05$) entre las muestras control y las recubiertas en cuanto a WL y SG, lo que demuestra el impacto del recubrimiento en los tratamientos propuestos. La mayor WL se presentó en el tratamiento con JG y Alg como recubrimiento y la menor SG se observó en el tratamiento con JG y Pec como recubrimiento lo que podría marcar una fuerte influencia de este sustrato y de los recubrimientos en su comportamiento durante la DO.

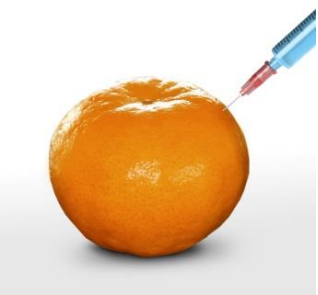
Tabla 1. Comparación de los diferentes tratamientos en cuanto a la pérdida de agua (WL) y ganancia de sólidos (SG) luego de 16 horas, valores considerados de equilibrio.

Tratamientos	Muestras	WL	SD	SG	SD
DO 60ºBr_40ºC Sacarosa	Sin recubrimiento	62,28[a]	0,68	15,22[a]	0,12
	Alginato	66,79[b]	0,53	12,13[b]	0,41
	Pectina	68,42[b]	0,36	10,01c	0,24
DO 60ºBr_40ºC Jarabe de glucosa	Sin recubrimiento	68,39[a]	0,17	4,13[a]	0,13
	Alginato	77,38[b]	0,48	1,70[b]	0,15
	Pectina	74,82[b]	1,08	0,82[c]	0,29

Valores medios y desviación estándar (SD). a, b, c Letras diferentes en la misma columna y fila del tratamiento indican diferencias significativas del 95% de nivel de confianza.

En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos para la WL, tanto en SAC como en JG, donde se observa que la WL fue registrada en todos los tratamientos y su valor es mayor cuando se aplicaron los recubrimientos, además en este sentido, los mayores valores obtenidos se presentaron para JG a tiempos prolongados de DO.

En cuanto a la SG, se registró en todos los tratamientos obteniéndose a tiempos largos valores constantes (equilibrio). Los menores valores de SG se registraron cuando se aplicaron los recubrimientos, tal como se mostró en la Tabla 1. Además, se constató que la SG fue reducida en gran medida cuando se utilizó JG como sustrato en la DO, en comparación a SAC (Figura 2). Estos resultados se encuentran en concordancia con los informados por otros autores (Rodriguez et al. 2015; Giovanelli et al. 2012; Jalaee et al. 2011; Lazarides et al. 2007; Khin et al. 2006). En el caso particular de la pectina, se demostró una menor SG que para las condiciones DO con JG.



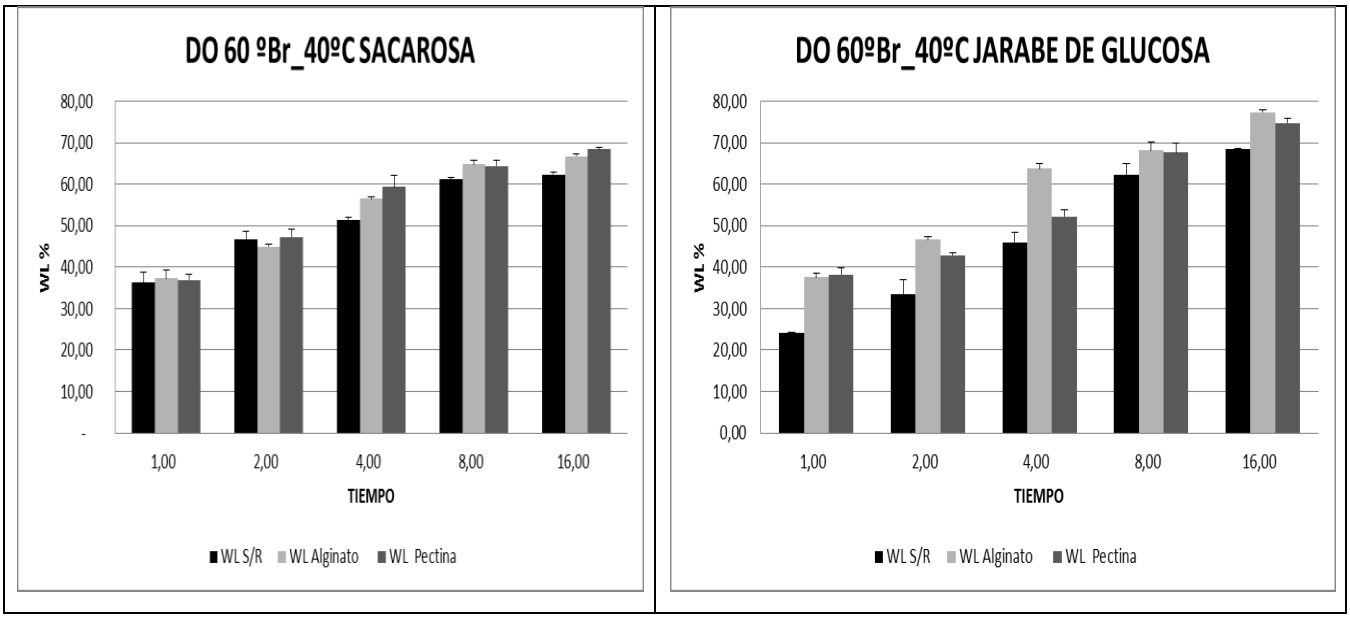


Figura 1. Cinéticas de WL en DO de cubos de peras con los diferentes sustratos seleccionados, con y sin recubrimiento: valores promedios y su desviación estándar en función del tiempo del tratamiento.

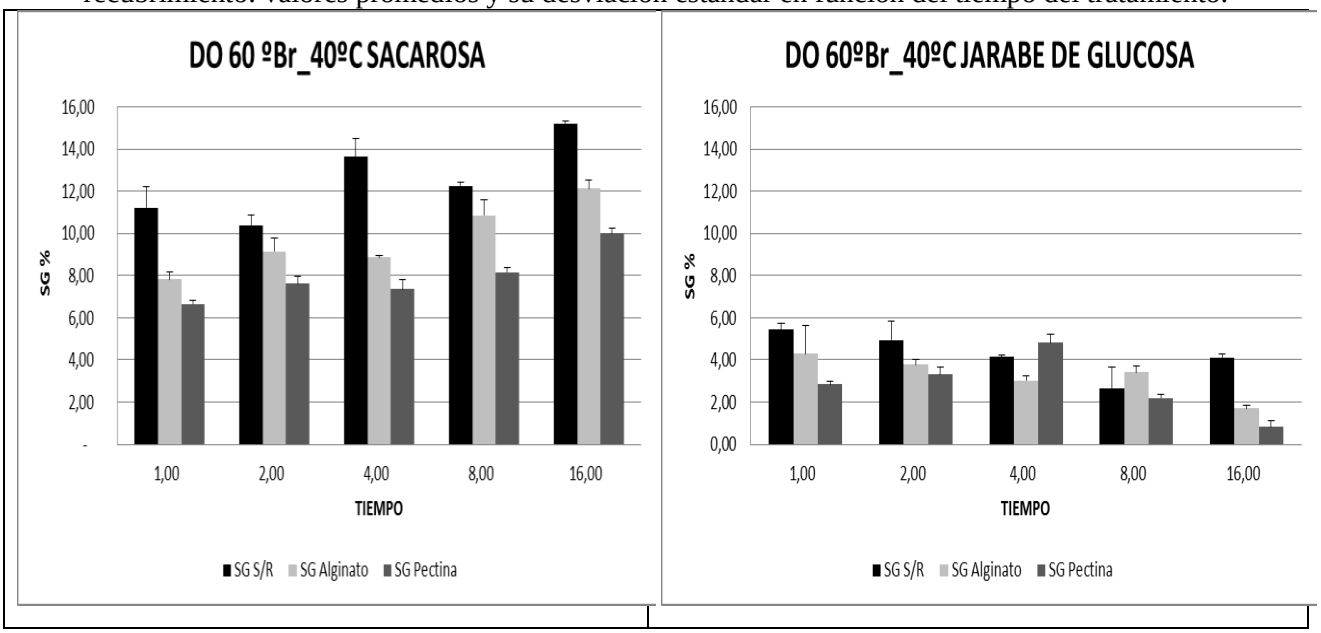


Figura 2. Cinéticas de SG en DO de cubos de peras con los diferentes sustratos seleccionados, con y sin recubrimiento: valores promedios y su desviación estándar en función del tiempo del tratamiento.

Con respecto a las características texturales, en las primeras 8 horas de la DO con SAC, se observó que la Fuerza Normalizada de Penetración (FNP) se ve reducida a aproximadamente un 50 % en los cubos de pera sin recubrimientos, lo que expresa una pérdida relativa de la firmeza. Con la aplicación de los recubrimientos, se apreció una leve mejoría de la firmeza hacia valores más próximos a la condición fresca (control). Cuando la DO fue realizada con JG, la firmeza de las muestras sin recubrimiento fue muy superior a la condición fresca (**Figura 3**).

Es de destacar que la conservación relativa de la firmeza se presentó independientemente del medio osmodeshidratante empleado, siendo los recubrimientos de Alg en SAC y los de Pec en JG los que

permitieron una firmeza más próxima a la muestra Fresca.
Además, los resultados encontrados permiten inferir que si bien en los primeros tiempos en SAC hay una pérdida de FNP en las muestras con recubrimiento, hay una recuperación posterior de la misma, que puede deberse a la acumulación de sólidos en la superficie.

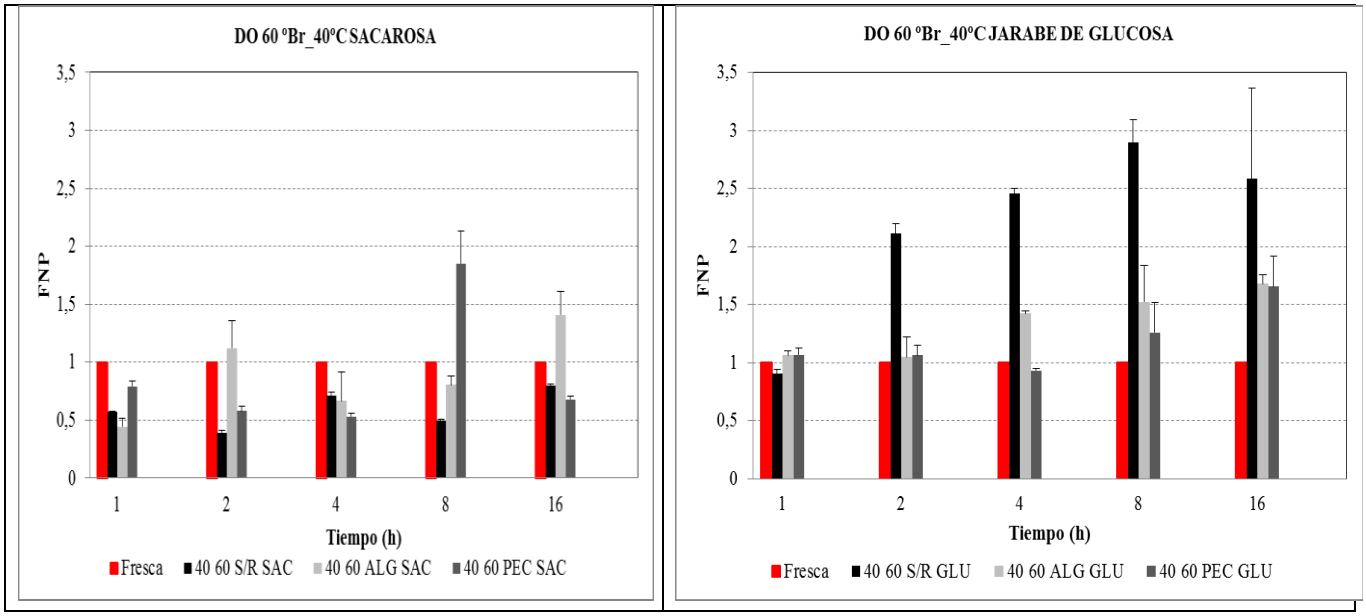


Figura 3. Efecto sobre la firmeza de los diferentes tratamientos con y sin recubrimiento: valores experimentales promedios de FNP en función del tiempo del tratamiento para SAC y JG.

Las características microestructurales de los tejidos de pera y los recubrimientos seleccionados, antes y después del tratamiento de recubrimiento se presentan en la **Figura 4**. Las micrografías obtenidas permitieron la observación de la superficie, constatar la presencia de recubrimiento y la integridad de las muestras. La Figura 4a muestra la estructura celular del tejido de pera y en las **Figura 4b** y **4c** se observa la superficie de los recubrimientos de Alg y de Pec, respectivamente. La superficie de Alg resulta más lisa y homogénea que en el caso de Pec. Esto podría deberse a que si bien ambos hidrocoloides gelan químicamente en presencia de Ca^{+2}, los arreglos estructurales correspondientes a los segmentos de ácido gulurónico y manurónico del alginato permiten el desarrollo de una estructura más ordenadas que los grupos metoxilos de la pectina (Galus y Lenart 2013).

En la **Figura 5** se observa la morfología de las superficies y las secciones transversales las peras procesadas con sacarosa para el caso de Alg (a,b) y Pec (c,d). En la **Figura 5a** se puede constatar la presencia del recubrimiento de Alg sobre los cubos deshidratados y observar cómo se modificó su integridad a partir de indicios de formación de irregularidades y de grietas superficiales. En la **Figura 5b** se muestra un desprendimiento del recubrimiento de Alg luego de la DO, cuyo espesor se aproximó a 50,88 µm, esta micrografía permitió evidenciar la presencia y conservación del recubrimiento a lo largo de la DO. En la **Figura 5c**, se puede constatar la presencia del recubrimiento de Pec sobre los cubos deshidratados y observar cómo se modificó su integridad luego de la DO, en este caso se detectaron la presencia de grietas de mayor tamaño y un mayor colapso estructural del tejido vegetal. En la Figura 5d se muestra la estimación del espesor de recubrimiento de Pec luego de la DO, que se aproximó a 328,5 µm. A pesar de que el espesor del recubrimiento de Pec fue mayor que el de Alg, este se mantuvo unido al tejido vegetal. Resultados similares se encontraron en un trabajo previo sobre otra matriz vegetal (Rodriguez et al. 2015).

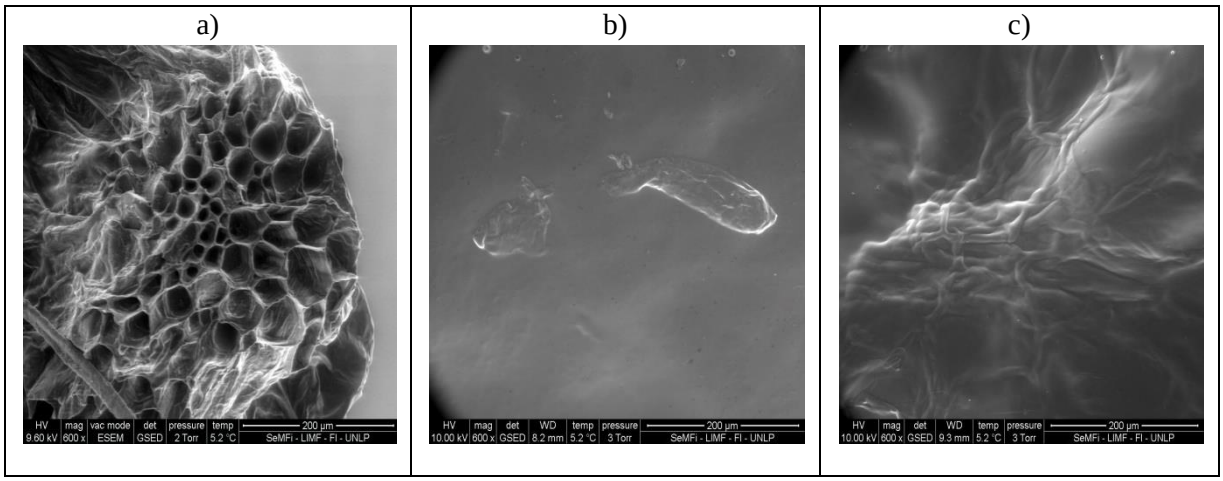
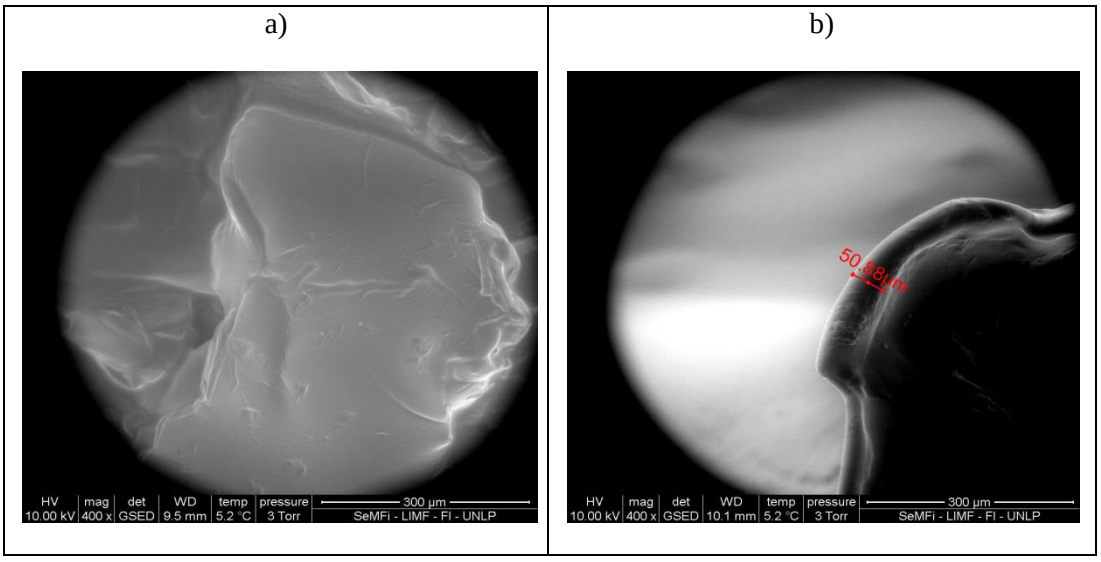


Figura 4. Micrografías de la superficie de peras sin recubrir (a) y recubiertas con Alginato (b) y con Pectina (c) antes de las DO con los diferentes medios osmodeshidratantes.



