

## Tesis de Posgrado

# Cinética de las reacciones de pardeamiento no enzimático entre azúcares y glicina en soluciones de alta actividad de agua

Buera, María del Pilar

1986

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Buera, María del Pilar. (1986). Cinética de las reacciones de pardeamiento no enzimático entre azúcares y glicina en soluciones de alta actividad de agua. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_1971\\_Buera.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1971_Buera.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Buera, María del Pilar. "Cinética de las reacciones de pardeamiento no enzimático entre azúcares y glicina en soluciones de alta actividad de agua". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1986.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_1971\\_Buera.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1971_Buera.pdf)

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
DEPARTAMENTO DE INDUSTRIAS

"CINETICA DE LAS REACCIONES DE PARDEAMIENTO NO ENZIMATICO  
ENTRE AZÚCARES Y GLICINA EN SOLUCIONES DE ALTA ACTIVIDAD  
DE AGUA"

TESIS presentada por  
MARIA DEL PILAR BUERA  
para optar al título de  
Doctora en Ciencias Químicas

Director: Dr. Jorge Chirife

- 1986 -

*Esis 1986  
-ej 2-*

A Alejandro

A mis padres

## Agradecimientos

- Al Dr. Jorge Chirife, director de este trabajo, por su valiosa guía y la dedicación que volcó en la elaboración del mismo.
- A la Dra. Silvia Resnik por su constante estímulo y el apoyo brindado en la realización de esta tesis.
- Al Licenciado Roberto D. Lozano por sus consejos y colaboración en todos los problemas relativos al color y su medición.
- A los Licenciados David Jungman y Cristina Melcón por su asesoramiento sobre la medición del color y a las Licenciadas Marcela Tolaba y Elisa Etchehoury por la información suministrada para la implementación de los programas de computación.
- A la Licenciada Graciela Wetzler por su guía en la determinación de azúcares por cromatografía gas-líquido y al Licenciado Claudio Petriella con quien he discutido algunos puntos del presente trabajo.
- A la Dra. Lía Gerschenson por su colaboración en las determinaciones de ácido sórbico.
- Al Instituto Nacional de Tecnología Industrial y al Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas por otorgarme becas durante las cuales realicé esta tesis.

- A la División Óptica (Departamento de Física) del INTI y a Tecnología de Alimentos, (Departamento de Industrias) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) por permitirme realizar el trabajo experimental en sus instalaciones.
- A la Secretaría de Ciencia y Tecnología (SECYT) (Programa Nacional de Tecnología de Alimentos) por el apoyo financiero necesario para la realización de esta tesis.

## INDICE

	Página
1. <u>OBJETIVO</u>	1
2. <u>INTRODUCCION</u>	2
2.1. Distintos tipos de reacciones de pardeamiento no enzimático	5
2.2. Factores que afectan a las reacciones de pardeamiento no enzimático	9
2.2.1. Temperatura	9
2.2.2. pH	13
2.2.3. Actividad de agua	15
2.2.4. Buffer	19
2.2.5. Azúcares	20
2.2.6. Amino-compuestos	22
2.3. Evaluación del grado de pardeamiento	25
3. <u>PARTE EXPERIMENTAL</u>	38
3.1. Preparación de los sistemas modelo	38
3.2. Tratamiento térmico	45
3.3. Método de medición del color	46

	Página
3.4. Determinación del grado de hidrólisis de la sacarosa	48
3.5. Análisis de la descomposición de péptidos por cromatografía en capa delgada	53
3.6. Determinación de ácido sórbico	55
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSION</u>	56
4.1. Cinética de la formación de color por reacciones de caramelización de diferentes azúcares	56
4.1.1. Modelos cinéticos propuestos	58
4.1.2. Efecto de la temperatura	67
4.1.3. Efecto del pH	73
4.1.4. Hidrólisis de la sacarosa durante la caramelización	81
4.2. Cinética de la formación de color por la reacción de Maillard	84
4.2.1. Modelos cinéticos propuestos	90
4.2.2. Efecto de la temperatura	99
4.2.3. Efecto del pH	104
4.2.4. Hidrólisis de la sacarosa durante la reacción de Maillard	107

	Página
4.3. Comparación entre la cinética de la reacción de Maillard y la de caramelización	116
4.4. Cinética de la reacción de péptidos de glicina con glucosa	127
4.4.1. Efecto de la temperatura	130
4.4.2. Efecto del pH	134
4.5. Efecto del sorbato de potasio sobre la cinética de la reacción glucosa-glicina	148
5. <u>CONCLUSIONES</u>	154
6. <u>BIBLIOGRAFIA</u>	161
7. <u>TABLA DE DATOS</u>	179



## 1. OBJETIVO

El objeto del presente trabajo es estudiar la cinética de las reacciones de pardeamiento no enzimático entre azúcares y glicina en soluciones de alta actividad de agua ( $a_w$ ). Se analizarán los siguientes aspectos:

- a) La velocidad relativa con que distintos azúcares desarrollan pardeamiento, en ausencia de aminoácidos.
- b) El efecto del agregado de glicina sobre dicha velocidad relativa.
- c) La influencia de la sustitución de glicina por péptidos de glicina.
- d) La dependencia de la velocidad de desarrollo de color con la temperatura y con el pH en cada uno de los sistemas estudiados.
- e) El efecto del agregado de sorbato de potasio sobre la velocidad de pardeamiento del sistema glucosa-glicina.

## 2. INTRODUCCION

Los procesos de preservación de alimentos tienen como principal objetivo extender la vida útil de los mismos para permitir su correcto almacenamiento y distribución. La limitación más importante es la actividad microbiana, y por eso el primer objetivo en la elaboración y procesamiento es lograr la estabilidad microbiológica.

Los microorganismos requieren abundante cantidad de agua libre para su crecimiento. Según Troller y Christian (1978), la mayoría de las bacterias no halófilas tienen un máximo de crecimiento para  $a_w$  0,997-0,980. En términos generales, entre estas bacterias los bacilos Gram negativos son los más sensibles a la reducción de  $a_w$ , con un mínimo de  $a_w$  0,96-0,94 en medios de cultivo. Los hongos son los microorganismos más osmotolerantes, y la mayoría tiene un  $a_w$  límite entre 0,80-0,95, y las levaduras 0,88-0,95 (Carry, 1971).

Se desarrollaron alimentos conocidos con el nombre de alimentos de humedad intermedia (AHI) que se obtienen tradicionalmente mediante una disminución de la actividad de agua ( $a_w$ ), a niveles que impidan el desarrollo de microorganismos (generalmente entre 0,70 y 0,86).

Estos alimentos pueden ser ingeridos sin previa rehidra-

tación y son estables con respecto al deterioro por microorganismos sin necesidad de refrigerarlos o de un procesamiento térmico previo a su almacenamiento (Karpow, 1970). Por lo tanto su ventaja consiste en el considerable ahorro de energía durante la elaboración y almacenamiento, y en que se asemejan a los alimentos frescos, sin producir sensación bucal de secado.

La mencionada reducción de  $a_w$  se puede realizar por diversos procedimientos, como desecación y salado (pescado salado); agregado de azúcares (mermelada); desecación (frutas, que ya contienen elevada concentración de azúcares); deshidratación y agregado de azúcar (leche condensada azucarada).

El desarrollo de nuevos alimentos de humedad intermedia por agregado de solutos tales como azúcar, sal o glicerol (Heidelberg y Karel, 1975; Flink, 1978), se puede traducir en una falta de aceptación por el consumidor (Benmergui y col., 1979; Chirife y col., 1980; Chirife y Ferro Fontán, 1980) dado que la cantidad de soluto/s necesaria para reducir la  $a_w$  del alimento a los valores antes mencionados es tan grande que se produce un cambio en las características organolépticas (principalmente de palatabilidad).

La tendencia actual es lograr alimentos estables microbiológicamente en un rango de  $a_w$  entre 0,90 y 0,95. Si se tiene en cuenta que el límite superior de  $a_w$  para el crecimiento de bac-

terias es 0,86 (Ledward, 1982) (que corresponde al límite de  $a_w$  para el crecimiento aeróbico de Staphylococcus aureus), parecería difícil obtener un producto microbiológicamente estable, a las temperaturas normales de almacenamiento, en ese rango de  $a_w$ . Sin embargo, esto puede lograrse mediante el control de otras variables que afecten el crecimiento microbiano, en forma tal que en conjunto creen las condiciones no aptas para el desarrollo, ya que el límite inferior de actividad de agua para el crecimiento de un dado microorganismo aumenta si los otros factores, como el pH, potencial rédox, etc. no son los óptimos (Leistner y col., 1981; Fox y Loncin, 1982; Chirife y col., 1984).

El agregado de algún inhibidor químico permitido puede colaborar en la inhibición del crecimiento de hongos, levaduras y eventualmente de alguna bacteria. El ácido sórbico y su sal de potasio han sido usados como agentes antimicrobianos en una gran variedad de productos alimenticios dadas sus características como agentes antimicóticos (Gerschenson y col., 1986). De esta manera, se amplía el rango de  $a_w$  de los alimentos de humedad intermedia, con la ventaja de que la cantidad de soluto requerida para obtener los valores de 0,90-0,95 de  $a_w$  es tal que no afecta la palatabilidad del producto, a diferencia de lo que ocurre si se trata de disminuirla hasta el valor de 0,86.

Una vez lograda la estabilidad microbiológica por una

adecuada selección de aditivos y/o tratamientos, queda por resolver el problema de la estabilidad química, ya que es ahora determinante de la calidad del producto, por cuanto afecta tanto la aceptabilidad como el valor nutritivo.

La mayor parte de los estudios cinéticos sobre reacciones de deterioro se han realizado en el rango de  $a_w$  entre 0,60-0,90, pero Petriella y col. (1985) destacaron la necesidad de estudiar los cambios en la calidad de los alimentos a valores superiores de  $a_w$  como paso previo al desarrollo de productos microbiológicamente estables de  $a_w$  entre 0,90 y 0,95.

Inactivadas las enzimas, los (AHI) de alto rango de  $a_w$  son más susceptibles al pardeamiento no enzimático que a la oxidación de lípidos.

Las reacciones que provocan el pardeamiento no enzimático son la causa más importante de cambios de calidad durante el almacenamiento de estos alimentos, limitando su vida útil, y serán analizadas en el presente trabajo.

## 2.1. Distintos tipos de reacciones de pardeamiento no enzimático

El tipo más frecuente de reacciones de pardeamiento es el que involucra grupos carbonilo y grupos amino e incluye generalmente las reacciones de aldehidos, cetonas y azúcares reductores

con aminas, aminoácidos, péptidos y proteínas. Otro tipo, llamado caramelización, ocurre cuando compuestos polihidroxycarbonílicos (azúcares, ácidos polihidroxycarbonílicos) se calientan en ausencia de aminoácidos. Este tipo de reacciones suele requerir más energía para desarrollarse que las reacciones carbonilo-amina.

Un tercer tipo de pardeamiento, frecuentemente encontrado en alimentos es el grupo de reacciones oxidativas, que, por ejemplo convierten el ácido ascórbico y polifenoles en compuestos di o policarbonílicos.

Se observa entonces que los compuestos que provocan pardeamiento en todos los casos contienen un grupo carbonilo o éste es potencialmente generado. Los compuestos polihidroxílicos y azúcares en los que la función carbonilo tiene un bloqueo permanente no dan reacciones de pardeamiento (Schwimmer y Olcott, 1953). Por lo tanto, un azúcar no reductor como sacarosa (componente de gran cantidad de alimentos) debe primero hidrolizarse para dar compuestos reactivos y poder participar en las reacciones de pardeamiento.

En los sistemas a analizar en este trabajo, las reacciones de pardeamiento no enzimático involucran tanto la descomposición de azúcares provocada por el calentamiento (sin participación de grupos amino) o "caramelización", y la reacción en la que los grupos carbonilo de la forma acíclica de los azúcares reductores se condensan con los grupos amino básicos de péptidos o aminoáci-

dos, que se llama reacción de Maillard (Hodge y Osman, 1976). Cuando las reacciones de caramelización proceden en medio ácido se forman aldehídos muy activos y por eso a este mecanismo de pardeamiento se lo estudia también bajo el nombre de "teoría del aldehído activo" (Braverman, 1969).

Tanto la caramelización como la reacción de Maillard comprenden un grupo complejo de varias reacciones que comienzan con la apertura del anillo hemiacetálico de los azúcares reductores y la enolización de los mismos, seguida de una serie de transformaciones (reacciones de isomerización, deshidratación, fragmentaciones, condensaciones y polimerizaciones) que conducen a la formación de pigmentos amarillos, rojos y/o marrones de naturaleza coloidal (Burton y col., 1963). En el caso de que el pigmento se forme por reacciones de caramelización, toma el nombre de "caramelo" y si contiene nitrógeno en su composición, se llama "melanoidina" (Shallenberger y Birch, 1975).