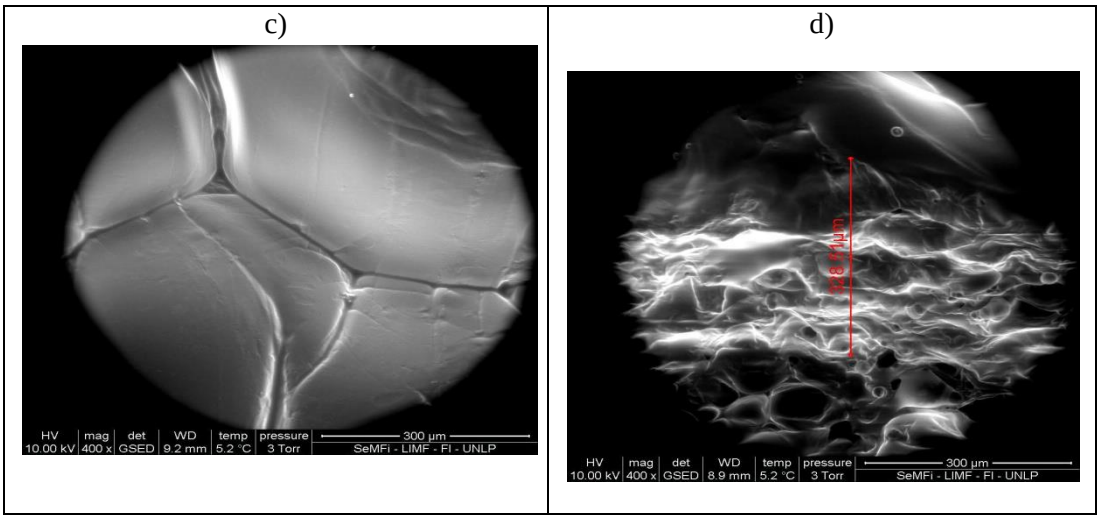
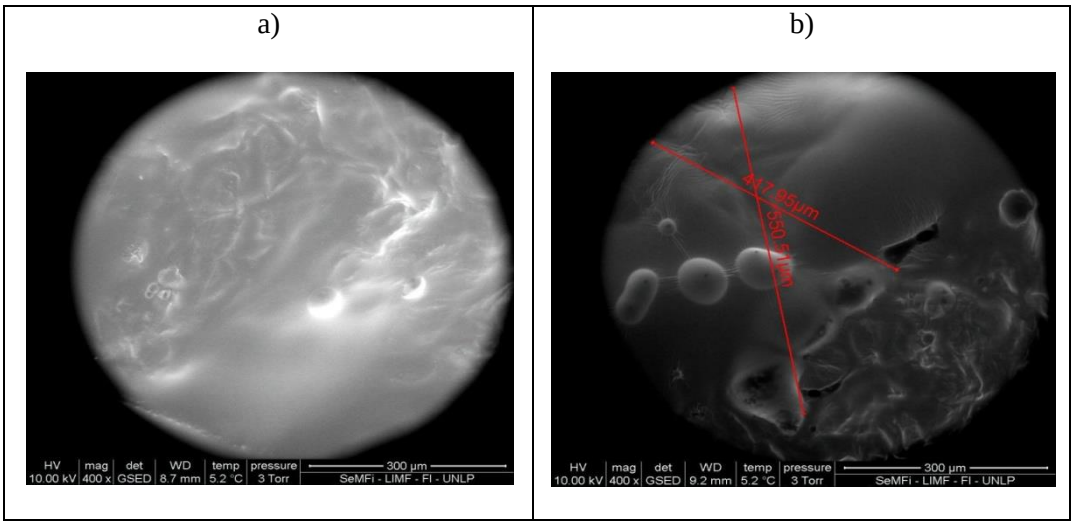


Figura 5. Micrografias de la superficie de peras recubiertas luego de ser sometidas a DO en sacarosa. a) y b) Alginato, c) y d) Pectina.

La **Figura 6** muestra las superficies y las secciones transversales de las peras recubiertas después de DO con jarabe de glucosa para Alg y Pec. En la **Figura 6a**, se puede constatar la presencia del recubrimiento de Alg sobre los cubos deshidratados y observar que las modificaciones estructurales en esta DO fueron menores que en el caso de SAC. En la **Figura 6b** se muestra la estimación del espesor de recubrimiento de Alg luego de la DO, que se aproximó a 417,95 µm. En la **Figura 6c**, se puede visualizar la presencia del recubrimiento de Pec sobre los cubos deshidratados y observar cómo se modificó su integridad, donde para estas circunstancias se pudo detectar la presencia de grietas en la superficie del recubrimiento deshidratado. En la **Figura 6d** se muestra la estimación del espesor de recubrimiento de Pec luego de la DO, que se aproximó a 259,34 µm.



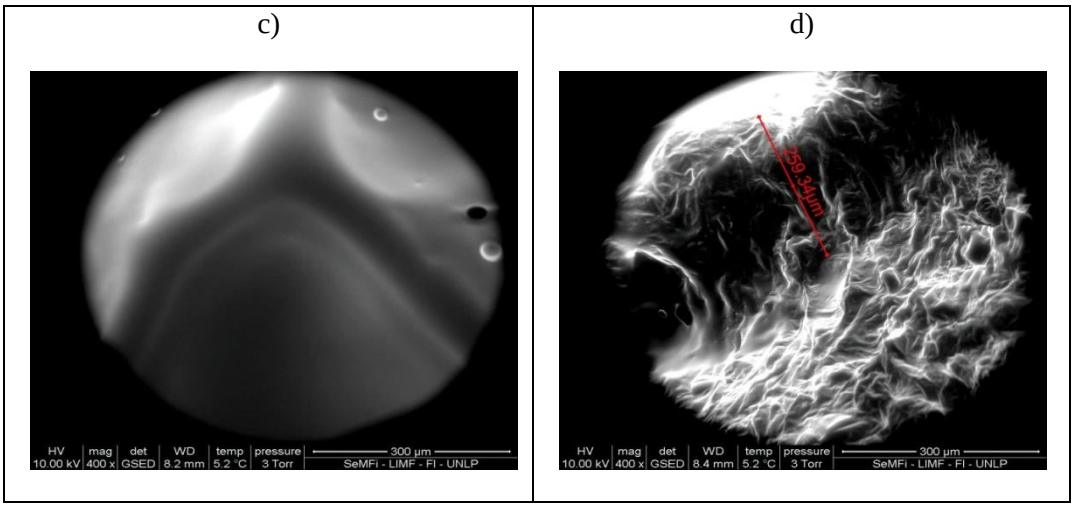


Figura 6. Micrografías de la superficie de peras recubiertas luego de la DO en jarabe de glucosa. a) y b) Alginato, c) y d) Pectina.

CONCLUSIONES

Los recubrimientos utilizados disminuyeron significativamente la captación de sólidos, sin afectar negativamente a la eliminación del agua en comparación a las muestras control. Además, el recubrimiento de pectina actuó como barrera efectiva para evitar la captación de soluto en el tratamiento osmótico con SAC y JG. Los cambios en la textura del producto osmodeshidratado fueron menores con la aplicación de los hidrogeles. Los análisis microestructurales permitieron constatar la presencia de los recubrimientos después de la DO.

Por lo tanto, la aplicación de pectina y alginato como recubrimiento tiene ventajas considerables en la DO y en la conservación de parámetros texturales de peras mínimamente procesadas.

BIBLIOGRAFÍA

Abraão, A. S., Lemos, A. M., Vilela, A., Sousa, J. M., & Nunes, F. M. (2013). Influence of osmotic dehydration process parameters on the quality of candied pumpkins. Food and Bioproducts Processing, 91(4), 481–494. Ahmed, I., Qazi, I. M., & Jamal, S. (2016). Developments in osmotic dehydration technique for the preservation of fruits and vegetables. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 34, 29–43.

AOAC. (1980). AOAC: Official Methods of Analysis, 1980, 552(c).

Galus, S., & Lenart, A. (2013). Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. Journal of Food Engineering, 115(4), 459–465.

Giovanelli, G., Brambilla, A., Rizzolo, A., & Sinelli, N. (2012). Effects of blanching pre-treatment and sugar composition of the osmotic solution on physico-chemical, morphological and antioxidant characteristics of osmodehydrated blueberries (Vaccinium corymbosum L.). Food Research International, 49(1), 263–271.

Jalaee, F., Fazeli, A., Fatemian, H., & Tavakolipour, H. (2011). Mass transfer coefficient and the characteristics of coated apples in osmotic dehydrating. Food and Bioproducts Processing, 89(4), 367–374.

Khin, M. M., Zhou, W., & Perera, C. O. (2006). A study of the mass transfer in osmotic dehydration of coated potato cubes. Journal of Food Engineering, 77(1), 84–95.

Khin, M. M., Zhou, W., & Yeo, S. Y. (2007). Mass transfer in the osmotic dehydration of coated apple cubes by using maltodextrin as the coating material and their textural properties. Journal of Food Engineering, 81(3), 514–522.

Lazarides, H. N., Mitrakas, G. E., & Matsos, K. I. (2007). Edible coating and counter-current product/solution contacting: A novel approach to monitoring solids uptake during osmotic dehydration of a

model food system. Journal of Food Engineering, 82(2), 171–177.
Matuska, M., Lenart, A., & Lazarides, H. N. (2006). On the use of edible coatings to monitor osmotic dehydration kinetics for minimal solids uptake. Journal of Food Engineering, 72(1), 85–91.
Mitrakas, G. E., Koutsoumanis, K. P., & Lazarides, H. N. (2008). Impact of edible coating with or without anti-microbial agent on microbial growth during osmotic dehydration and refrigerated storage of a model plant material. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9(4), 550–555.
Rodriguez, A., García, M. A., & Campañone, L. A. (2015). Experimental study of the application of edible coatings in pumpkin sticks submitted to osmotic dehydration. Drying Technology, 0(August 2015).
Talens, P., Pérez-Masía, R., Fabra, M. J., Vargas, M., & Chiralt, a. (2012). Application of edible coatings to partially dehydrated pineapple for use in fruit-cereal products. Journal of Food Engineering, 112(1-2), 86–93.

AGRADECIMIENTOS
Los autores agradecen el apoyo financiero de la Universidad Nacional de la Plata, CIDCA-CONICET, ME-SPU y Universidad Nacional de San Luis.

Correlación de las isotermas de adsorción de agua en leche en polvo descremada y entera reducida en lactosa

Soteras M.E, Gil J., Yacanto P., Muratona S., Míccolo M.E., Abaca C.

Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de San Luis. (Argentina).
emsoteras@unsl.edu.ar

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar las isotermas de adsorción de leche en polvo descremada y leche entera reducida en lactosa a diferentes temperaturas. Las experiencias se realizaron a 15, 25 y 40ºC, en un amplio rango de humedades y actividades de agua (a_w) propias de las condiciones en que se desarrollan los procesos de envasado y almacenamiento de la leche en polvo. Los datos experimentales fueron correlacionados con el modelo referencial de GAB (Guggenheim – Anderson – de Boer), el cual demostró en estudios anteriores tener un buen ajuste en el rango de actividad de agua ensayado. Las isotermas obtenidas a las temperaturas seleccionadas presentaron un trazado similar, respondiendo a una isoterma del tipo III según la clasificación de BET (Brunauer – Emmett – Teller). Comparando los dos tipos de leche en polvo, se observa la clara influencia de los monosacáridos glucosa y galactosa en sustitución de la lactosa, siendo éstos de mayor solubilidad, resultando una a_w menor en la leche reducida en lactosa a partir de a_w mayores a 0.4, a pesar del contenido graso de ésta que influye pero en menor grado en el comportamiento adsorptivo. Para a_w menores, ocurren mínimas superposiciones y entrecruzamientos.

Palabras clave: isotermas, actividad de agua, adsorción, leche en polvo.

ABSTRACT

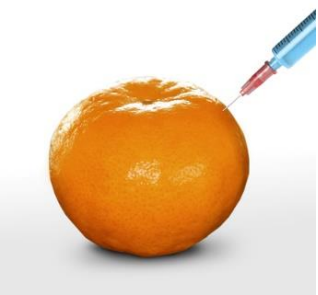
The aim of this study was to determine the adsorption isotherms of skimmed milk powder and whole milk reduced lactose at different temperatures. The experiments were conducted at 15°C, 25°C and 40°C in a wide range of humidity and water activities (a_w) typical of the conditions which the processes of packaging and storage of milk powder. The experimental data were correlated with the model GAB (Guggenheim - Anderson - de Boer), which demonstrated a good fit in the range of water activity tested. Isotherms showed a similar path to temperatures studied. Shape of the isotherm was of the type III according as classified by BET (Brunauer - Emmett - Teller). Comparing the two types of powdered milk, the clear influence of the monosaccharides glucose and galactose in place of lactose is observed, these being of greater solubility, resulting in a lower aw reduced lactose milk from higher a_w 0.4, despite the fat content of this influences but to a lesser degree in the adsorptive behavior. For smaller a_w, minimal overlaps and crossovers occur.

Keywords: isotherms, water activity, adsorption, milk powder.

INTRODUCCIÓN

La actividad de agua (a_w) es un parámetro indicativo de la disponibilidad de agua de un alimento para las distintas reacciones que producen el deterioro de la estabilidad del alimento, por lo que resulta de importancia para el análisis de las condiciones de procesamiento y predicción de la vida útil de los mismos (Barbosa-Cánovas et al. 2007). Se ha demostrado que la actividad del agua (a_w) depende de la temperatura en muchos productos. Por tal motivo, resulta de interés realizar las observaciones y comprobaciones a distintas temperaturas, dentro de los rangos habituales de fabricación, uso, transporte y almacenamiento del producto.

La relación entre el contenido total de humedad y la correspondiente actividad de agua a una temperatura se denomina isoterma de adsorción de humedad. Las isotermas de adsorción se utilizan en cuatro grandes áreas del procesado de alimentos: secado, mezcla, envasado y almacenamiento (Gálvez et al. 2006, Djendoubi et



al. 2012), siendo ampliamente usadas en el estudio de la primera área mencionada (Fu et al. 2012).
La adsorción ocurre inicialmente por la formación de una monocapa de agua alrededor de los enlaces iónicos de la superficie del producto seguida de una adsorción en multicapas mediante enlaces débiles, captación de agua en los poros y espacios capilares, y por disolución de solutos. Finalmente, para muy altos contenidos de agua, hay un atrapamiento mecánico de la misma. Estas fases pueden solaparse y difieren entre los distintos tipos de alimentos, dependiendo de su composición y estructura (Rao et al. 2005). El proceso de adsorción se analiza seleccionando modelos que representan el comportamiento del sistema, uno de los más utilizados es la ecuación de Guggenheim, Anderson y de Boer (GAB) (Barbosa-Cánovas y Vega-Mercado 2000), para estudiar e interpretar los resultados.
En la leche en polvo, la lactosa está presente en estado amorfo, no cristalino y metaestable. En estas condiciones, la lactosa tiende a adsorber humedad. Esto resulta en una plastificación de la misma, lo que incrementa la movilidad molecular y se puede traducir en una transición al estado cristalino. Esta situación puede acelerar los cambios degenerativos (Lin et al. 2005).
El objetivo del trabajo fue obtener y comparar, las isotermas de adsorción de agua a 15, 25 y 40ºC para la leche en polvo en sus presentaciones comerciales, descremada y entera reducida en lactosa. Las isotermas obtenidas experimentalmente fueron ajustadas al modelo de GAB.

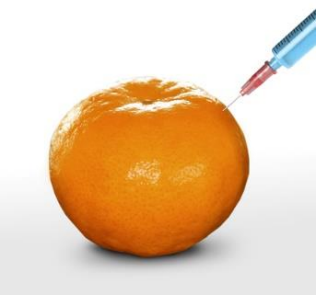
MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon muestras de leche en polvo descremada instantánea comercial de primera marca (Svelty, Nestlé, Argentina) y muestras de leche en polvo entera reducida en lactosa instantánea (La Serenísima, Argentina), ambas adquiridas en el mercado local. En la Tabla 1 se presenta la información nutricional de las leches. Las muestras de leche se desecaron a 85ºC (AOAC 1997) hasta obtener peso constante en estufa de laboratorio marca TECNODALVO, modelo TDE140 con control de temperatura. Posteriormente se fraccionaron en muestras de 1.5 g y se colocaron en una cabina de humidificación a humedad relativa de saturación durante lapsos de tiempos variables, a efectos de obtener muestras con valores crecientes de humedad. Las muestras se colocaron en un equipo Aqualab 3TE, marca Decagon Services INC. (USA), para determinar su actividad de agua por la técnica del punto de rocío. El contenido de humedad se determinó en forma gravimétrica en balanza analítica, marca RADWAG, modelo AS220/C/2. Las experiencias en la obtención de las isotermas se realizaron por triplicado.
A partir de las determinaciones experimentales se estableció la relación entre el contenido de humedad de las muestras con su actividad de agua (a_w) para el fenómeno de adsorción, correlacionando su comportamiento con el modelo de GAB (ecuación 1), lo que permitió comparar su comportamiento e interpretar los resultados, según experiencias ya realizadas por los autores (Yacanto et al. 2012, Gil et al. 2013, Yacanto et al. 2014, Gil et al. 2016).

Tabla 1: Información nutricional de la leche en polvo descremada y leche en polvo entera reducida en lactosa.

Composición Aproximada Por 100 cm^3	Unidad	Descremada(*)	Recucida en lactosa(*)
Valor Energético	kcal/kJ	36/151	64/267
Carbohidratos	G	5,2	5 (**)
Proteínas	G	3,5	3,4
Grasas totales	G	0	3,4
Sodio	Mg	48	48
Vitamina A	µg	36	67
Vitamina D	µg	0,23	1
Calcio	Mg	125	117
Fósforo	Mg	100	-

(*) Producto reconstituido listo para consumo, según información del fabricante, Leche descremada “Svelty,



Nestlé", Leche reducida en lactosa "La Serenísima".
(**) Del total de Carbohidratos: Lactosa 1g, Glucosa 2g, Galactosa 2g.

El Modelo de GAB se representa según la ecuación 1, que se detalla a continuación:

$$X = \frac{X_m.C.k.a_w}{(1-k.a_w).(1+(C-1).k.a_w)} \quad (1)$$

Donde:
X: contenido de humedad, kg agua/ kg masa seca
X_m: Contenido de humedad de monocapa, kg agua/ kg masa seca
C: constante de Guggenheim, característica del producto y relacionada con el calor de adsorción de la monocapa.
k: factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.
a_w: actividad de agua

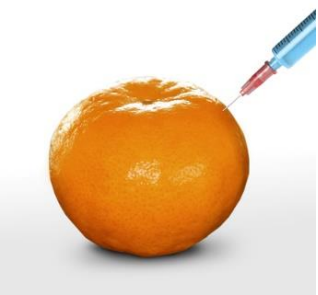
El coeficiente de correlación R^2 y el valor chi-cuadrado χ^2 fueron obtenidos para evaluar la bondad del ajuste del modelo propuesto. Este último está definido como la distancia entre el valor observado (Yi) y el valor estimado (f(xi;θ)) de la variable endógena (aquella que se va a predecir o calcular a través del modelo propuesto) elevada al cuadrado y se debe tratar que sea mínima para cada observación (AOAC, 1997). Se utilizó el software OriginPro8 (Nonlinear Curve Fit), donde en dicho programa el proceso de ajuste no lineal es iterativo y se completa cuando la diferencia entre la reducción de los valores de chi-cuadrado de dos iteraciones sucesivas es menor que un determinado valor de tolerancia (10^{-9}). Cuando el proceso se completa, se dice que el ajuste ha convergido. Como no se tiene la certeza de que el procedimiento iterativo ha llegado a un mínimo absoluto o relativo, se van dando diferentes valores de los parámetros iniciales y observa los resultados. Así si se recibe repetidamente el mismo resultado final, es poco probable que se haya encontrado un mínimo local sino el global. Éste parámetro de ajuste se calcula según la ecuación 2:

$$X^2 = \sum_{i=1}^{n} w_i \left[Y_i - f(x_i\,;\,\hat{\theta})\right]^2 \quad (2)$$

Donde $w_i = 1$
Si $\chi^2 = 0$, los valores observados y esperados concuerdan exactamente, mientras que si $\chi^2>0$ habrá errores. A valores mayores de χ^2, mayores serán las discrepancias entre estos valores. Cuanto más se aproxima a cero el valor de chi-cuadrado, más ajustadas están ambas distribuciones.
Por otro lado R^2, que puede tomar valores entre 0 y 1, da idea de la correlación entre las variables dependiente (X) e independiente (aw), dicha correlación es mayor a medida que R^2 se aproxima a 1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a las experiencias realizadas, se comprobaron diferencias de comportamiento en el trazado de las isotermas para los dos tipos de leche en polvo analizados. En la **Figura 1** se observa que las curvas de adsorción presentan un crecimiento muy lento hasta a_w igual a 0,35. Este valor podría corresponder al rango de agua ligada como monocapa. Sin embargo, el modelado con GAB no da cuenta de este fenómeno, ya que éste reproduce mejor curvas con forma sigmoidea que nacen en el origen de coordenadas, es decir, si bien da una buena predicción general, se adapta mejor a isotermas de productos con baja proporción de sólidos solubles, que no es el caso de la leche en polvo debido a la presencia de la lactosa. Por este motivo, la



explicación podría buscarse, también, en algún cambio químico ó físico que experimentan los hidratos de carbono y/o proteínas que componen la muestra, es decir la posibilidad de cristalización de la lactosa. Esta manifestación en las curvas también fue observada por Gálvez et al. (2006) quienes trabajaron con harina de maíz. Posteriormente, a mayor contenido de humedad, aparece un marcado crecimiento de la pendiente de la curva entre valores de a_w igual a 0,35 y 0,7 correspondiente a un contenido de humedad del 10 kg de agua por cada 100 kg de masa seca (**Figuras 1** a **3**). A partir de una a_w igual a 0.7 se observa un crecimiento más rápido, correspondiente a la formación de multicapas y/ó atrapamiento de agua dentro de las cadenas proteicas. Las isotermas a las tres temperaturas ensayadas, presenta un punto de entrecruzamiento para a_w = 0.5 (**Figura 1**). La forma de las curvas es similar a las observadas por Shrestha et al. (2007) quienes estudiaron la leche en polvo descremada con lactosa hidrolizada y Lin et al. (2005) quienes realizaron sus estudios sobre leche en polvo entera.

El comportamiento diferencial entre las curvas de sorción de la leche descremada y leche entera reducida en lactosa se correspondería a la presencia de los monosacáridos glucosa y galactosa, en esta última, considerablemente más solubles que la lactosa, mostrando mayores valores de a_w en la leche descremada a partir de a_w superiores a 0.7 (**Figura 1**).

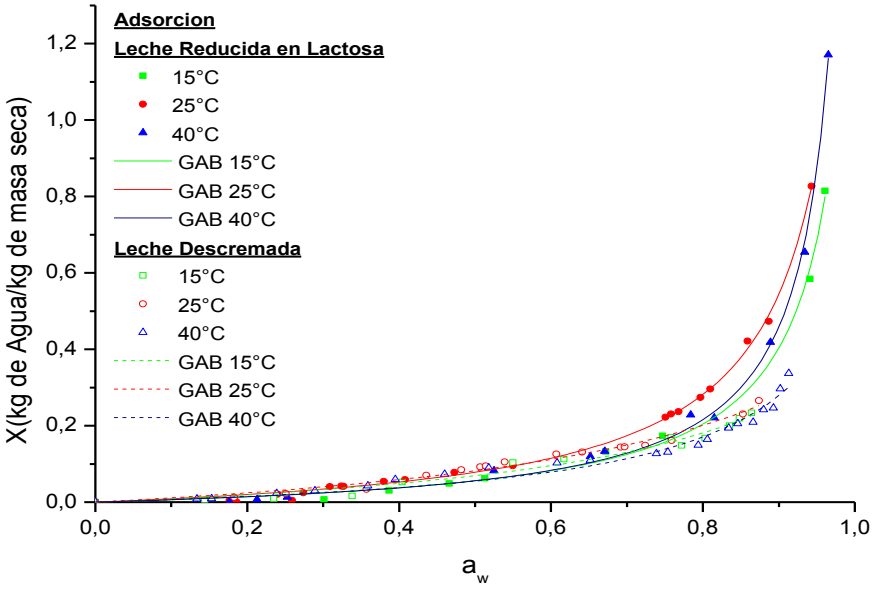


Figura 1. Isotermas de Adsorción para la leche descremada y leche reducida en lactosa obtenidas a 15ºC, 25ºC, 40ºC

En la **Tabla 2** se muestran los valores de los parámetros X_m, C y k del modelo de GAB y se evalúa el grado de ajuste a través de los parámetros estadísticos R^2 y χ^2. Se determinó que el modelado también acompaña la observación del fenómeno señalado, mostrando que los valores de contenido de agua en la monocapa (X_m), resultan del mismo orden de magnitud en los dos tipos de leche estudiadas.

Tabla 2. Valores de los parámetros del modelo de GAB para la leche reducida en lactosa y leche descremada.

	X_m(kg de agua/kg masa seca)	k	C	Estadísticos

Temperatura (°C)	Valor	Error	Valor	Error	Valor	Error	χ^2	R^2
Leche Reducida en Lactosa								
15	0,10018	0,56167	1,01993	0,27366	1,1237	6,486	3,543E-4	0,995
25	0,07149	0,55908	0,99784	0,27001	2,27343	18,279	1,078E-4	0,997
40	0,05945	0,20079	1,01778	0,09099	1,87327	6,34744	3,820E-4	0,997
Leche Descremada								
15	0,08152	52,56768	0,81977	22,1233	2,5136	1688,14097	2,214E-4	0,970
25	0,1072	44,44131	0,77195	17,89461	2,52378	1104,39489	1,172E-4	0,978
40	0,09539	8,91253	0,93727	4,24951	1,3644	133,39151	3,210E-4	0,966

En la leche reducida en lactosa se observó que la a_w fue mayor a 40ºC que a 25ºC, tal como era de esperarse este comportamiento, por la mayor incidencia de la temperatura más que por la solubilidad de los monosacáridos presentes. No obstante, para la isoterma a 15ºC se invierte este comportamiento, ya que a partir del rango de a_w entre 0,3-0,4, la misma en este caso es mayor que para las otras temperaturas, debido a una menor influencia de la solubilidad de los monosacáridos a una menor temperatura (**Figura 2**).

En la **Figura 3** se observan las isotermas de la leche descremada a las diferentes temperaturas, donde se puede apreciar una mayor a_w a medida que se aumenta la temperatura de los ensayos. En esta oportunidad la isoterma de 15ºC es más próxima a la isoterma de 25ºC, lo que indicaría un cambio de comportamiento a bajas temperatura, distinto del presentado en la leche reducida en lactosa. Algunos estudios han reportado puntos de entrecruzamiento en función de la temperatura en actividades de agua por encima de 0.7 para productos con altos contenidos de azúcar como es el caso de frutas (Bronlund y Paterson 2004), este comportamiento se asocia a un aumento en la solubilidad de azúcares motivadas por el aumento de temperatura (Soto y Candelas 2007).

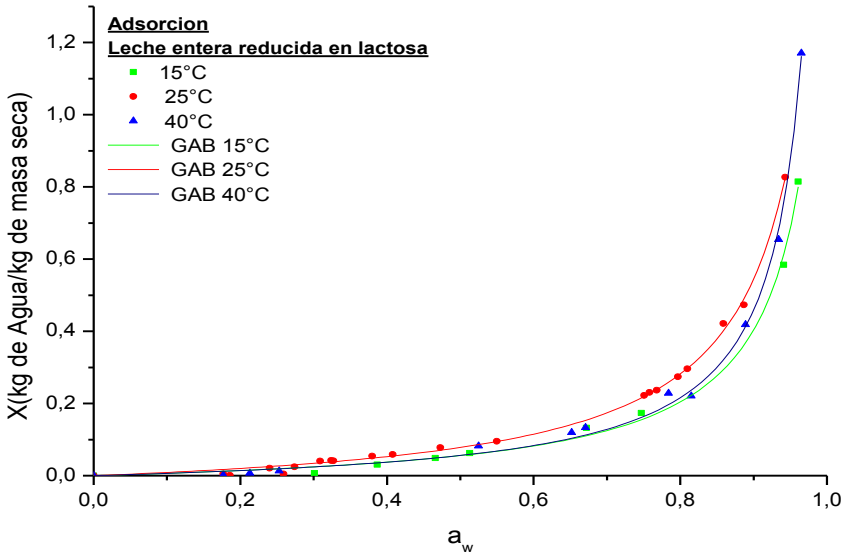


Figura 2. Isotermas de adsorción leche entera reducida en lactosa a 15ºC, 25ºC, 40ºC

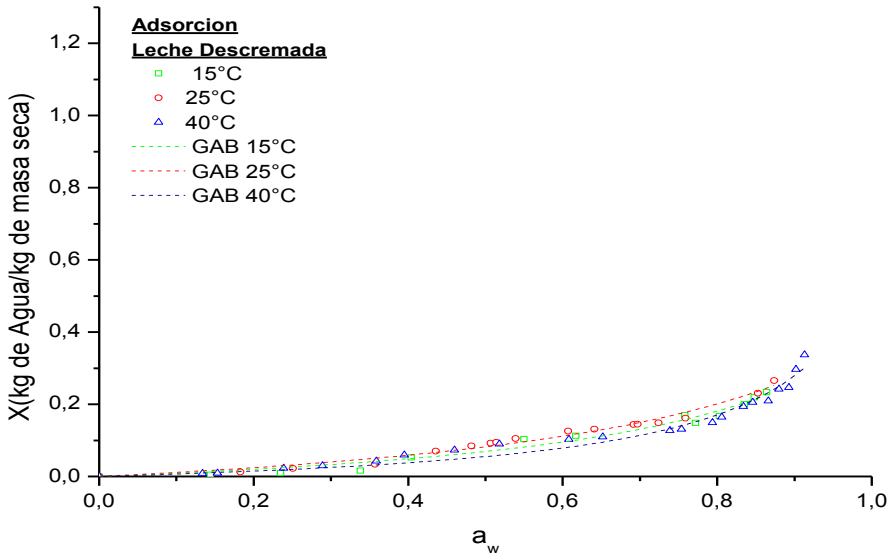


Figura 3. Isotermas de adsorción leche descremada a 15ºC, 25ºC, 40ºC

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados de este estudio, se puede concluir que la ecuación de GAB modela adecuadamente los resultados experimentales para todos los casos. Las isotermas presentaron formas y comportamientos muy similares entre sí para las tres temperaturas de trabajo, observando la clara influencia de la presencia de los monosacáridos glucosa y galactosa en sustitución de la lactosa, que al ser significativamente de mayor solubilidad y mayor captación de agua, hacen que la actividad de agua para las tres temperaturas estudiadas resulte menor en la leche reducida en lactosa a partir de a_w mayores a 0.4. Resultados similares fueron reportados en otros trabajos donde se estudió el fenómeno para el comportamiento de la lactosa hidrolizada (Shrestha et al. 2007). Para a_w menores a 0.4, no se observan diferencias como en el caso de actividades de agua superiores, probablemente porque la cantidad de agua que se adsorbe a nivel de monocapa sobre la superficie de la caseína y azúcares presentes es muy similar tanto en la leche entera reducida en lactosa como en la descremada, y no se aprecian efectos del contenido lipídico.