Las reacciones iniciales de ambos grupos generalmente siguen la misma secuencia, pero la principal diferencia es que en la reacción de Maillard los aminoácidos y péptidos reaccionantes se condensan con el azúcar y actúan como "catalizadores internos" en las reacciones de enolización y deshidratación subsiguientes, de manera que la reacción global de formación de pigmentos resulta acelerada. Debido a esto, la tendencia general es considerar

las reacciones de caramelización sólo durante el calentamiento de azúcares de altas temperaturas o en soluciones muy concentradas (Sugisawa y Edo, 1966; Shaw y col., 1967; Theander, 1981). Sin embargo es necesario estudiar estas reacciones de caramelización en sistemas de alta  $a_w$  almacenados a temperaturas moderadas para comprobar si es efectivamente posible desprestigiar el efecto de las mismas sobre la formación de color en estas condiciones.

Paralelamente a la formación de sustancias coloreadas, se forman otras, de bajo peso molecular (principalmente furanos, furanonas, lactonas, aldehidos, cetonas, ácidos y ésteres, y, si hay un aminoácido involucrado, pirazinas, pirroles y piridinas; por ejemplo el aroma a caramelo se debe a enolonas cíclicas (Hodge y Osman, 1976) que imparten al producto sabores y aromas característicos, por lo que el cambio que producen las reacciones de pardeamiento no enzimático afecta no sólo el aspecto visual, sino también otras propiedades organolépticas (Sugisawa y Edo, 1966). El valor nutritivo resulta además invariablemente alterado.

Las etapas iniciales, que son comunes a las reacciones de caramelización y Maillard (apertura del anillo y enolización), están bien descritas, pero la secuencia posterior es menos definida. Ambas están afectadas no sólo por la naturaleza y concentración de los reactivos, sino también por otros factores como pH, temperatura y tiempo de calentamiento, etc., y, por lo tanto, la



composición y concentración de pigmentos y sustancias que imparten olores y sabores es función de todas las variables mencionadas. Como además todas estas variables están interrelacionadas, no es posible discutir el efecto de una de ellas sin mencionar a las otras.

Es por esto que el empleo de sistemas modelo resulta particularmente adecuado para proveer información sobre cada variable involucrada independientemente de las demás, lo que permite interpretar el comportamiento de sistemas más complejos.

## 2.2. Factores que afectan a las reacciones de pardeamiento no enzimático

Se analizarán aquellos factores que se considera que puedan influir significativamente sobre la velocidad de pardeamiento no enzimático en los alimentos de alta actividad de agua.

### 2.2.1. Temperatura

Es conocido el hecho de que el incremento de temperatura tiene un efecto acelerador sobre la formación de color. Esto se debe a que el calor favorece cada una de las etapas de la reacción. En principio, induce la apertura de los anillos hemiacetá-

licos, que, como se vio (sección 2.1.) constituye el primer paso para la formación de sustancias coloreadas. Por otro lado, ciertas etapas que a bajas temperaturas pueden considerarse reversibles por cuanto los reactivos son detectables en sus concentraciones iniciales, al aumentar la temperatura dejan de serlo. Por ejemplo, el complejo glucosa-glicina que se forma a 25°C se descompone en glucosa y glicina al acidificar la solución, pero si la reacción ocurre a 35°C, no es posible detectar esa reversión a las condiciones iniciales (Englis y Dykins, 1931).

Los dos parámetros generalmente utilizados para indicar la dependencia de la velocidad de la reacción con la temperatura, son la energía de activación ( $E_a$ ) y el  $Q_{10}$ .

La constante de velocidad de la reacción se expresa en función de la temperatura a través de la ecuación de Arrhenius:

$$k = c e^{-E_a/RT}$$

Siendo

$k$  = Constante de velocidad de la reacción

$E_a$  = Energía de activación (K J/mol)

$T$  = Temperatura absoluta (°K)

$c$  = Factor de Arrhenius (unidades de  $k$ )

$R$  = Constante de los gases ideales (8,31 J/°K mol)

A mayor energía de activación mayor será la dependencia de la velocidad de la reacción con la temperatura.

El parámetro  $Q_{10}$  es el aumento de la velocidad que se produce al aumentar en  $10^{\circ}\text{C}$  la temperatura.

$$Q_{10} = \frac{k_{(T + 10)}}{k_T}$$

Este parámetro es dependiente de la temperatura y disminuye al aumentar ésta. Proporciona una forma rápida de visualizar el efecto de la temperatura.

En sistemas en cuya composición intervienen azúcares y aminoácidos la energía de activación oscila generalmente entre valores de 83 y 166 KJ/mol (20 y 40 Kcal/mol, respectivamente) (Heiss y Eichner, 1984). Los valores de  $Q_{10}$  están graficados en la Figura 1 en función de las energías de activación para distintas temperaturas. Se observa que para las energías de activación correspondientes a la reacción de Maillard la velocidad de reacción aumenta entre 2 y 8 veces (en el rango  $20-60^{\circ}\text{C}$ ) al aumentar  $10^{\circ}\text{C}$  la temperatura. Esto concuerda con los resultados obtenidos por otros autores (Shallenberger y Birch, 1975; Song y col., 1966; Petriella y col., 1985).