La reducción de la lactosa en un 80% a expensas de la transformación en dos azúcares de mayor solubilidad, como la glucosa y galactosa, hace que los valores de actividad de agua obtenidos dentro de los rangos de almacenamiento del producto, sean seguros en cuanto al deterioro microbiano y al mantenimiento de su estabilidad química.

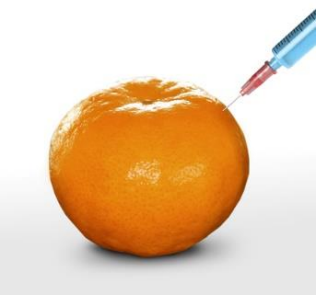
BIBLIOGRAFÍA

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. 1997. Official Methods of Analysis. Nº 934.06, Arlington, VA. pag 1141.

Barbosa-Cánovas GV, Vega-Mercado H. 2000. Deshidratación de Alimentos. Zaragoza: Acribia S.A. pag 314.

Barbosa-Cánovas GV, Fontana AJ, Schmidt SJ, Labuza TP. 2007. Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications, 1ra ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. pag 423.

Bronlund J, Paterson T. 2004. Moisture sorption isotherms for crystalline, amorphous and predominantly crystalline lactose powders. Internacional Dairy Journal, 14: 247-254.



Djendoubi MN, Bonazzi C, Boudhrioua N, Kechaou N, Courtois F. 2012. Influence of sugar composition on water sorption isotherms and on glass transition in apricots. Journal of Food Engineering, 111: 403-411.
Fu N, Woo MW, Selomulya C, Chen XD, Patel K, Schuck P, Jeantet R. 2012. Drying kinetics of skim milk with 50 wt % initial solids. Journal of Food Engineering, 109: 701-711.
Gálvez AV, Aravena EL, Mondaca RL. 2006. Isotermas de Adsorción en Harina de Maíz. Ciencia y Tecnología de Alimentos, 26: 821-827.
Gil J, Yacanto P, Muratona S, Abaca CR, Esquenoni SM. 2016. Influencia de la composición de la leche en polvo sobre la actividad de agua aplicando el modelo de GAB. Avances en Ciencias e Ingeniería, 7: 41-47.
Gil J, Muratona S, Yacanto P, Soteras EM, Abaca C, Sustersic M. 2013. Water Adsorption and Desorption Isotherms on non-Fat Dry Milk. Avances en Ciencias e Ingeniería, 4: 51-59.
Lin SXQ, Chen XD, Pearce DL. 2005. Desorption isotherm of milk powders at elevated temperatures and over a wide range of relative humidity. Journal of Food Engineering, 68: 257-264.
Rizvi SH. 2005. Thermodynamic properties of foods in dehydration. En: Rao MA, Rizvi SH, Datta AK. Engineering Properties of Foods. 3ra ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group. pag 239-326.
Shrestha AK, Howes T, Adhikari BP, Bhandari BR. 2007. Water sorption and glass transition properties of spray dried lactose hydrolysed skim milk powder. Food Science and Technology, 40: 1593-1600.
Soto MJA, Candelas CMG. 2007. Isotermas de sorción a diferentes temperaturas para el higo variedad Misión. IX Congreso de Ciencia de los Alimentos y V Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango. 594-598.
Yacanto P, Soteras E, Gil J, Muratona S, Esquenoni S, Abaca C, Sustersic M. 2012. Isotermas de adsorción y desorción de agua en leche en polvo entera. (Influencia de la temperatura). En XXIX Congreso Argentino de Química. 3-5 de Octubre. Mar del Plata. Argentina.
Yacanto P, Gil J, Muratona S, Abaca C, Sustersic M. 2014. Estudio comparativo de las isotermas de sorción de agua en leche en polvo entera y reducida en lactosa. En 30º Congreso Argentino de Química. 22 – 24 de Octubre. Buenos Aires. Argentina.

AGRADECIMIENTOS
Los autores del presente trabajo quieren agradecer a la Secretaría de Investigación y Posgrado de la FICA (UNSL) por el subsidio recibido para la concreción del mismo.

Modelado matemático del secado-tostado de quinoa remojada. Transferencia de materia y energía acoplada

Torrez Irigoyen R.M.[1,2], Giner S.A.[1,2,3]

[1] Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Calle 47 y 116 (1900)- La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
[2] Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata.
[3] Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.
martin.torrez67@gmail.com

RESUMEN

La quínoa posee un mayor contenido de proteína (11-16%) y mejor perfil de aminoácidos en comparación con los cereales. El objetivo de este trabajo fue estudiar la cinética de transferencia de materia y energía durante el secado-tostado en capa delgada fluidizada, de quínoa lavada, un tratamiento conveniente para la preparación de un producto listo para consumir. Las curvas experimentales del contenido de humedad y de temperatura de producto se midieron en función del tiempo para temperaturas de aire entre 80 y 140ºC (v_a= 0,8 m/s). Se propuso un sistema de dos ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO), una de ellas un balance macroscópico de energía. El coeficiente de difusión se estimó mediante una ecuación tipo Arrhenius, función de la temperatura utilizando todo el conjunto de datos. La energía de activación y el factor pre-exponencial se estimaron mediante integración numérica del sistema y un procedimiento de optimización. Los valores obtenidos fueron E_a= 39,9 kJ/mol y D_0= 2,872 × 10^{-4} m^2/s, respectivamente. Se encontró un ajuste satisfactorio de los datos predichos a los experimentales; r^2=0,981 y un error cuadrático medio (*ECM*) de 0,035 kg agua/ kg materia seca para las curvas de humedad, mientras que para el perfil de temperatura un r^2=0,999 y *ECM*=1,1 ºC.

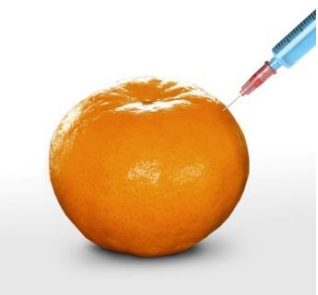
Palabras clave: quínoa, secado-tostado, optimización, fluidización.

ABSTRACT

Quinoa has higher protein content (11-16% m/m) and better amino acid profile than most cereals. The aim of this work was to study the kinetics of mass and energy transfer during fluidised thin layer drying-roasting of washed quinoa, a treatment suitable for preparing a ready-to-eat food. The experimental curves of moisture content and temperature were measured as a function of time for air temperatures between 80 and 140ºC (v_a= 0.8 m/s). A coupled mass and energy model was proposed, composed by two ordinary differential equations (ODE), one of them a macroscopic energy balance for heat transfer. The model was used to fit the effective diffusion coefficient, directly proposed to be an Arrhenius function of temperature using the whole dataset. The activation energy and pre-exponential factor were estimated by a numerical integration of the ODE system followed by a parameter optimization procedure. Values obtained were E_a= 39.9 kJ/mol and D_0= 2.872 × 10^{-4} m^2/s, respectively. Predicted moisture content and temperatures agreed well with experimental values. An r^2 = 0.981 and root mean square error (*RMSE*) of 0.035 kg water/kg dry matter were found for moisture curves, while for the temperature profile, values were r^2 = 0.999 and *RMSE* = 1.126ºC.

Keywords: quinoa, drying-roasting, optimization, fluidisation.

INTRODUCCIÓN

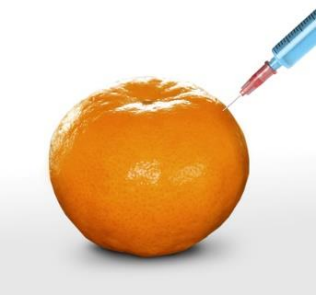


La quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) es un grano característico de las regiones andinas. En Argentina se cultiva en pequeñas áreas en las provincias de Jujuy y Salta (Alarcón et al. 2012). La quínoa contiene mayor contenido de proteína (11-16% p/p) con respecto a los cereales. Además al no poseer gluten, constituye un alimento adecuado para celíacos (Ridout 1991). En base a estas características, en años recientes el grano de quínoa ha adquirido importancia económica por la demanda local y mundial, generando la revalorización de su cultivo (Erramouspe et al. 2005). Este creciente interés, llevó a la FAO a declarar a 2013 como el Año Internacional de la Quinoa (FAO 2013). No obstante, este grano presenta antinutrientes amargos, llamados saponinas, que afectan principalmente la digestión de las proteínas (Francis et al., 2002). En consecuencia, resulta imprescindible eliminarlas antes de su consumo. La desaponificación (denominada "lavado") es una extracción sólido-líquido que se realiza por agitación manual de los granos con agua corriente, con la cual las saponinas forman espuma; el cese de la formación de espuma indica el final de esta operación (Ridout 1991). Por otra parte, Torrez Irigoyen y Giner (2011) desarrollaron un método para producir un snack crocante, listo para consumir a partir de soja. Dicho proceso consistió en una primera etapa de remojado, en la cual el grano incrementaba su volumen seguido inmediatamente de una etapa rápida de secado-tostado, dando lugar a un producto sumamente estable (a_w=0,2), más poroso y con gran aceptabilidad. Con el propósito de describir la cinética de secado, en la mayoría de los estudios el alimento es expuesto a condiciones constantes de aire para confinar las variaciones al producto, y así poder medir sus parámetros en relación a tales condiciones. Para tal fin, diversos modelos matemáticos empíricos y semiteóricos han sido utilizados por diversos autores (Perea-Flores et al. 2012, Da Silva et al. 2014, Tanaka et al. 2015, Ruhanian y Movagharnejad 2016). Estos modelos son de utilidad para describir las curvas de secado en las condiciones estudiadas, pero no representan una mejora sustancial en el conocimiento acerca de los fenómenos que tienen lugar durante el secado. Otros autores realizaron una mejor aproximación utilizando soluciones analíticas basadas en la teoría del mecanismo difusivo para ajustar las curvas de secado considerando procesos isotérmicos (Gely y Santalla, 2007, Da Silva et al. 2009, Doymaz y Ismail 2011, Torrez Irigoyen y Giner 2014). Aún así, estos estudios correlacionan el coeficiente de difusión (D_{eff}) con la temperatura del aire, ignorando la historia térmica del producto durante el proceso. Di Scala y Crapiste (2008) ajustaron el D_{eff} en pimientos rojos, asumiendo condiciones isotérmicas con la versión simplificada de la solución analítica de difusión para tiempos largos y emplearon ese parámetro para interpretar la transferencia de materia y energía acoplada, obteniendo resultados muy satisfactorios. Este proceso representa un avance en comparación con los métodos previamente mencionados, sin embargo desacopla los fenómenos de transferencia de calor y materia para el ajuste. Al respecto, Hertog et al. (2007) desarrollaron un software de optimización basado en lenguaje Matlab (OptiPa), que permite ajustar los parámetros mediante integración de una o un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO), seguido de optimización. Autores como Schouten et al. (2014) cuantificando el licopeno y clorofila en tomate, y Amodio et al. (2014) estudiando el contenido de fenoles durante el almacenamiento de frutas y vegetables, emplearon este software obteniendo gran calidad predictiva. Sin embargo, la aplicación de esta herramienta informática en el estudio de la cinética de secado parece no haber sido objeto de estudio aún. Además, no se encontraron en la bibliografía estudios de la cinética de secado-tostado de granos de quínoa a elevadas temperaturas y contenidos de humedad. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue estudiar la cinética de secado-tostado de quínoa lavada como un paso esencial en el diseño de un tratamiento térmico para producir un producto crocante tipo snack. Se propuso un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias para interpretar la transferencia de materia y energía acoplada, a partir del cual se ajustarán los parámetros del proceso por un método de integración de EDO seguido de optimización, empleando el software OptiPa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material

Se trabajó con granos de quínoa variedad CICA donados por el INTA EEA Famaillá, Provincia de Tucumán, Argentina. El contenido inicial de humedad fue de 0,111 kg agua/ kg materia seca.



Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó por triplicado mediante el método AOCS Ac 2-41 (130ºC, presión atmosférica, 3 h) en una estufa de convección forzada SAN JOR (Modelo SL30SDB), con una velocidad de aire de 0,25 m/s.

Determinación del volumen y radio de partícula

Se determinó el volumen de los granos remojados de quínoa (V_0) mediante un método picnométrico previamente descrito por Torrez Irigoyen y Giner (2011) en un trabajo realizado en soja. Con este valor se calcularon el diámetro equivalente de una esfera (D_e) y el radio de partícula (R).

Remojado y lavado para remover las saponinas

Los granos se inspeccionaron visualmente para remover materiales extraños, y posteriormente se dejaron en remojo en agua, relación agua: granos 3:1, durante 15 minutos, y a continuación se lavaron con agitación en agua corriente hasta observar que no se formará más espuma (Koziol 1991).

Secado superficial

Con el propósito de remover el agua superficial y facilitar la fluidización de los granos durante el secado-tostado, las muestras de quínoa remojadas experimentaron un secado superficial en capa delgada, en estufa de convección forzada (descrita previamente en este trabajo) a 50ºC durante 15 min.

Equipo de lecho fluidizado

La **Figura 1** es un dibujo del equipo de lecho fluidizado utilizado en este trabajo. Consiste de 6 componentes principales: A) la cámara de secado aislada térmicamente, de 0,10 m de diámetro interno y 0,30 m de altura, con una ventana de vidrio borosilicato para observar el proceso, B) un micromanómetro Testo 525 (rango: 0-25 hPa, error a fondo de escala 0,2%) para medir las diferencias de presión de aire a través del lecho, C) un control electrónico de temperatura del aire con un software desarrollado en lenguaje Java, D) un variador de frecuencia WEG (Modelo CFW-08, Brasil) que permite cambiar la velocidad de aire regulando la velocidad angular del ventilador, E) un anemómetro digital Testo 435 para medir la velocidad del flujo de aire a través del lecho, y F) un ventilador, alimentado por un motor eléctrico Siemens 0,55 kW (máxima velocidad angular, 2800 rev/min).

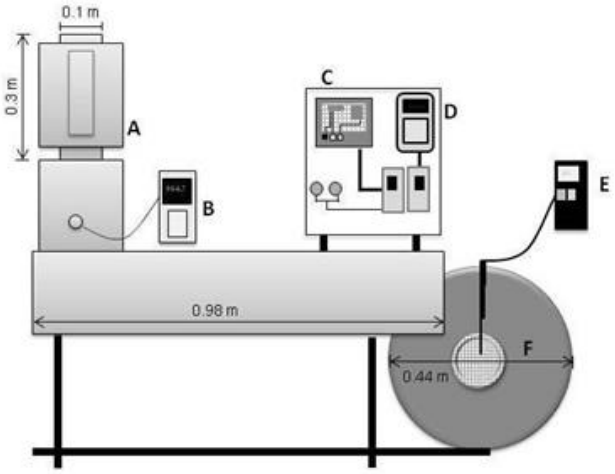


Figura 1. (A) Cámara de secado, (B) Micromanómetro Testo 525, (C) Circuito electrónico para el control de temperatura, (D) Controlador de la velocidad del ventilador, (E) Anemómetro digital Testo 435, (F) Ventilador.

Secado-tostado en capa delgada en lecho fluidizado

Las curvas experimentales de contenido de humedad y temperatura se midieron en función del tiempo, con temperaturas de aire a la entrada de 80, 100, 120 y 140°C y una velocidad promedio de aire de 0,8 m/s. El equipo se encendió, y una vez que las condiciones de aire y temperatura se estabilizaron, se cargó una capa

de granos de 0,01 m de espesor en la cámara de secado (masa inicial promedio de granos en las distintas experiencias: 31,01± 0,7 g). Se extrajeron muestras entre 1 y 30 min para la determinación del contenido de humedad. La historia térmica de los granos fue registrada utilizando un termómetro infrarrojo sin contacto Testo 832 T2 (Testo AG, Alemania). Cada punto fue el promedio de tres lecturas, realizadas cada dos minutos durante el proceso.

Modelado matemático del secado-tostado

Balance microscópico de materia con transporte difusivo

Tomando el volumen del grano constante como sistema y considerando que el agua migra dentro del grano por difusión. Para flujo de materia unidimensional radial en geometría esférica, considerando D_{eff} independiente del valor de humedad local se obtiene la siguiente expresión (Pabis et al. 1998):

$$\frac{\partial W_l}{\partial t} = D_{eff}\left(\frac{\partial^2 W_l}{\partial r^2} + \frac{2}{r}\frac{\partial W_l}{\partial r}\right) \quad (1)$$

La ecuación planteada vale en cada punto interior del sólido, y expresa al contenido de humedad local en base seca (W_l) del componente que difunde como función del tiempo (t) y la coordenada r, cuyos ejes son siempre perpendiculares a la superficie, y cuyo origen de coordenadas está en el centro de simetría. En condiciones de baja humedad, próxima a los rangos de humedad post-cosecha, el encogimiento del grano puede despreciarse, y el flujo difusivo respecto de la materia seca coincide con aquel tomado como si el sistema de coordenadas estuviera fijo.