En cuanto a las reacciones de caramelización, si bien

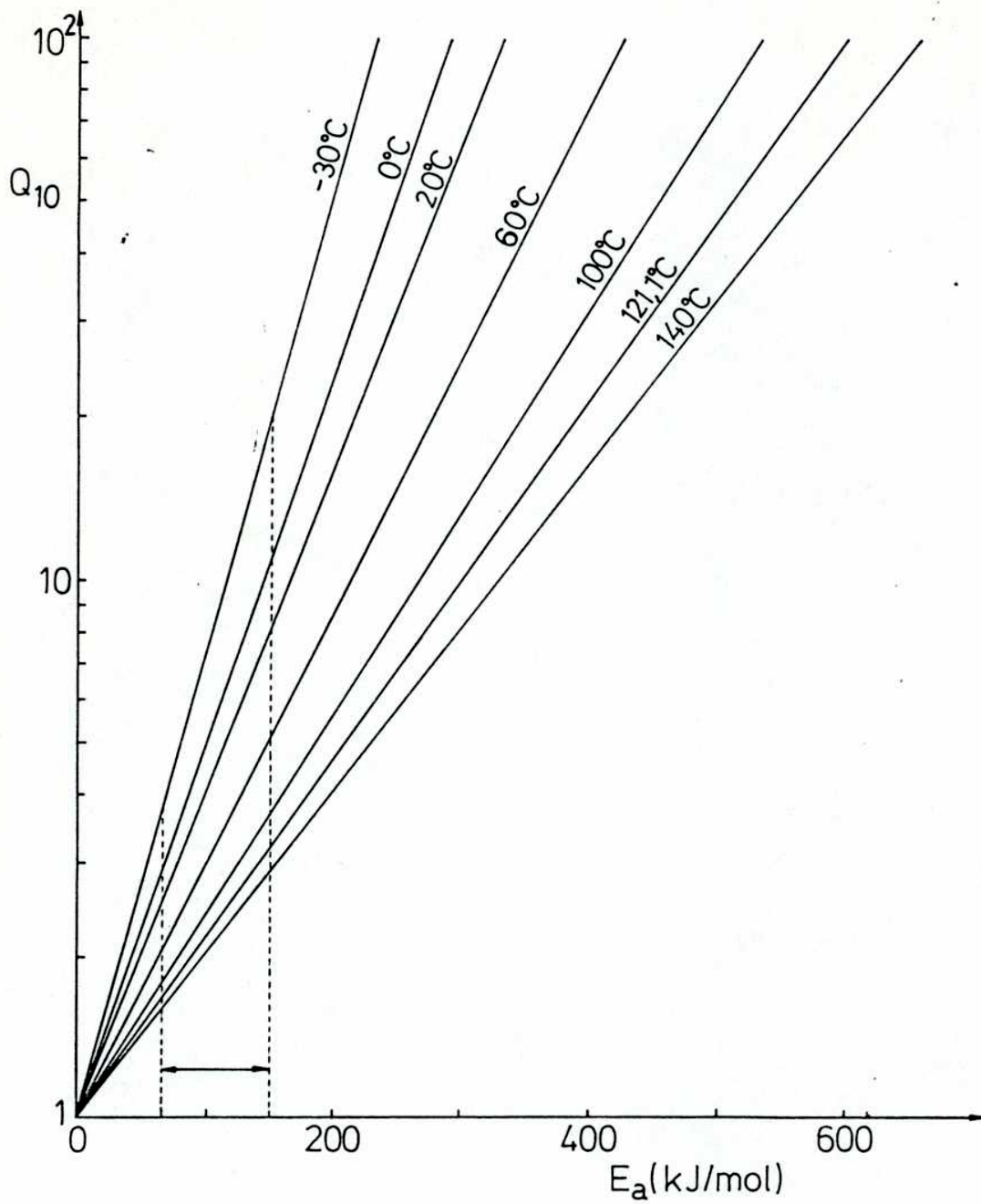


Figura 1: Dependencia del  $Q_{10}$  con la energía de activación y la temperatura

no hay una cuantificación apropiada sobre el efecto de la temperatura en la formación de color por debajo de 100°C, se puede deducir, de acuerdo con lo discutido en este punto que dicho efecto será también importante.

El calentamiento tiene además efecto sobre otras reacciones paralelas a las de pardeamiento, en las que se pueden generar grupos reactivos en las reacciones de formación de color. Por ejemplo, favorece la hidrólisis de disacáridos, en particular sacarosa (azúcar no reductor), lo que conduce a la formación de grupos carbonilo reactivos. Las energías de activación informadas para esta reacción varían entre 105 y 110 KJ/mol (25 y 26 Kcal/mol) (Lamble y col., 1915; Zhong y col., 1984; Schoebel y col., 1969), tanto para sistemas diluïdos como para soluciones saturadas.

### 2.2.2. pH

La variación de pH da lugar a reacciones cualitativamente diferentes.

En medio alcalino ocurre una apertura instantánea del anillo hemiacetálico de los azúcares, con posterior enolización e interconversión de azúcares (epimerización, isomerización) y fisión del doble enlace. Las reacciones de deshidratación que ocurren luego están menos estudiadas pero se detectan productos de

la condensación aldólica que son metilciclopentelononas con aroma a caramelo (Hodge y Osman, 1976). Las reacciones de fragmentación conducen a acetol, acetofina, diacetilo y en general ácidos y otros compuestos de bajo peso molecular (Hodge y Osman, 1976).

En medio neutro o ácido, también ocurre la enolización e isomerización en presencia de algunos ácidos orgánicos como catalizadores, lo cual significa que existe una catálisis ácido-base en la que los aniones de los ácidos orgánicos y los oxhidrilos del agua son bases efectivas en medio ácido (aunque estén en bajas concentraciones). Luego se produce la deshidratación, principalmente con formación de 5-hidroxiacetilfurfural (HMF) a partir de hexosas y 2-furaldehído a partir de pentosas. Por la fragmentación de HMF se forman los ácidos levulínico y fórmico.

En resumen: en medio ácido la enolización de los azúcares es lenta, las reacciones de deshidratación son rápidas, no son afectadas por el oxígeno del aire y los productos de fragmentación son escasos.

En medio alcalino la enolización es rápida, las reacciones de deshidratación son más lentas que la enolizaciones, la oxidación por el aire cambia la composición de los productos y están favorecidas las fragmentaciones (Hodge y Osman, 1976).

El pH del medio también determina la concentración de las formas en equilibrio de los compuestos con grupo amino, y co-

mo solamente la forma aniónica de éstos puede combinarse con azúcares reductores, el grado de reacción depende marcadamente del pH (Katchalsky y Sharon, 1953).

Finalmente, ciertas reacciones generadoras de grupos reactivos en las reacciones de pardeamiento (como la hidrólisis de disacáridos) están sujetas a catálisis ácida, y por lo tanto, el grado en que se produzcan dependerá también de la acidez del medio.

De lo expuesto en este punto se desprende el significativo efecto (cuali y cuantitativo) del pH sobre las reacciones de formación de color, por lo que será una de las variables que se someterá a estudio.

### 2.2.3. Actividad de agua

Ya que en un alimento las propiedades fisicoquímicas del agua están alteradas debido a las diversas interacciones con los distintos componentes, la actividad de agua resulta una medida mucho más significativa del estado fisicoquímico del agua en los alimentos que la utilización del parámetro de humedad (Troller y Christian, 1978).

Está definida como:

$$a_w = \frac{P}{P_0} T$$

Donde:  $\tau$ .

$p_0$  = presión de vapor del agua pura

$p$  = presión de vapor del agua en el alimento

( $p_0$  y  $p$  tomadas a la misma temperatura). El agua pura tiene una  $a_w$  de 1. Los diferentes fenómenos de asociación o combinación del agua disminuyen la cantidad de agua libre y esto se refleja en una disminución de la  $a_w$  (Chirife, 1978).

En la mayor parte de las reacciones de deterioro que experimentan los alimentos, el agua desempeña un rol primordial, ya sea como reactivo, producto o medio de la reacción.

En las reacciones de pardeamiento el agua libre cataliza la enolización de azúcares reductores, de manera que la actividad de agua tiene un efecto marcado sobre la velocidad de las mismas.

En sistemas sólidos la velocidad de la reacción de pardeamiento no enzimático en función de la  $a_w$  presenta un máximo a valores de  $a_w$  entre 0,6 y 0,8 (Labuza y Saltmarch, 1980) (Figura 2). A bajas  $a_w$  el factor limitante es la difícil movilidad, los reactivos no pueden interaccionar entre ellos y la reacción no tiene lugar. A medida que aumenta la  $a_w$  del sistema, ocurren dos fenómenos: disminución de la viscosidad de la fase acuosa y disolución de los reactivos en esa fase (Warmbier y col., 1976; Labuza,



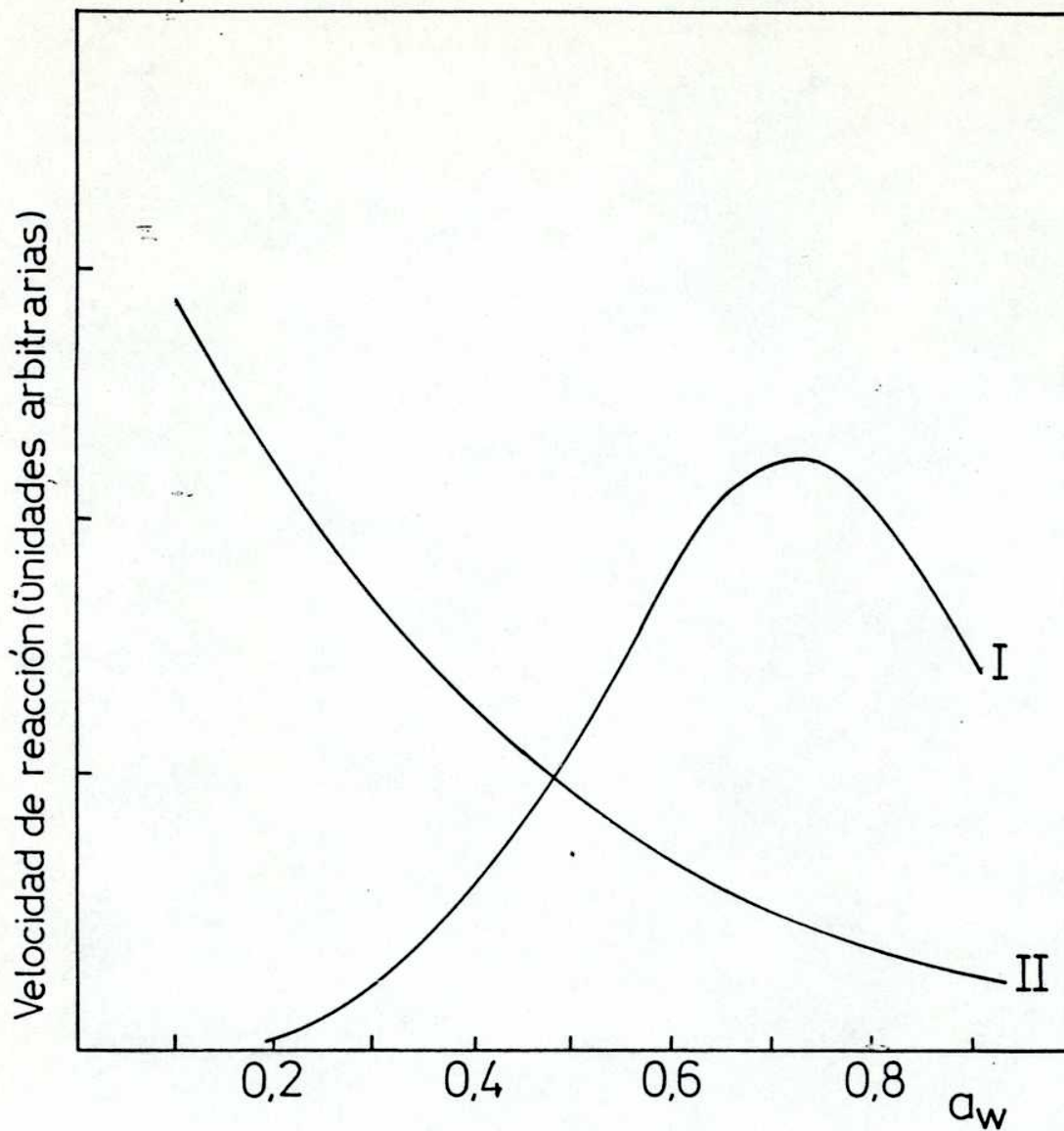


Figura 2: Dependencia de la velocidad de pardeamiento no enzimático en función de la actividad de agua. I: alimentos y sistemas sólidos (Labuza y Saltmarch, 1980). II: alimentos y sistemas líquidos (Loncin, 1965)

1980). Como consecuencia, se va produciendo un aumento gradual de la concentración de los reactivos y de su velocidad de difusión en la fase acuosa, lo cual se traduce en un aumento sostenido de la velocidad de reacción al aumentar la  $a_w$ . Llega un momento en que la fase acuosa se satura y un aumento del contenido acuoso no altera la concentración de reactivos, sino hasta el momento en que cesa la disponibilidad de los mismos para disolverse, y un aumento del agua sólo provoca dilución. Este efecto, sumado al hecho de que el agua, por ser un producto de reacción tiene una acción inhibitoria sobre la misma, ocasiona una disminución de la velocidad de reacción (Eichner y Karel, 1972; Labuza y Saltmarch, 1980, Labuza y col., 1977).

En sistemas modelo líquidos se estudió el pardeamiento en un amplio rango de  $a_w$  variando las proporciones relativas de agua y humectante (Loncin y col., 1965; Eichner y Karel, 1972). Como en estos sistemas ni la viscosidad ni la disolución de reactivos son factores limitantes, ocurre una gradual disminución de la velocidad de reacción al aumentar la proporción de agua (Figura 2) ya que el agua es un producto de la reacción (reacciones de deshidratación) y tiene un efecto inhibitorio sobre la misma.

Petriella y col. (1985) observaron la baja influencia de la actividad de agua en la velocidad de desarrollo de color por reacciones de pardeamiento en el rango 0,90-0,95 de  $a_w$ , lo cual es

consecuencia de la forma asintótica de la curva mencionada (Figura 2) en esa región de actividades de agua. Debido a esto, en el presente trabajo, todos los análisis fueron efectuados a un nivel de  $a_w$  de 0,90, con la certeza de que los resultados serán aplicables en el rango 0,90-0,95.

#### 2.2.4. Mezclas reguladoras de pH ("Buffers")

Si la solución no está regulada ocurre una disminución del pH durante el transcurso de las reacciones de pardeamiento. En el caso de caramelización esto se debe a los compuestos de naturaleza ácida que se forman, y en el caso de la reacción de Maillard, a este efecto se suma el producido por la remoción del grupo amino básico. El resultado de esa disminución de pH es una autoinhibición.