Condiciones iniciales y de contorno en transferencia de materia

Condición inicial:

$$t=0 \qquad W_l = W_0 \qquad 0 \le r \le R \quad (2)$$

donde W_0 es el contenido de humedad inicial y R el radio del grano, igual a $1{,}58 \times 10^{-3}$ m.

Condición de simetría:

$$r = 0 \qquad \frac{\partial W_l}{\partial r} = 0 \qquad t > 0 \qquad (3)$$

Condición de contorno:

$$r = R \qquad W = W_e \qquad t > 0 \qquad (4)$$

Dadas las altas velocidades de aire empleadas durante el secado-tostado por la fluidización la resistencia externa prácticamente desaparece y el número de Biot (Bi_m) se incrementa lo suficiente como para establecer una condición de contorno prescripta, lo que significa un control interno estricto de la transferencia de materia (Giner et al. 2010). Los valores del contenido de humedad de equilibrio (W_e) para cada condición de secado-tostado fueron estimados mediante la ecuación de GAB modificada para quínoa (Tolaba et al. 2004). Sin embargo, los valores fueron muy bajos por lo que W_e se consideró igual a 0 en todas las experiencias.

Solución Analítica de la Ecuación de Difusión

Si se integran las humedades locales en el volumen de la esfera, considerando encogimiento despreciable y coeficiente de difusión constante, se llega a la siguiente expresión (Doymaz e Ísmail 2011).

$$W_{ad} = \frac{W - W_e}{W_0 - W_e} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{n=\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left[-n^2 \pi^2 \left(\frac{D_{eff}\, t}{R^2} \right) \right] \quad (5)$$

Esta ecuación describe la variación de la humedad media del grano con el tiempo. Torrez Irigoyen y Giner (2014) observaron que durante el secado-tostado de soja remojada, la solución analítica para esferas considerando D_{eff} y R constantes, presentó predicciones satisfactorias, aun despreciando el encogimiento que había sido medido experimentalmente en un trabajo previo (Torrez Irigoyen y Giner 2011). Este sorpresivo ajuste preciso se atribuyó a que la relación D_{eff}/R^2 (Ec.(5)) se mantuvo prácticamente constante durante el proceso. Por otra parte Becker (1959) desarrolló una ecuación difusiva equivalente a la ec. (5), más simple, para tiempos adimensionalmente cortos X <1 o para valores de humedad adimensional de 0,2< W_{ad} < 1. Esta ecuación con solo tres términos predice la curva de secado con gran exactitud.

$$W_{ad} = \frac{W_m - W_e}{W_0 - W_e} = 1 - \frac{2}{\sqrt{\pi}} \left(\frac{3}{R} \right) \sqrt{D_{eff}\, t} + 0{,}331 \left(\frac{3}{R} \right)^2 D_{eff}\, t \quad (6)$$

La ecuación anterior ha sido aplicada con éxito en el estudio de la cinética de secado post-cosecha de soja (Gely y Giner 2007). Por conveniencia, el tiempo adimensional se define como $X^2 = a_v^2\, D_{eff}\, t$ donde a_v representa el área superficial del grano por unidad de volumen, 3/R.

Dependencia del coeficiente de difusión con la temperatura

Para considerar la dependencia de D_{eff} con la temperatura, se utilizó una ecuación tipo Arrhenius.

$$D_{(T)} = D_0 \exp\left(-\frac{E_a}{R_g \left(T + 273{,}16 \right)} \right) \quad (7)$$

Donde R_g es la constante universal de los gases, 8,314 ×10^{-3} kJ /mol K; T la temperatura del grano, ºC; E_a la energía de activación, kJ/ mol y D_0 el factor pre-exponencial, m^2/ s.

Balance macroscópico de energía

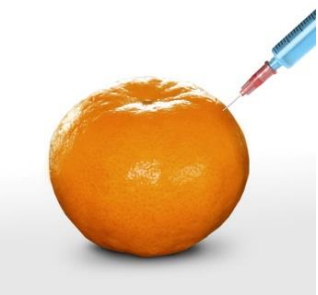
La temperatura del grano se asumió uniforme a nivel radial es decir, perfiles planos de temperatura en el interior pero variables con el tiempo (Rodríguez-Fernández et al. 2007). Esto se debe a que el número de Biot para la transferencia de calor tiende a cero en partículas pequeñas (Torrez Irigoyen et al. 2014). Por tanto, la transferencia de calor entre el aire y el grano es un fenómeno gobernado por control externo. El balance macroscópico de energía puede ser representado por la siguiente ecuación:

$$\rho_{so}\, C_p \frac{dT}{dt} = h_T\, a_v \left(T_a - T \right) - \rho_{so} \left(-\frac{dW_m}{dt} \right) L_g \quad (8)$$

Donde dT/dt es la velocidad del incremento de temperatura del grano de quínoa y ($-dW_m/dt$) es su velocidad de secado. El símbolo C_p es el calor especifico del grano, J/(kg materia seca ºC), mientras que L_g es el calor de desorción del agua en el grano, J/kg. A su vez, ρ_{so} representa la densidad de materia seca, kg/m^3, siendo T_a la temperatura del aire, ºC. La Ec.(8) representa una ecuación diferencial ordinaria con coeficientes variables que posee la siguiente condición inicial: para $t = t_0$, resulta $T = T_0$. Las derivadas son totales porque el perfil de temperatura en el grano se consideró plano. En este trabajo, el coeficiente de transferencia de calor (h_T) fue calculado mediante la correlación desarrollada por Vazquez y Calvelo (1983) para la fluidización de alimentos de diferentes geometrías.

Balance de materia y energía acoplados

Con el propósito de proponer un modelo cinético adecuado para el ajuste de los parámetros en condiciones



no-isotérmicas, se desarrolló un sistema de EDO. Esto nos permitirá ajustar la E_a y el D_0 a todo el conjunto de datos de humedad y temperatura en función del tiempo. En base a resultados obtenidos previamente (no presentados) se estudió la transferencia de materia utilizando de forma combinada la solución analítica en su forma de serie infinita para tiempos adimensionalmente cortos ($X^2 \leq 1$) y largos ($X^2 > 1$), ecuaciones 5 y 6, respectivamente. Derivando ambas expresiones con respecto al tiempo, obtenemos el siguiente sistema de ecuaciones:

para $X^2 \leq 1$

$$\frac{dW_m}{dt} = \frac{-(W_m - W_e)\left(\frac{3}{R}\right)\sqrt{\frac{D_0 \exp\left(\frac{E_a}{R_g(T+273.16)}\right)}{\pi t}} - 0.331\left(\frac{3}{R}\right)^2\left(D_0 \exp\left(\frac{E_a}{R_g(T+273.16)}\right)\right)}{1 - \frac{2}{\sqrt{\pi}}\left(\frac{3}{R}\right)\sqrt{\left(D_0 \exp\left(\frac{E_a}{R_g(T+273.16)}\right)\right)t} + 0.331\left(\frac{3}{R}\right)^2\left(D_0 \exp\left(\frac{E_a}{R_g(T+273.16)}\right)\right)t} \quad (9a)$$

para $X^2 > 1$

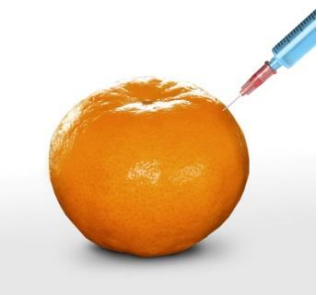
$$\frac{dW_m}{dt} = -(W_m - W_e)\left(D_0 \exp\left(\frac{E_a}{R_g(T+273.16)}\right)\right)\pi^2 \frac{\left(\frac{3}{R}\right)^2}{9} \quad (9b)$$

Balance macroscópico de energía

$$\frac{dT}{dt} = \frac{h_T\left(\frac{3}{R}\right)(T_a - T)}{\rho_{so}\, C_p} - \left(-\frac{dW_m}{dt}\right)\frac{L_w}{C_p} \quad (9c)$$

El procedimiento de presentar dos opciones de ecuación diferencial de transferencia de materia, acoplada con la de energía, para el ajuste de parámetros cinéticos de secado resulta novedoso. Un estudio previo realizado por Giner (2001) aplicó dos ecuaciones de manera alternativa para la simulación de diferentes condiciones de secado, pero el ajuste había sido realizado con la ecuación (6), considerando secado isotérmico.
El procedimiento de cálculo es el siguiente: dados los valores iniciales ($t= t_0$, $W= W_0$, $T= T_0$), y unos valores iniciales de E_a y D_0, los cálculos comenzaron a $t=t_0$. La velocidad de secado ($-dW_m/dt$) estimada con las ecuaciones 9*a* ó *b*, es utilizada en el balance macroscópico de energía para determinar dT/dt. El sistema de EDO se integra para obtener valores de W_m y T en el tiempo siguiente $t+\Delta t$. Esta secuencia se repite hasta alcanzar la duración del experimento (t_f=1800 seg). El sistema planteado (ecuaciones 9*a* ó 9b y 9c) incluyó las siguientes relaciones:
- Calor especifico, en J/(kg materia seca ºC), estimado mediante expresiones definidas por Mohsenin (1980), utilizadas por Torrez Irigoyen et al. (2014)

Para contenidos de humedad menores a 0,7 kg agua/kg materia seca



$$C_p = 1638{,}08 + 3566{,}19\, W_m \qquad (9d)$$

Para valores mayores *a 0,7 kg agua/kg materia seca*

$$C_p = 837{,}4 + 4187 W_m \qquad (9e)$$

Los valores del coeficiente de transferencia de calor fueron: 179,2; 173,8; 168,8 y 164,2 W/(kg ºC) para las experiencias a temperaturas de aire de 80, 100, 120 y 140ºC, respectivamente. Estos valores están dentro del rango informado por Souraki et al. (2009) de 100 a 400 W/m^2 ºC para tratamientos en lecho fluidizado y Vazquez y Calvelo (1983) para la fluidización de alimentos de diferente geometría. Estos autores consideraron que los elevados valores de h_T se deben al alto grado de mezclado experimentado por las partículas en la cámara de secado.

- Calor de desorción de agua en el grano, basados en resultados previos obtenidos por Torrez Irigoyen y Giner (2014) quienes no observaron un efecto de la temperatura en la actividad de agua (a_w) de soja remojada y parcialmente secada-tostada. Por tanto, L_g puede obtenerse a partir de la ecuación de Clapeyron para el calor latente de vaporización,

$$L_w = \frac{R}{M_v}\left[B - C\left(T + 273{,}2\right)\right] \qquad (9f)$$

Donde M_v es la masa molar del agua, B=6547,1 y C=4,23. Estos dos últimos parámetros corresponden a la ecuación de Kiefer para la correlación de presión de saturación líquido-vapor para el agua (Giner 2001).

Método de ajuste: integración del sistema de EDO y optimización de los parámetros

Los parámetros de las ecuaciones diferenciales ordinarias a ser ajustados en especial aquellos que dependen de las variables del sistema (W y T) implican un problema inverso que no puede resolverse por los métodos convencionales de ajuste de parámetros para ecuaciones integrales. En este trabajo, ambos procesos, el de integración del sistema no lineal de EDOs y el de optimización de parámetros se realizaron mediante el software OptiPa (Hertog et al. 2007) usando como valores iniciales de E_a y D_0 los obtenidos en trabajos previos asumiendo proceso isotérmico (Torrez Irigoyen y Giner 2014). Una vez que las curvas predichas de humedad y temperatura se calcularon mediante el *solver* de Matlab *ode23s*, seleccionado debido a la naturaleza tipo *stiff* (rigidez) del sistema de EDO, los valores predichos fueron comparados con los datos experimentales y la suma de residuos cuadrados (*SRC*) se utilizó en el algoritmo de optimización para aproximar iterativamente los parámetros desconocidos. Los ciclos de integración-optimización se repitieron hasta que la *SRC* fuera mínima. La rutina de optimización fue la del método de Levenberg-Marquardt para sistemas no-lineales. Los residuos cuadrados del contenido de humedad y temperatura se normalizaron, cada uno empleando la desviación estándar (s) del respectivo conjunto de datos experimentales. Dichos residuos se sumaron usando los datos de todos los experimentos realizados. La normalización de SRC nos permite trabajar en una base adimensional y combinar la suma de residuos de las diferentes variables dependientes para alcanzar un criterio de optimización único para todo el sistema.

$$SRC = \frac{1}{s^2_{W_{\exp}}}\sum_{j=1}^{k}\left(W_{m\,j} - W_{\exp,j}\right)^2 + \frac{1}{s^2_{T_{\exp}}}\sum_{j=1}^{k}\left(T_j - T_{\exp,j}\right)^2 \qquad (10)$$

Donde el subíndice *exp* representa los datos experimentales, mientras que j los valores predichos.

Análisis estadístico

Cada una de las experiencias se realizó por triplicado midiendo el contenido de humedad y la temperatura del

grano en función del tiempo. Las diferencias entre los datos experimentales se evaluaron mediante el Test de Tukey (Montgomery 1991), con un nivel de confianza del 95%. Para cada una de las variables dependientes, la bondad de ajuste se determinó mediante dos indicadores. El error cuadrático medio (*ECM*), expresado en las mismas unidades que la variable considerada:

$$ECM = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{p}\left(y_{pred,i} - y_{exp,i}\right)^2}{p}} \qquad (11)$$

donde $y_{exp,i}$ representan los datos experimentales, mientras que $y_{pred,i}$ los valores predichos. El otro indicador fue el r^2 o coeficiente de determinación estimado a través de la siguiente ecuación

$$r^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{p}\left(y_{exp,i} - y_{pred,i}\right)^2}{\sum_{i=1}^{p}\left(y_{\exp,i} - y_m\right)^2} \qquad (12)$$

donde $y_{m(i)}$ es el valor medio de los datos experimentales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Curvas experimentales de secado

A continuación se presentan las curvas de secado-tostado medidas para cada condición. El test de Tukey mostró que no existió diferencia significativa para un nivel de confianza del 95% entre los triplicados del contenido de humedad y temperatura de grano en todas las experiencias.

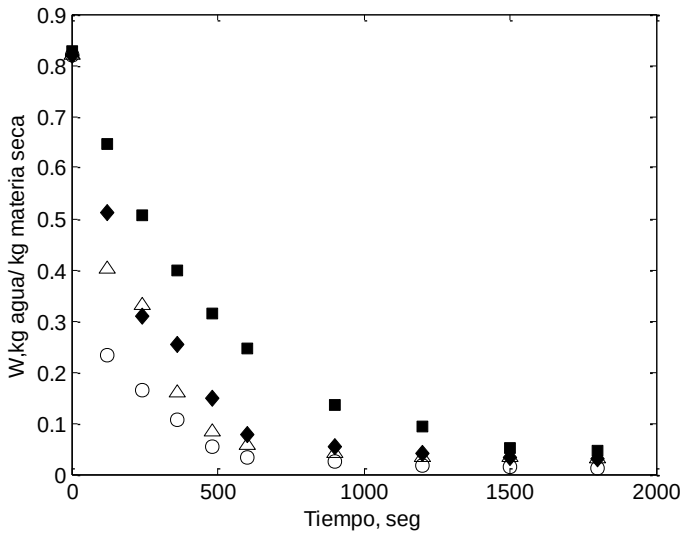
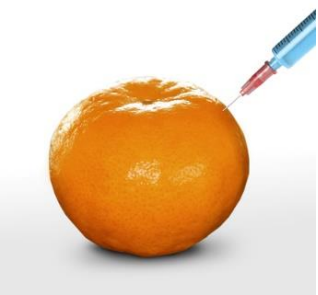


Figura 2. Curvas de secado experimental de grano de quínoa representadas como contenido de humedad en función del tiempo, para cada temperatura estudiada: (■) 80ºC, (♦) 100ºC, (△) 120ºC y (○) 140ºC.



De acuerdo a la **Fig.2**, las curvas de secado muestran un decrecimiento abrupto de la humedad con el tiempo, lo que sugiere un fuerte control interno. Como puede observarse la reducción de la humedad es mucho más rápida a mayores temperaturas. Gely y Santalla (2007) informaron resultados similares trabajando en un rango de temperaturas de 30 a 90ºC en granos de quínoa, mientras que Perea-Flores et al. (2012) hallaron un comportamiento parecido al estudiar el secado de semillas de ricino entre 80 a 110ºC.