Saunders y Jervis (1966) señalaron que en condiciones levemente alcalinas los "buffers" reducen la caída de pH causada por productos de reacción de naturaleza ácida, colaborando para mantener el pH en un nivel en el cual la reacción es más rápida, pero en condiciones ácidas el cambio de pH es relativamente pequeño y no es tan sensible al efecto de las mezclas reguladoras.

Como una mezcla reguladora es por definición un sistema ácido-base, en el caso de las reacciones de caramelización la

acción aceleradora de un "buffer" se explica porque éstas son catalizadas tanto por ácidos como por bases. En el caso de la reacción de Maillard, además de este importante efecto catalítico, está el efecto de evitar el descenso de pH producido por la remoción del grupo amino básico. Esto está de acuerdo con los resultados de Hodge, (1953) que concluyó que los ácidos orgánicos y sus sales promueven la enolización de los azúcares.

Este efecto acelerador del pardeamiento de los sistemas "buffer", es importante debido a que en muchos alimentos se encuentran iones tales como citrato, fosfato o malato, que tienen un demostrado efecto catalítico (Bobbio y col., 1973; Hodge, 1953). Además hay que tener en cuenta que las distintas sales tienen distintos efectos catalíticos, y por lo tanto la velocidad de pardeamiento dependerá no sólo del pH al cual esté regulada la solución, sino de la mezcla de sales, ácidos o bases que se haya utilizado para ello (Saunders y Jervis, 1966; Bobbio y col., 1973).

#### 2.2.5. Azúcares

Cuando un azúcar se disuelve en agua, se establece un equilibrio entre las formas iónicas y solvatadas de las forma cíclicas (piranosa o furanosa) y formas acíclicas del azúcar que son las reactivas. El comportamiento subsecuente del azúcar depende

en gran manera de la posición de este equilibrio y la velocidad con que las distintas formas se interconvierten.

Isbell y col. (1969) sugirieron que en la reacción de mutarrotación (pasaje de forma  $\alpha$  a  $\beta$ ) el anillo del azúcar se abre momentáneamente formando un intermediario acíclico, de conformación similar a la del azúcar del que proviene, seguido por la formación de un enediol, que es un compuesto muy activo en las reacciones siguientes, que conducen a la formación de sustancias coloreadas. Como los cambios estructurales iniciales son importantes para el desarrollo de las reacciones que llevarán a la formación de estas sustancias, varios autores buscaron correlaciones entre la reactividad de los azúcares y la proporción de forma acíclica, velocidad de mutarrotación (Traitteur, 1951), o proporción de forma aldehídica (Cantor y Peniston, 1940; Katchalsky, 1941; Burton y Mc Weeny, 1963).

Existe una regla general y es que las pentosas son más reactivas que las hexosas y éstas más reactivas que los disacáridos reductores (Shallenberger y Birch, 1975; Mauron, 1981). Los disacáridos no reductores deben primero hidrolizarse y se consideran menos reactivos. Pocos autores hay definido todas las condiciones a las que trabajaron, por lo tanto estas afirmaciones tienen un valor meramente orientativo y puede haber alguna alteración en el orden establecido al variar las condiciones de pH, temperatura,

$a_w$  y/o al cambiar la concentración de los reactivos (Shallenberger y Birch, 1975).

#### 2.2.6. Amino compuestos

En presencia de amoníaco o de aminas primarias o secundarias, el pardeamiento de azúcares reductores se acelera. Las aldosas o cetosas reaccionan con estos compuestos para formar glicosilaminas, y esta reacción es reversible (Reynolds, 1963). Si hay presente un catalizador ácido-base ocurre un reordenamiento (llamado de Amadori, si se trata de una aldosa y de Heyns, si se trata de una cetosa), análogo a la enolización o isomerización de un azúcar no sustituido.

Si está presente un aminoácido, o un péptido, actúan tanto de fuente de amina como de catalizador ácido y el reordenamiento se produce inmediatamente (Shallenberger y Birch, 1975; Reynolds, 1970).

En resumen, la función de un amino-compuesto sería estabilizar o retener al azúcar en su conformación de intermediario pseudo-acíclico (mencionado en el punto 2.2.5.), que es el necesario para que tengan lugar las reacciones que llevan a la formación de macromoléculas coloreadas.

El esquema de la Figura 3 muestra algunos de los caminos

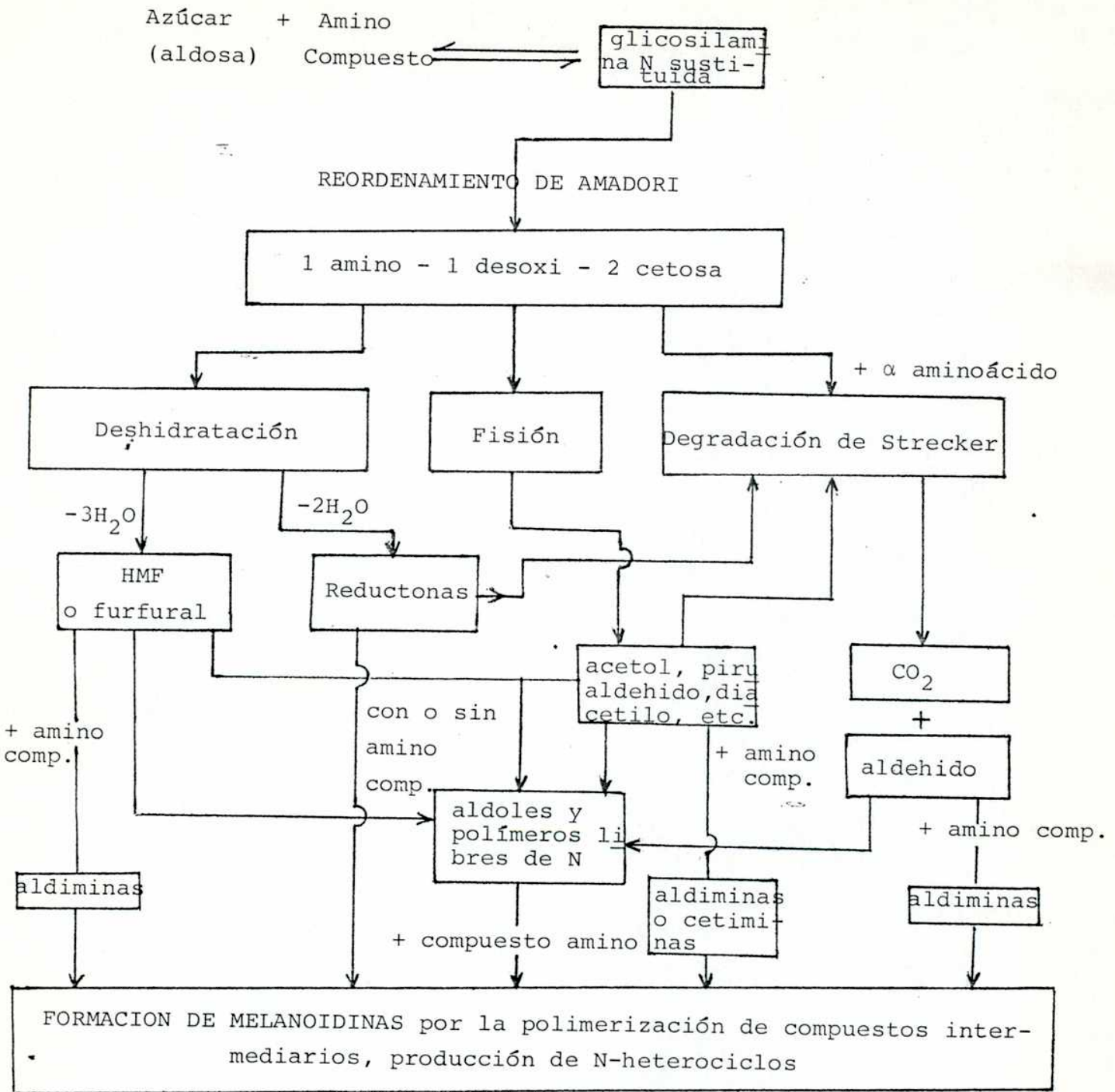


Figura 3: Esquema de algunas de las reacciones que conducen a pardeamiento

posibles que conducen la reacción de un azúcar (aldosa) y un compuesto amino a melanoidinas (Hodge, 1953).

De igual manera que la posibilidad de producir pardeamiento o de reaccionar con amino-compuestos varía considerablemente con el azúcar usado, éstos últimos también difieren en la facilidad con que reaccionan con un determinado azúcar.

A partir de un estudio de pardeamiento de varios aminoácidos con glucosa (a 60°C), Beacham y Dull (1951) concluyeron que el grado de pardeamiento era proporcional a la fuerza básica del aminoácido, pero Ashoor y Zent (1984) observaron que esta afirmación no es siempre válida ya que el aminoácido neutro glicina da una intensidad de pardeamiento similar a la del aminoácido básico L-lisina y mucho mayor pardeamiento que el producido por el aminoácido básico L-arginina, a pH entre 6 y 12, a 121°C y tanto en presencia de glucosa como de fructosa o lactosa; por lo tanto, la basicidad del amino-compuesto es sólo uno de los muchos factores que afectan el pardeamiento.

Aunque se considera que los péptidos son unos de los más importantes compuestos potencialmente generadores de pardeamiento (Okuhara y col., 1970, 1971), los estudios de la reacción de Maillard se han centrado en aminoácidos, aminas o proteínas pero no en péptidos (Chuyen y col., 1973; Hashiba, 1975). En productos tales como salsa de soja, en los que el pardeamiento se produce con mucha



facilidad, justamente se atribuye a la presencia de ciertos péptidos la alta velocidad de desarrollo de colores oscuros. (Hashiba, 1975).

El pardeamiento de sistemas que contienen péptidos y compuestos carbonílicos tiene un significado especial en el área alimentaria ya que tanto los péptidos naturales como hidrolizados de proteínas están ampliamente distribuidos en alimentos.

### 2.3. Evaluación del grado de pardeamiento

Desde que Maillard, en 1912 estudió las reacciones que tienen lugar entre los grupos amino de aminoácidos, péptidos o proteínas y los grupos carbonilo de azúcares reductores, diversos autores trataron de interpretar los mecanismos, debido a sus importantes aplicaciones en fisiología o en el área de preservación de alimentos.

Los resultados de Maillard no fueron estrictamente cuantitativos, ya que él basó sus datos en observaciones visuales. A partir de sus publicaciones se obtuvieron datos más precisos sobre la reactividad relativa de varios azúcares y aminoácidos, pero el método usado para medir el grado de avance puede tener un efecto importante sobre el resultado.

Además, gran cantidad de bibliografía concerniente a la cinética de la reacción y sus mecanismos es contradictoria debido a las diferentes condiciones de acidez, temperatura,  $a_w$  y concentraciones empleadas por los distintos investigadores.

El grado de avance de la reacción que conduce a pardeamiento fue seguido de diversas maneras y en distintas etapas de la misma, desde las iniciales, en que las soluciones son todavía incoloras, hasta las finales, en las que se determina directamente el grado de pardeamiento por la evolución de color o la pérdida de transmitancia.

Los resultados obtenidos en las distintas etapas o por distintos métodos pueden estar correlacionados o no, según las características a determinar.

Los métodos utilizados por los diversos autores que serán citados en este trabajo son sólo algunos ejemplos de los muchos que es posible hallar en literatura.

a) Etapas iniciales de la reacción.

Cantor y Peniston (1940); Delahay y Strassner (1952) y Overend y col. (1961), estudiaron la cinética de la transición de la forma hemiacetálica a la forma acíclica de varias aldosas, por métodos polarimétricos utilizando un electrodo de mercurio.

Stepanenko y Serdyus (1950) determinaron las cantidades relativas de forma aldehídica de varios azúcares con el reactivo de

Schiff.

Como al formarse la base de Schiff en la reacción de una aldosa con un aminoácido aumenta la acidez porque disminuye la concentración de grupos amino, y además la base de Schiff es un ácido más fuerte que el correspondiente aminoácido, se desarrollaron algunos métodos basados en la determinación del aumento de acidez. Frankel y Katchalsky (1937, 1938, 1941 a y b), utilizaron un método potenciométrico para seguir el mencionado cambio de pH y en 1953 Katchalsky y Sharon midieron el curso de esta reacción por la cantidad de álcali que era necesario agregar a una solución de azúcar y aminoácido para mantener el pH constante. Lingnert y Eriksson (1980) correlacionaron la disminución de pH con el aumento de absorbancia a 490 nm.

Haugaard y col. (1951) y Haugaard y Tumerman (1956) describieron un método en el que determinaban los cambios de nitrógeno soluble en una solución de aldosa saturada con un aminoácido, en equilibrio con cristales del aminoácido en exceso. A medida que el aminoácido se combinaba con el azúcar se disolvía una porción nueva de aminoácido. En consecuencia, la velocidad con que aumentaba el nitrógeno soluble en estos sistemas fue una técnica adecuada para estudiar la cinética de la reacción.