Modelado de la transferencia de materia y energía acoplada

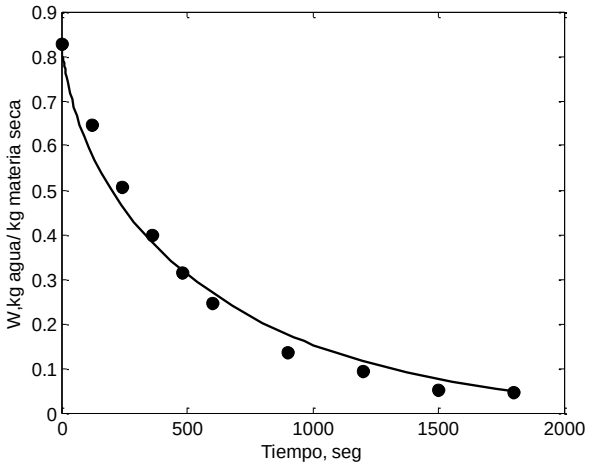
La **Tabla 1** muestra la bondad del ajuste del modelo de secado-tostado (Ec.(9*a*, 9b, 9c)) a los datos experimentales de contenido de humedad y temperatura de grano en función del tiempo.

Tabla 1. Ajuste del modelo combinado de materia y energía en el secado-tostado de quinoa remojada para estimar la E_a y D_0; presentando el *ECM* (en unidades de la variable dependiente) y el r^2 para todo el conjunto de datos.

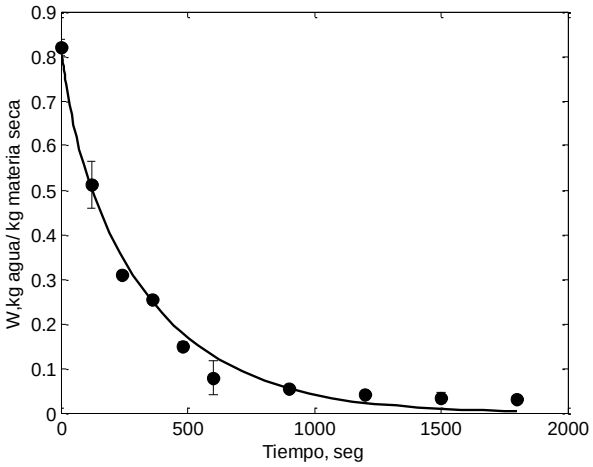
Variable	r^2	*ECM*
W	0,981	0,035
T	0,999	1,126

Se encontró un ajuste satisfactorio, con un valor de E_a=39,9 (*1,14*) kJ/mol y un factor de pre-exponencial de 2,872 × 10^{-4} ($1{,}109\times10^{-4}$) m^2/s; el r^2= 0,988 considerado para ambas variables. Los valores presentados en paréntesis corresponden a la desviación estándar de los parámetros.

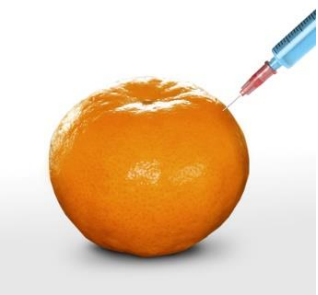
Se considera que los parámetros determinados por el sistema de EDO poseen mayor sentido físico porque utilizaron todo el conjunto de datos para resolver un sistema no-isotérmico, de transferencia de materia y energía acoplado. Los valores de E_a son consistentes con los hallados en un trabajo previo (Fiorentini et al. 2015), en el cual se utilizó la temperatura característica del producto en lugar del valor del aire. Además, los valores presentados en este trabajo se encuentran dentro del rango publicado por otros autores que trabajaron en condiciones de bajos contenidos de humedad, temperaturas moderadas y condiciones isotérmicas, Gely y Santalla (2007) en secado postcosecha de quinoa obtuvieron 37,9 kJ/mol, Doymaz (2005) estudiando el secado de porotos encontró E_a =35,4 kJ/mol y Torrez Irigoyen y Giner (2014) informaron una energía de activación de 31,4 kJ/mol durante el secado-tostado de soja remojada. La **Fig.(3)** muestra el contenido de humedad experimental en función del tiempo para todos los tratamientos de secado-tostado junto con las predicciones obtenidas. En todos los casos se observó una buena predicción.

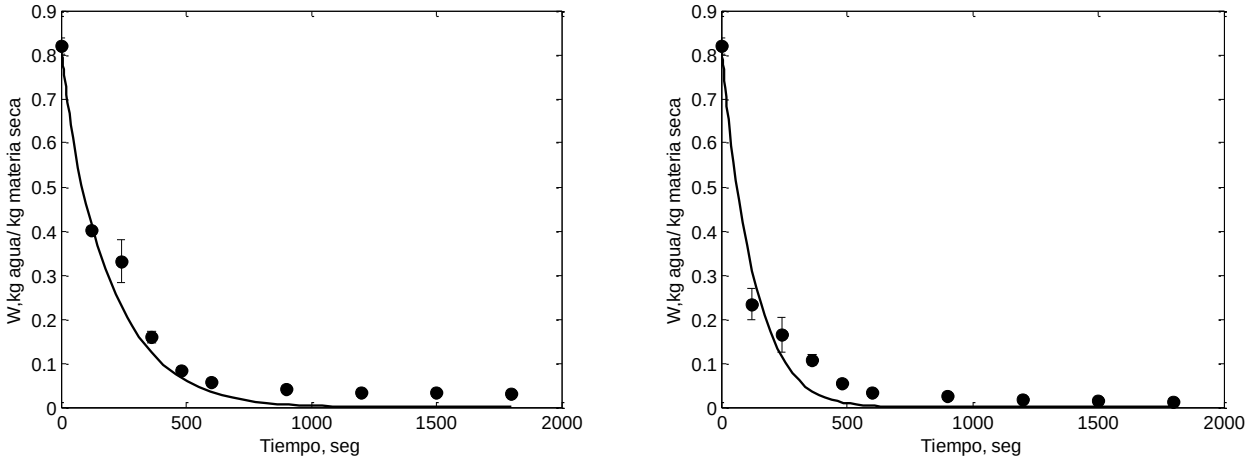


(a)



(b)





(c) (d)

Figura 3. Secado-tostado de quinoa remojada en capa delgada. Datos experimentales (símbolos), y valores predichos (líneas) por el modelo acoplado de materia y energía con los parámetros optimizados, para las temperaturas de: (a) 80ºC, (b) 100ºC, (c) 120ºC and (d) 140ºC.

Por su parte, la **Fig. 4** muestra la variación de la temperatura del grano con el tiempo de secado-tostado junto con los valores predichos.

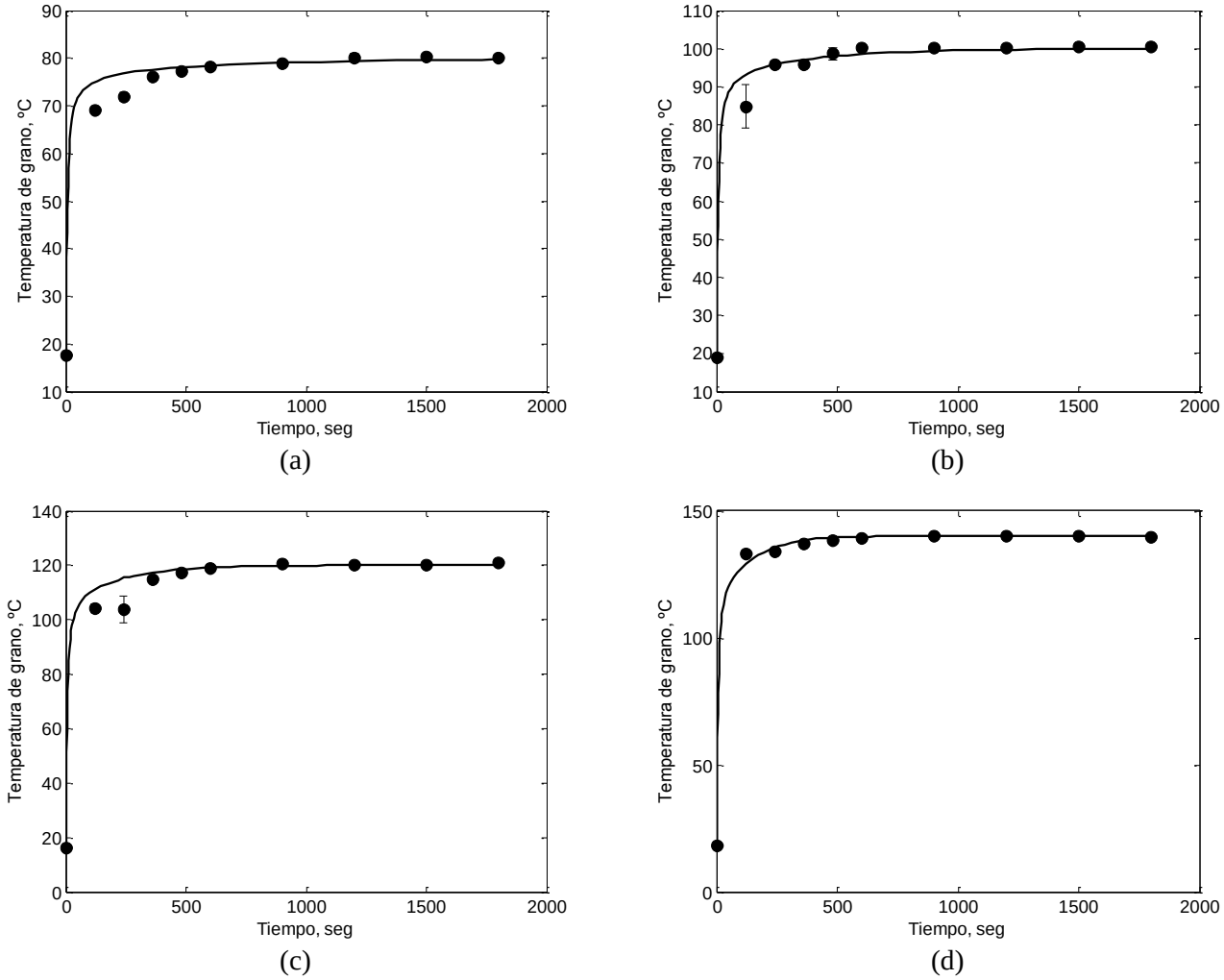


Figura 4. Temperatura del grano como función del tiempo de secado-tostado. Valores experimentales (símbolos) y valores predichos (líneas) mediante el modelo acoplado de materia y energía con los parámetros optimizados para temperaturas: (a) 80ºC, (b) 100ºC, (c) 120ºC y (d) 140ºC.

Como puede observarse, para todos los tratamientos, se obtuvo un ajuste satisfactorio entre los valores predichos y las temperaturas experimentales. A medida que aumentó la temperatura del aire (T_a) también aumento la velocidad de calentamiento. En todos los casos, las curvas tienden a una asíntota de temperatura del aire después de los 500 seg iniciales. Esta rápida aproximación a T_a es favorecida por el pequeño tamaño de partícula. Torrez Irigoyen et al. (2014) encontraron que el incremento de temperatura fue más lento en el el secado-tostado de soja remojada, posiblemente debido al mayor tamaño de los granos.

CONCLUSIONES

Se propuso un modelo matemático para el secado-tostado de quínoa lavada, y secada con aire caliente entre 80 y 140ºC, con el propósito de aportar información cinética para la producción de un snack de quinoa

mediante un tratamiento térmico en lecho fluidizado.

El modelo involucró las transferencias de materia y energía acopladas a través de un sistema de dos ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO), usando la derivada de la solución analítica de la ecuación de difusión en su forma de tiempos cortos o largos para predecir las curvas de secado y un balance macroscópico de energía para la transferencia de calor. El coeficiente de difusión se analizó en función de la temperatura del grano mediante una ecuación tipo Arrhenius. Mediante un procedimiento de integración de sistemas de EDO seguidos de optimización de parámetros programado en el software OptiPa, se utilizó todo el conjunto de datos experimentales para determinar una energía de activación (E_a) de 39,9 kJ/mol y un factor pre-exponencial (D_0) igual a $2{,}872 \times 10^{-4}$ m^2/s. Las predicciones obtenidas tanto para las curvas de secado como para las de historia térmica del grano representaron satisfactoriamente los datos experimentales. El uso del perfil de temperatura del producto permitió una determinación más realista del coeficiente de difusión efectivo y un valor más confiable de la energía de activación. Los resultados obtenidos aquí serán útiles para propósitos de diseño de producto, proceso y equipamiento. El valor de la energía de activación es crítico para la simulación de secadores de alimentos, particularmente para estimaciones del mapa de humedad y temperatura en el secador a los distintos tiempos pero, particularmente, para interpretar los cambios del consumo de energía y la calidad del producto como función de la temperatura del aire.

REFERENCIAS

Alarcón GA. 2012. Mercado de la quínoa. Proyecto UCAR fortalecimiento Institucional, financiado por Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento, Buenos Aires: UCAR. pag 60.

Amodio ML, Derossi A, Colelli G. 2014. Modeling phenolic content during storage of cut fruit and vegetable: A consecutive reaction mechanism. Journal of Food Engineering, 140, 1-8.

Becker HA. 1959. A study of diffusion in solids of arbitrary shape with application to the drying of the wheat kernel. J. Appl. Polym. Sci. 1 (2), 212–226.

Da Silva WP, Precker JW, Silva CMDPS, Silva DDPS. 2009. Determination of the effective diffusivity via minimization of the objective function by scanning: application to drying of cowpea. Journal of Food Engineering, 95, 298–304.

Da Silva WP, Cleide MDPS, Fernando JA, Josivanda PG. 2014. Mathematical models to describe thin-layer drying and to determine drying rate of whole bananas. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 13, 67-74.

Di Scala K, Crapiste G. 2008. Drying kinetics and quality changes during drying of red pepper. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 41, 789-795.

Doymaz I. 2005. Drying behaviour of green beans. Journal of Food Engineering, 69, 161-165.

Doymaz I, Ísmail O. 2011. Drying characteristics of sweet cherry. Food and Bioproducts Processing, 89, 31-38.

FAO. 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://www.fao.org/quinoa-2013/en/

Fiorentini C, Demarchi SM, Quintero Ruiz NA, Torrez Irigoyen RM, Giner SA. 2015. Arrhenius activation energy for water diffusion during drying of tomato leathers: The concept of characteristic product temperature. Biosystems Engineering, 132, 39-46.

Francis G, Kerem Z, Makkar HPS, Becker K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. British Journal of Nutrition, 88, 587-605.

Gely MC, Giner SA. 2007. Diffusion coefficient relationships during drying of soya bean cultivars. Biosystems Engineering, 96(2), 213-222.

Gely MC, Santalla EM. 2007. Moisture diffusivity in quinoa (Chenopodium quinoa willd.) seeds: Effect of air temperature and initial moisture content of seeds. *Journal of Food Engineering*, 78, 1029-1033.

Giner SA. 2001. An improved cross-flow wheat drying model for equipment design. Acta Hortic, 566, 467-476.

Giner SA, Torrez Irigoyen RM, Cicuttín, S, Fiorentini, C. 2010. The variable nature of Biot numbers in food drying. Journal of Food Engineering, 101, 214-222.

Hertog MLAT, Verlinden BE, Lammertyn J, Nicolai BM. 2007. OptiPa, an essential primer to develop models in the postharvest area. Computers and Electronics in Agriculture, 57, 99-106.
Mohsenin NN. 1980. Thermal properties of food and agricultural materials. Gordon and Breach Science Publishers, New York.
Montgomery DC, 1991. Design and analysis of experiments, third ed. John Wiley & Sons Inc, New York, USA.
Pabis S, Jayas DS, Cenkowski S. 1998. Grain Drying. Theory and Practice. John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.
Perea-Flores MJ, Garibay-Flebes V, Chanona-Pérez JJ, Calderón-Domínguez G, Méndez-Méndez JV, Palacios-González E, Gutiérrez-López GF. 2012. Mathematical modelling of castor oil seeds (Ricinus communis) drying kinetics in fluidized bed at high temperatures. Industrial Crops and Products, 38, 64-71.
Ridout CL, Price KR, DuPont MS, Parker ML, Fenwick GR. 1991. Quinoa saponins- Analysis and preliminary investigations into the effects of reduction by processing. Journal of the Science of Food and Agriculture, 54, 165-176.
Rodríguez-Fernández M, Balsa-Canto E, Egea JA, Banga JR. 2007. Identifiability and robust parameter estimation in food process modeling: application to a drying model. Journal of Food Engineering, 83 (3), 374–383.
Ruhanian S, Movagharnejad K. 2016. Mathematical modeling and experimental analyisis of potato thin-layer drying in an infrared-convective dryer. Engineering in Agriculture, Environment and Food, 9, 84-91.
Schouten RE, Farneti B, Tijskens LMM, Alarcón AA, Woltering. 2014. Quantifying lycopene synthesis and chlorophyll breakdown in tomato fruit using remittance VIS spectroscopy. Postharvest Biology and Technology, 96, 53-63.
Souraki BA, André A, Mowla D. 2009. Mathematical modeling of microwave-assisted inert medium fluidized bed drying of cylindrical carrot samples. Chemical Engineering and Processing, 48, 296-305.
Tanaka F, Tanaka F, Tanaka A, Toshitaka U. 2015. Mathematical modeling of thin-layer drying according to particle size distribution in crushed feed rice. Biosystems Engineering, 136, 87-91.
Tolaba MP, Peltzer M, Enriquez N, Pollio ML. 2004. Grain sorption equilibria of quinoa grains. Journal of Food Engineering, 61, 365-371.
Torrez Irigoyen RM, Giner SA. 2011. Volume and density of whole soybean products during hot-air thermal treatment in fluidised bed. Journal of Food Engineering, 102, 224-232.
Torrez Irigoyen R.M., Giner S.A. 2014. Drying-toasting kinetics of presoaked soybean in fluidised bed. Experimental study and mathematical modelling with analytical solutions. Journal of Food Engineering, 128, 31-39.
Torrez Irigoyen RM, Goñi SM, Giner SA. 2014. Drying-toasting kinetics of presoaked soybean. A mathematical model considering variable diffusivity, shrinkage and coupled heat transfer. Journal of Food Process Engineering, 142, 70-79.
Vazquez A, Calvelo A. 1980. Gas particle heat transfer coefficient in fluidized pea beds. Journal of Food Process Engineering, 4, 53-70.
Vazquez A, Calvelo A. 1983. Gas particle heat transfer coefficient for the fluidization of different shaped foods. Journal of Food Process Engineering, 4, 53.

Alimentación saludable e higiene personal: Reflexiones sobre taller realizado con niños del ciclo de Educación Primaria

Rivero S.[1], Salinas M.V. [1], Bigne F.[1], Rocha Parra F.[1], Torrez Irigoyen M.[1], Correa M.J.[1]

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA)-Fac. Ciencias Exactas-UNLP-CONICET-CIC, 47 y 116, 1900 La Plata, Buenos Aires, Argentina.
mjcorrea@biol.unlp.edu.ar

RESUMEN

La alimentación saludable hace referencia al consumo balanceado de alimentos que permiten la obtención de nutrientes y energía necesarios para mantener las funciones vitales del organismo. Resulta indispensable la educación alimentaria como contribución hacia la salud pública y los mejores resultados se alcanzan con una intervención temprana. En lo que respecta a los hábitos de higiene personal su educación inicial también fomenta un estilo de vida saludable. El objetivo del presente trabajo fue compartir la experiencia de un taller sobre alimentación e higiene dirigido a niños de entre 6 y 7 años. Se trabajó sobre la importancia del desayuno y del lavado de dientes luego de las comidas mediante la lectura de cuentos y juegos didácticos. Como cierre, a los niños se les entregó una tarjeta destacando la importancia del desayuno y un regalo alusivo a la temática tratada con la finalidad de dar continuidad a la actividad realizada durante taller en el seno familiar. La respuesta y el intercambio de opiniones obtenido través del diálogo con los niños durante la realización del taller nos permitió catalogar como positiva a la intervención realizada.

Palabras Clave: Alimentación saludable, hábitos alimentarios, lavado de dientes, juegos, niños.

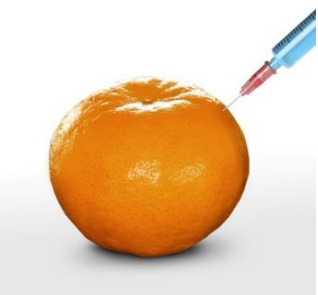
ABSTRACT

A healthy eating habit refers to a balanced consumption of foods that allow obtaining the nutrients and energy needed to maintain vital body functions. Food education is an essential key to contribute to public health and the best results are achieved with an early intervention. The eating habits children acquire when they are young will help them to have a healthy lifestyle when they are adults. With respect to personal hygiene practices, the initial education also encourages a healthy lifestyle. The objective of this work was to share the experience of a workshop on nutrition and personal hygiene aimed at children between 6 and 7 of age. The workshop focuses on the importance of having breakfast and brushing teeth after meals. This was achieved through reading stories and educational games. Children received a card highlighting the importance of breakfast and a present representative of the workshop, in order to give continuity into the families to the activities treated during the workshop,. The response and exchange of views obtained from children during the workshop, allowed us to classify the intervention as positive.

Keywords: Healthy diet, eating habits, toothbrushing, games, children.

INTRODUCCIÓN

Una buena nutrición es vital para el crecimiento y desarrollo normal de los niños. Una alimentación deficiente durante los primeros años de vida puede llevar a retrasos en el crecimiento y en el desarrollo físico y psicológico de los mismos. Sin embargo, no sólo la desnutrición se ha considerado como una consecuencia directa de una alimentación deficiente, sino también enfermedades tales como el sobrepeso y la obesidad en la población son originados por el mismo problema. Al respecto, el Ministerio de Salud de la Nación (2016) en un informe realizado acerca de la obesidad y sobrepeso en niños y adolescentes ha considerado que la principal causa de este problema es consecuencia de un desequilibrio entre la ingesta alimentaria y el gasto calórico originado por una escasa actividad física. Detrás de las causas inmediatas de malnutrición (ingesta



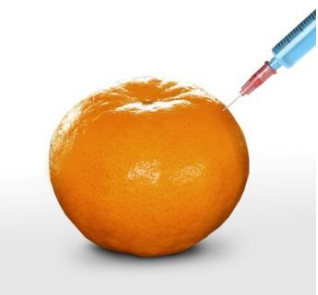
inadecuada de alimentos en cantidad y calidad) se han destacado las causas básicas que incluyen factores sociales, económicos y políticos como la pobreza, la desigualdad y/o una escasa educación del grupo familiar.

La organización mundial de la salud (OMS) ha estudiado ampliamente el tema de estos trastornos alimentarios y sus secuelas, principalmente la menor expectativa de vida, diabetes infantil, enfermedades cardiovasculares y otros problemas que se verán reflejados posteriormente en la salud de personas adultas. A lo largo de varios años, la OMS ha elaborado informes apuntados a fomentar las políticas de Estado para mejorar la calidad nutricional tanto de las mujeres embarazas, niños recién nacidos, jóvenes y adultos. Sin embargo, los programas de trabajo establecidos en cada país rara vez se han completado en los plazos acordados, y las funciones y responsabilidades de las partes involucradas a veces no están definidas de manera clara, lo que ha llevado a mecanismos poco precisos para evaluar el proceso y sus resultados (OMS 2014). En la República Argentina, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNyS 2016) realizada durante los años 2004-2005, se ha encontrado que entre un 1 y un 3% de la población infantil presentaba desnutrición aguda (severa y moderada) y entre un 5 y un 23% de los niños presentaban desnutrición crónica. Por otro lado, el sobrepeso también se ha convertido en un problema de salud pública ya que entre el 3 y el 17% de los niños, principalmente del nivel socioeconómico más bajo, presentaba sobrepeso.

Para abordar la situación planteada se considera fundamental realizar un fuerte trabajo de prevención y educación de la población haciendo hincapié desde la infancia. Así, la realización de actividades que promocionen los beneficios, a corto y largo plazo, de una práctica de alimentación saludable y de alto contenido nutricional desde la niñez y el fomentar la adopción de hábitos de higiene personal, son acciones que contribuyen a alcanzar una mejor calidad de vida. En este sentido, el Ministerio de Salud en el año 2016, ha elaborado las Guías Alimentarias para la Población Argentina, cuyo objetivo fue favorecer la promoción de estilos de vida más saludables y la prevención de problemas de salud relacionados con la dieta de la población desde un enfoque basado en alimentos. La promoción de la educación alimentaria, ha permitido que los destinatarios adopten costumbres saludables y además que ellos sean capaces de transmitirlas a su entorno cercano. Esta tendencia es altamente factible ya que las comidas se suelen compartir con familia y amigos por lo que se trata de un momento oportuno para el diálogo. En el año 2014, la Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe ha puesto en conocimiento a través de un documento, la estrategia desarrollada por el gobierno español para erradicar la desnutrición con resultados muy satisfactorios. Según el artículo la base fundamental del éxito se ha encontrado en el grado de convicción que han presentado los diferentes sectores involucrados, gobierno, sector privado, organizaciones sociales y la población en general. En base a su experiencia, han recomendado que la educación alimentaria requiera necesariamente de diálogo y deliberaciones en todos los niveles, apoyados por esfuerzos institucionales sostenibles. Sin embargo, no debemos olvidar que la promoción de la educación alimentaria debe hacerse siempre respetando la tradición alimentaria de cada individuo (Piaggio y Solans 2014). Es fundamental partir de las necesidades, inquietudes e iniciativas de la gente y sumar el conocimiento en relación a las mismas junto con compromiso social para contribuir a la construcción colectiva de nuevas y mejores oportunidades y condiciones de vida para la comunidad.

Asimismo, las prácticas de salud o educación alimentaria se pueden promover mediante el desarrollo de diferentes programas o talleres. Uno de los escenarios más recomendados por Costa y López (1998) para la instrumentación de estrategias de educación para la salud es la escuela. Además, la familia es el escenario de socialización primaria por excelencia donde se establecen tempranamente los hábitos, costumbres y rutinas de salud, y también la percepción de los riesgos y condiciones de inseguridad. Fermán et al. (2014) han señalado que la escuela constituye un escenario que ha jugado un papel principal como contexto desde el cual se han promovido programas y acciones de educación alimentaria y para la salud, no sólo para mejorar el conocimiento de los alumnos sino también para fomentar sus prácticas.

En este marco, el *taller* resulta una estrategia didáctica que se encuadra dentro de las prácticas constructivistas definidas como aquellas que se encuentran centradas alrededor de la actividad del aprendiz. Este tipo de prácticas se fundamentan en la importancia que reviste para el sujeto la acción constructiva y



reflexiva sobre el objeto de estudio para la autoestructuración y reconstrucción del conocimiento (Mondragón Ochoa s/f). Por lo tanto, el taller es un ámbito de reflexión-acción sobre temas que buscan la resolución de aspectos específicos que buscan ser aplicados a la realidad o que parten de problemas reales y que buscan ser resueltos durante la realización del mismo. Requiere una intensa preparación del docente coordinador, instrucciones claras, observación del desarrollo del mismo, análisis de los resultados y una aclaración de los aspectos claves.

Como estrategia didáctica el taller busca democratizar las relaciones pedagógicas docente-alumno, donde un grupo de personas a través del trabajo y la reflexión produce su propio conocimiento. Quien coordina debe ejercer un papel dirigente y quienes asisten deben trabajar de manera independiente pero organizada, se deben plantear exigencias para de este modo aumentar el rendimiento de los alumnos.

En este contexto es que se realizó un taller denominado "Aprendamos a comer jugando" dentro del marco de la 5° edición de las Jornadas de Divulgación Científicas para escuelas primarias organizadas por CCT CONICET - La Plata.

El objetivo del presente trabajo es difundir la experiencia de un taller de educación alimentaria dirigido a niños de entre 6 y 7 años y evaluar la importancia de la planificación y evaluación para el desarrollo favorable del mismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

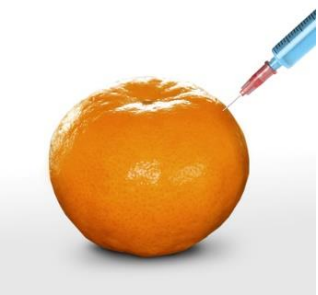
Destinatarios de las actividades: Niños de segundo grado (6-7 años) de la Escuela N°126 Dr. Francisco Latrubesse de La Plata que asisten a la Institución en una jornada extendida de 8 a 16 horas.

Planificación del taller: El taller se desarrolló en el marco de la 5° edición de las Jornadas de Divulgación Científicas para escuelas primarias organizadas por CCT CONICET - La Plata articulando con el proyecto de extensión *"Aprendamos a comer jugando"* acreditado por la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. El proyecto de extensión está orientado a niños de entre 3 a 5 años. Los organizadores de las jornadas se contactaron con la docente de segundo grado de la escuela para invitarla a participar de las actividades, ésta le manifestó su interés por realizar un taller que aborde el tema de nutrición alimentaria y hábitos de higiene. De esta manera los organizadores se contactaron con nuestro grupo de trabajo, que además de participar como integrantes del proyecto de extensión, desempeñamos tareas de investigación y desarrollo en el área de alimentos.

Para la planificación de las actividades a llevar a cabo se realizó una entrevista previa con la docente a cargo del segundo grado de la escuela. En la misma se indagó acerca de cuáles eran las cuestiones centrales que le preocupaban en relación a los hábitos de alimentación e higiene personal de los niños. El análisis de la entrevista permitió reconstruir a partir de hechos recurrentes o representativos, distintos tipos de actividades para llevar a cabo la intervención. Esta constituyó una mirada parcial, que nos aportó información de algunos aspectos a tener en cuenta para planificar las estrategias de enseñanza. De este encuentro se seleccionaron los ejes de trabajo sobre los cuales se desarrolló el taller, entre ellos, la importancia del desayuno y del lavado de dientes luego de las comidas, debido a que es una escuela de jornada extendida. A partir de la información relevada, se planificó la estrategia didáctica: se empleó una metodología activa y participativa basada en la realización de juegos, el relato de cuentos, la charla y el trabajo en equipo como eje fundamental.

Recursos empleados: Actualmente las tecnologías audiovisuales tienen un papel hegemónico en la educación y en la transmisión de valores. En este sentido, se utilizó una pantalla provista por el CCT CONICET- La Plata para la proyección de animaciones en power point alusivas a los cuentos que se narraron durante el taller utilizándolo como un recurso didáctico que favoreció el proceso de motivación y aprendizaje del niño. Por otra parte, el grupo de trabajo suministró a los niños diferentes materiales necesarios para realizar las actividades planteadas: lápices, fibras, crayones, juegos, hojas para dibujar, impresiones con imágenes para colorear relacionadas con la temática del taller.

Organización del espacio y tareas: Teniendo en cuenta que el espacio es un factor didáctico relevante dado que influye en el proceso enseñanza-aprendizaje y permite crear un ambiente estimulante para el desarrollo de las capacidades de los niños, las actividades se realizaron en un salón amplio y con espacio libre lo cual



favoreció la realización del taller. Este espacio no contaba con mobiliario, por lo que las actividades se realizaron sobre el piso. Dependiendo las actividades diseñadas se trabajaron sobre la base de los esquemas de distribución de espacio y de sujetos (niños y talleristas) como se muestra en la **Figura 1a** y **b**.
Para las actividades de integración los niños fueron agrupados de a 5 o 6 por afinidad y cada grupo coordinado por un tallerista (**Figura 1b**). Los coordinadores del taller, han estado integrados en los diferentes grupos acompañando a los niños en el desarrollo de las actividades, evitando que éstos se inhiban o se distraigan.

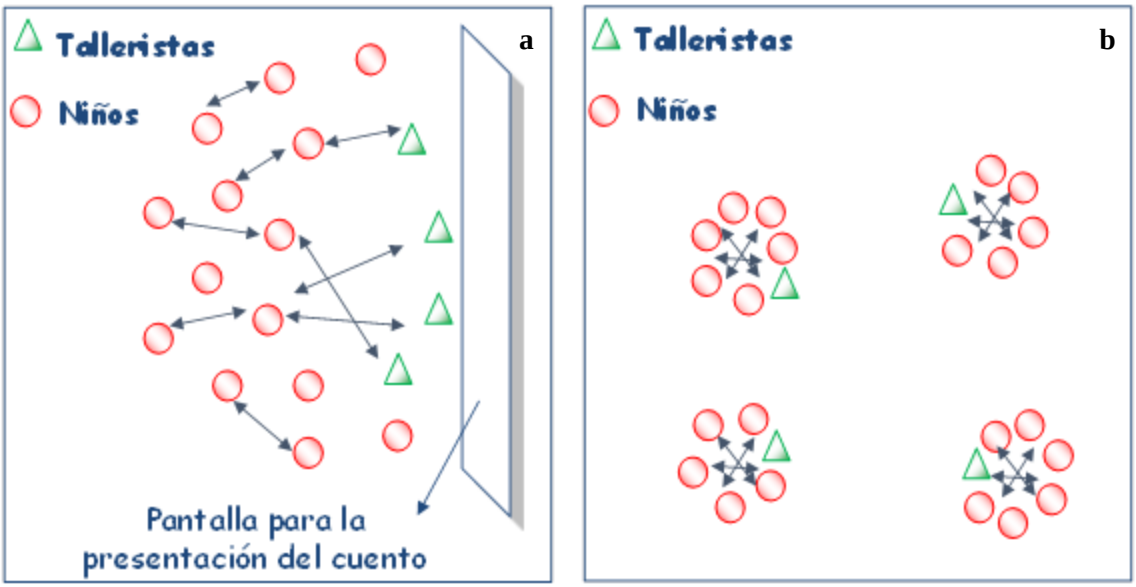


Figura 1. Esquema de distribución de espacio y sujetos.

Actividades: Para la estimulación cognitiva de los niños se narraron dos cuentos relacionados con la temática los cuales fueron seleccionados teniendo en cuenta las siguientes premisas:
Los cuentos deben ser acordes con la edad de los niños, deben manejar un lenguaje sencillo, que contengan una enseñanza o fomenten buenos valores. En el proceso de adaptación del cuento se debe considerar: que el tiempo empleado en el relato sea breve y que el lenguaje usado en la narración sea sencillo. En este sentido, se propone un diagrama que contenga la estructura del cuento para que los niños conozcan la secuencia del relato. De acuerdo al análisis de Ortiz (2002) el cuento puede desempeñar un papel formativo, por lo que se recomienda una serie de actividades que se pueden realizar después de haber leído o narrado un cuento. Entre las dinámicas de trabajo que se recomiendan se detallan:
Preguntar, dado que la reflexión acerca de la narración permite que los niños aprendan a preguntar. *Escuchar*, ya que es necesario que los niños también aprendan a escuchar.
Comentar, debido a que al momento de escuchar un cuento el niño aprende a hablar y respetar la palabra de otros cuando escucha. Sin embargo, es comentando como el niño aprende a expresar sus ideas de forma ordenada.
Los cuentos seleccionados fueron: a) "*Dos hermanos, dos historias*" obtenidos de la página web de la Fundación Educacional (2016) y b) "El sapo que no quería lavarse los dientes" adaptación de "*El sapo dentudo*" obtenido de la página/wordpress Hábitos infantiles (2016). Luego de la lectura de cada cuento se realizó una discusión con los niños sobre las temáticas abordadas en cada uno de los cuentos.
Teniendo en cuenta que los juegos permiten la expresión y el aprendizaje cooperativo se realizaron actividades de integración a través de la implementación de juegos didácticos como estrategia de aprendizaje. A cada grupo se les proporcionó un juego tipo "memotec" con imágenes alusivas a la

importancia del desayuno, por ejemplo leche (vaso, cajas) y sus derivados (yogur, manteca, dulce de leche, entre otros), tortas y galletitas. Además se jugó "sopa de letras" donde las palabras escondidas se relacionaban con hábitos de higiene saludable. Por último, se les entregó diferentes dibujos para colorear con lápices, fibras y crayones. Como cierre del taller, a cada niño se le entregó como obsequio un jabón, un cepillo de dientes y una pasta dental.

El tiempo destinado a cada actividad se determinó en base a la respuesta obtenida por parte de los niños a lo largo del taller (1 h).

Distribución cronológica de las actividades realizadas durante el taller:

1º Lectura del cuento "*Dos hermanos, dos historias*" (**Figura 2.a**).

2º Indagación y debate con los niños sobre la temática abordada en el cuento (importancia del desayuno).

3º Se agruparon los niños y jugaron al "memotec" con imágenes correspondientes a lácteos y sus derivados, cereales, frutas, panificados, entre otros.

4° Se repartió un yogur a cada uno y mientras lo consumían se procedió a leerles el cuento "*El sapo que no quería lavarse los dientes*" (**Figura 2.b**).

Figura 2. a) Cuento dos hermanos, dos historias (Fuente. Fundación Educacional), b) Cuento del sapo que no le gustaba lavarse los dientes (Fuente Hábitos Infantiles)

5º Debate sobre la importancia del cuidado de la higiene dental (temática abordada en el cuento).

6º Se entregaron "sopas de letras" y luego de encontrar todas las palabras se repartieron dibujos para colorear. Mientras realizaban esta actividad se dialogó con los niños acerca de buenas prácticas de higiene.

7º Entrega de una tarjeta que resume las temáticas abordadas en el taller (**Figura 3**) y del regalo para cada niño.

Figura 3. Tarjeta entregada a los niños.

Una vez finalizado el taller se realizó una breve entrevista a las docentes a cargo del curso sobre su percepción respecto de las actividades realizadas, de la intervención de los talleristas y de la respuesta participativa obtenida por parte de los niños.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Planificación del taller

Al hablar sobre programación o planificación de la enseñanza, hacemos referencia a la tarea de pensar y tomar decisiones sobre cómo estructurar las experiencias de formación de un modo anticipado a la acción. Este proceso de toma de decisiones sobre la enseñanza siempre gira en torno a cuestiones sobre "lo que vale la pena enseñar" (Salinas 1994) y contiene dimensiones que no son de orden técnico e instrumental sino que éticas. Para la planificación del taller se realizó una evaluación diagnóstica con la finalidad de definir los contenidos del taller de acuerdo a las características del grupo que asistiría al mismo. La evaluación diagnóstica es una herramienta muy útil ya que permite valorar las características socio-culturales de un grupo, sus capacidades, intereses y potencialidades, así como los saberes previos y sus posibles dificultades (Davini 2008). En nuestro caso, elegimos la entrevista como herramienta para realizar una evaluación diagnóstica inicial. Se dialogó con la docente a cargo del segundo grado de la Escuela N° 126 Dr. Francisco Latrubesse y la misma fue realizada en el establecimiento por dos de los integrantes del taller. La entrevista fue abierta, sin un orden establecido, ni preguntas estructuradas, permitió valorar la situación general de los niños respecto a sus costumbres alimentarias y de higiene personal en lo referido a su relación con la escuela. Además, permitió establecer un lazo con la docente a cargo del curso. A partir de ésta surgieron los ejes de trabajo a desarrollar en el taller. Se pudo establecer que los contenidos a abordar debían ser: 1- la importancia del desayuno ya que, según lo informado por la maestra, algunos niños asisten a clases sin desayunar; 2- la elección del refrigerio que los niños toman a media mañana en el recreo, ya que muchos de ellos compran una bebida gaseosa en el buffet de la escuela, y en algunos casos esto representa lo único que consumen durante la mañana; 3- la importancia de la higiene dental y general, teniendo en cuenta que al ser una escuela de doble turno los niños almuerzan en la misma.

Se buscó estimular la capacidad creativa de los niños tomando como base sus conocimientos culturales y sociales y a partir de ello se profundizó sobre las temáticas propuestas. Los alumnos que concurren a esta escuela son en su mayoría de clase socioeconómica media y ello se tuvo en consideración a la hora de preparar las actividades.

Se apostó por una actividad colaborativa en la que todos los niños presentes participaran, estimulando el sentimiento de autoestima, suficiencia y habilidades personales. El trabajo colaborativo es una estrategia de enseñanza-aprendizaje que se lleva a cabo en grupos pequeños y que es realizado por todos los miembros

para llegar a metas comunes (Davini 2008). Como estrategia se persigue que los sujetos no sólo adquieran una serie de contenidos, habilidades o destrezas sino que también aprendan a colaborar y confiar en sus compañeros.

Desarrollo del encuentro

Con la lectura del primer cuento "*Dos hermanos, dos historias*", se realizó la discusión con los niños sobre la importancia del desayuno, donde se hizo especial énfasis en los alimentos de alto valor nutricional. Los menores, en general, demostraron tener un conocimiento sobre el valor del consumo de lácteos en la mañana. Además, indagamos sobre la constitución del desayuno que estaban acostumbrados a consumir y se entabló una discusión abierta sobre el tema. En ésta se abordó el tema del refrigerio de media mañana en la escuela y se les sugirió sobre la posibilidad de reemplazar la gaseosa por un yogurt o un jugo de frutas destacando las amplias diferencias nutricionales a favor de los últimos.

A continuación se formaron 6 grupos de 5 a 6 niños, cada uno estuvo coordinado por uno de los autores del trabajo, con la finalidad de jugar al memotec. Mientras se desarrolló esta actividad se remarcó sobre la importancia de un desayuno saludable y los niños fueron receptivos a las explicaciones e interactuaban entre ellos. Al terminar esta actividad se les entregó a los niños un yogur y se continuó con la lectura del segundo cuento "*El sapo que no quería lavarse los dientes*" (Figura 4).

Figura 4. Narración de los cuentos.

Luego de la lectura se discutió sobre la importancia de una adecuada higiene dental después de cada comida, ya que con el diagnóstico inicial se sabía que los niños almorzaban en la escuela y era importante destacar este aspecto. En ese momento se aprovechó para recalcar la importancia del lavado de manos antes de las comidas, o luego de realizar diferentes actividades como ir al baño y jugar con las mascotas, entre otras.

La siguiente actividad fue la entrega de las sopas de letras (**Figura 5**) donde los chicos debían encontrar palabras como: jabón, cepillo, dentífrico, entre otras, con la finalidad de enfatizar acerca de la higiene personal y en particular de lavado de manos y de dientes (continuando con la temática de la actividad anterior). Cuando terminaron este juego se les entregó una serie de dibujos para colorear alusivos al cuidado personal, de la higiene de manos y dientes y se conversó sobre la importancia de cada elemento de higiene, por ejemplo jabón y pasta dental.

Figura 5. Trabajo en pequeños grupos durante la realización de algunas de las actividades, sopa de letra (izquierda) y memotec (derecha)

Finalmente, como cierre del taller, a cada niño se le entregó como obsequio un jabón, un cepillo de dientes y una pasta dental junto con una tarjeta (**Figura 3**) alusiva a la importancia del desayuno como primer alimento del día. Este regalo se entregó con la finalidad de dar replicabilidad dentro del seno familiar a la temática abordada en el taller.
Las actividades desarrolladas durante el taller se pueden visualizar en el canal de you tube de CCT CONICET - La Plata accediendo a los siguientes links:
https://youtu.be/VNm4MK_94zk
https://youtu.be/5gmNLTPwQ0Q
https://youtu.be/VMZVE_cxBOA
https://youtu.be/ZY8WYruYfhQ

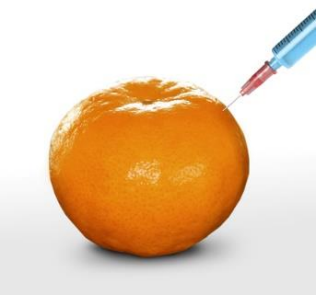
Evaluación
Como la evaluación es inherente a la enseñanza, este proceso se realizó antes, durante y finalizado el taller. Este análisis permitió reflexionar acerca de la influencia de las actividades propuestas.
Perczyk (2012) postuló que toda evaluación es un procedimiento permanente que supone etapas de seguimiento y orientación. En este sentido, se realizó una evaluación a lo largo del desarrollo del taller, en la cual se contempló al niño como realmente es, dentro de qué proceso se encontraba, qué logros había obtenido, qué dificultades presentaba o qué metas propuestas no había alcanzado. La evaluación permanente constituye una guía efectiva en el proceso de enseñanza y aprendizaje (Puiggrós 1993). Asimismo, el protagonismo de los niños fue tenido en cuenta orientando la evaluación a la observación de su actitud y la disposición de los niños hacia la realización de las actividades.
La evaluación continua contribuyó a la toma de decisiones en el transcurso del encuentro, a la reorientación de tareas y a realizar modificaciones de las acciones durante su desarrollo. Esto permitió ponderar sobre el valor y la pertinencia del diagnóstico y su adecuación al contexto, los niños y al ambiente de enseñanza, facilitando el análisis de la estrategia de enseñanza elaborada así como de las actividades propuestas para el aprendizaje.
Con el fin de realizar una evaluación del taller, una vez concluido el mismo se conversó con la docente del curso acerca de su percepción sobre las actividades realizadas y las repercusiones de los temas tratados. Esto nos permitió realizar un análisis reflexivo de los resultados obtenidos del encuentro destacando una intervención positiva.

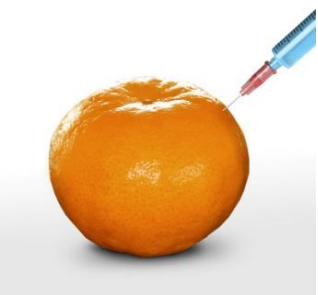
CONCLUSIONES

La realización de este taller nos permitió valorar la importancia de la indagación previa para la planificación y diseño de actividades.
La narración de cuentos como trasmisores de conocimientos constituyó una estrategia positiva para fortalecer el desarrollo integral de los niños, permitió concientizar acerca de la importancia de una alimentación saludable y de las buenas prácticas de higiene. Adicionalmente, esta herramienta facilitó la socialización de los niños, a través del empleo de preguntas y respuestas en la que los mismos participaron activamente durante el desarrollo del taller. Los niños colaboraron con la lectura de los cuentos lo que contribuyó a que se vincularan y motivaran con las actividades propuestas. Además, al profundizar temas que ya venían asimilando en la escuela y en sus hogares podían responder a lo que se les preguntaba. El hecho de sentir que tenía un rol protagónico en el taller fue clave para su colaboración a lo largo del mismo.
Es importante desde la niñez, abordar este tipo de temáticas, ya que si desde temprana edad los niños adoptan conductas alimentarias saludables, su organismo se habitúa a éstas. Los hábitos alimentarios saludables que adquieran en la infancia, ayudarán a tener buenas condiciones de salud a lo largo de la vida.
Esta actividad no sólo fortaleció nuestras prácticas sociales, sino que también tuvo un impacto positivo sobre los niños. Ellos no sólo incorporaron nuevos conceptos a través del juego, sino que consolidaron los conocimientos adquiridos en el hogar y en la escuela.

BIBLIOGRAFÍA

Costa M y López E. 1998. Educación para la salud. Una estrategia para cambiar los estilos de vida. Madrid: Ediciones Pirámide.
Davini MC. 2008. Métodos de enseñanza: didáctica general para maestros y profesores. Buenos Aires. Santillana. Parte II y III.
ENNyS. 2016. Encuesta Nacional de Nutrición y Salud. Ministerio de Salud de la Nación. http://www.msal.gob.ar/dinami/index.php/publicaciones-para-equipos-de-salud/encuesta-nacional-nutricion-salud. Consultada en Abril de 2016.
Fermán IAT, Guzmán FJB, Torres AAB, Ahumada CV y Díaz FG. 2014. Estrategia para modificar conocimientos y actitudes en niños escolares: un programa de educación para la salud. *Psicología y Salud*, *14*(1), 135-142.
Fundación Educacional 2016. Dos hermanos, dos historias. http://www.educacional.org.ar/docentes.html. Accedido en abril de 2016.
Hábitos infantiles. 2016. El sapo dentudo. https://habitosinfantiles.wordpress.com/actividades/para-el-habito-de-la-higiene/. Accedido en abril de 2016.
Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. 2016. Guías alimentarias para la población infantil. Orientaciones para padres y cuidadores. http://www.sap.org.ar/docs/profesionales/PDF_Padres_baja.pdf. Consultada en Abril de 2016.
Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. 2016. Guías alimentarias para la población infantil. Consideraciones para los equipos de salud. http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000319cnt-A04-guias-alimentarias-pob-inf-equipos.pdf. Consultada en Abril de 2016.
Mondragón Ochoa H. s/f. Prácticas pedagógicas en la universidad. Universidad Javeriana de Cali, Colombia: portales.puj.edu.co/didáctica/Sitio.../Practicaspedagogicas. doc.
Ortiz E. 2002. Contar con los cuentos. Ciudad Real, España: Ñaque.
Organización Mundial de la Salud, OMS. 2014. Plan de aplicación integral sobre nutrición materna, del lactante y del niño pequeño. http://www.who.int/nutrition/publications/CIP_document/es/. Consultada en Abril de 2016.
Perczyk JS. 2012. Conocer para incidir sobre las prácticas pedagógicas: Línea de financiamiento para proyectos concursables de investigación pedagógica. Bases convocatoria 2011.
Piaggio LR y Solans AM. 2014. Enfoques socioculturales de la alimentación. Editorial Librería Akadia. Buenos Aires, Argentina.



Puiggrós A. 1993. Universidad, proyecto generacional y el imaginario pedagógico. Bs. As. Paidós. Cap. I.
Salinas D.1994. La planificación de la enseñanza ¿técnica, sentido común o saber profesional?. En Angulo F. y Blanco N. "Teoría y Desarrollo del *curriculum*" Editorial Aljibe. España.

AGRADECIMIENTOS
Al CCT CONICET - La Plata por darnos la posibilidad de realizar el Taller dentro del marco de la 5º Jornadas de Divulgación Científicas para escuelas primarias. Y a la Lic. Mercedes Benialgo del área Relaciones Institucionales del CCT CONICET La Plata por facilitarnos las fotografías y videos del taller.
A la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata a través del proyecto de extensión acreditado *"Aprendamos a comer jugando"* que también contribuyó a su financiamiento.