Isbell y col. (1969) para estudiar la velocidad de enolización de azúcares en medio alcalino, midieron la incorpora-

ción de tritio a las moléculas de azúcar, llevando a cabo la reacción en agua tritiada. La incorporación de tritio depende de la velocidad a la cual el enediol se forma y se convierte en productos que contienen tritio.

Otra forma de conocer el grado en que avanza una reacción es a través de la determinación de la velocidad con que desaparecen los reactivos.

Se han aplicado numerosas metodologías que utilizan cromatografía en placa (Spark, 1969), métodos enzimáticos (Lingnert y Eriksson, 1980), analizador de aminoácidos (Hashiba, 1982; Talley y Eppley, 1985), cromatografía en fase gaseosa (Cerrutti, 1985; Wolfrom y col., 1974; Kato y col., 1982), cromatografía líquida de alta presión (Mc Ginnis y col., 1984).

#### b) Concentración de intermediarios

Se les da el nombre de intermediarios a compuestos que se forman durante la descomposición de azúcares y no son coloreados, pero se polimerizan fácilmente para dar macromoléculas de pigmentación marrón. Entre estos compuestos se encuentra el 5-hidroximetilfurfural que se forma en las reacciones que ocurren en medio ácido. Generalmente se determina por su banda de absorción característica en el ultravioleta (alrededor de 280 nm) (Scallet y Gardner, 1945; Singh y col., 1948; Song y Chichester, 1966; Kato y col., 1969; Resnik y Chirife, 1979)

aunque puede determinarse por cromatografía líquida de alta presión (Sallenberger y Mattick, 1983).

Otros intermediarios, que se forman en solventes no acuosos o en medios deshidratados, se llaman "reductonas". Tienen la estructura de la reductona,  $\text{HOCH}_2\text{COCHO}$  y son fuertes agentes reductores. Es probable que tengan la estructura del furfural pero abierta (Hodge, 1953). Ledl y col. (1983) y Kito y col. (1981) determinaron la concentración de reductonas a través de reacciones basadas en su poder reductor.

Hashiba (1982) determinó que el poder reductor (reacción con ferrocianuro) era proporcional a la intensidad de pardeamiento.

También existen intermediarios fluorescentes, que contienen sistemas cromofóricos con seis electrones  $\pi$ .

Muchos autores llevaron a cabo mediciones de fluorescencia durante las reacciones de pardeamiento (Burton y col., 1963; Chio y Tappel, 1969).

### c) Medición del grado de pardeamiento

El efecto visual conocido como "pardeamiento" es causado por absorciones selectivas espectrales.

Durante mucho tiempo fueron los métodos puramente subjetivos (comparación visual) los únicos empleados para determinar

el grado de pardeamiento de productos alimenticios.

Con el avance de la instrumentación, se intentó evaluar dicha sensación con algún parámetro cuantificable, desde la medición de absorbancia en una o más longitudes de onda a la medición completa de la transmisión/reflexión de la muestra en todo el ámbito visible (380-770 nm) y la posterior evaluación del color observado en términos de algún sistema aceptado internacionalmente.

La variable más frecuentemente usada para medir el desarrollo de reacciones de pardeamiento no enzimático en alimentos o sistemas modelo es la densidad óptica de las soluciones pardeadas a una longitud de onda particular (generalmente entre 390-500 nm) (Ellis, 1959; Lee y col., 1979; Reyes y col., 1982; Rooney y col., 1967).

Sin embargo, la absorbancia de estas soluciones pardeadas no puede ser considerada una medida correcta del grado de reacción, debido a que la absorbancia depende de los coeficientes de extinción de los distintos polímeros, y puede aumentar sin que haya formación de pigmento, por un incremento en las insaturaciones y conjugaciones (Spark, 1969).

Por otro lado, para el mismo grado de pardeamiento (visual) la absorbancia a una longitud de onda fija puede diferir debido por ejemplo a la presencia de alguna sustancia que al-

tere la curva de transmitancia espectral (Spark, 1969).

Si el efecto visual es el que se desea evaluar, ya que el mismo se correlaciona con la pérdida de aceptabilidad, una medición del color convencional, puede ser representativa del fenómeno que se quiere estudiar. Esta medición se realiza con un instrumento que cubre todo el ámbito visible (380-770 nm) y que tiene una sensibilidad parecida a la del ojo humano. Esto no implica desechar la posibilidad de que algún parámetro físico relacionado con la absorción/transmisión/reflectancia espectral de la muestra pueda ser conveniente para describir indirectamente el pardeamiento.

#### Medida cuantitativa del color

De los sistemas propuestos para la especificación del color el más difundido universalmente es el de la CIE (Comisión Internationale de l'Eclairage) en el cual el color es indicado por tres variables, X, Y, Z conocidas como los valores triestímulo y que representan a tres colores primarios imaginarios (Lozano, 1978).

En la especificación de un color es necesario considerar: a) el factor de transmitancia o reflectancia espectral, b) la distribución energética de la luz incidente o iluminante y c) el análisis por el sistema visual de acuerdo con los tres primarios ele-

gidos.

El factor de transmitancia o reflectancia espectral se obtiene mediante un espectrofotómetro. La distribución energética de diversos iluminantes es conocida. El llamado iluminante C (CIE), por ejemplo, tiene una distribución energética similar a la luz blanca solar. Los primarios elegidos por la CIE son tres colores imaginarios, definidos por razones de conveniencia a partir del resultado de experiencias realizadas con colores primarios reales y diversos observadores.

Del producto del factor de transmitancia o reflectancia espectral por la distribución energética del iluminante se obtiene la intensidad de la radiación que recibiría un observador a cada longitud de onda. Luego, este valor es multiplicado por la contribución de cada primario, para finalmente integrar y obtener los valores triestímulos X, Y, Z.

En los espectrofotómetros modernos este cálculo se hace automáticamente mediante un sistema de computación acoplado al instrumento. Así el color queda determinado en un espacio tridimensional de coordenadas X, Y, Z.

La forma habitual de representación del color es a través de las llamadas coordenadas cromáticas, x e y definidas:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z}$$



$$Y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

El color definido por  $x$ ,  $y$  se representa en el diagrama cromático CIE donde sólo tiene lugar la cromaticidad del color en cuestión. Para que la especificación del color sea completa es necesario agregar el valor de  $Y$  que por sus características de cálculo representa la propiedad de reflejar más o menos luz y es conocido como la luminosidad o la claridad del color.

En la Figura 4 está representado el llamado diagrama cromático CIE, en el que se delimita el plano de las coordenadas cromáticas con la línea de los colores espectrales, cerrada por una línea recta que une los extremos del espectro visible, conocida como línea de púrpuras (Lozano, 1978).

La nomenclatura de las distintas áreas involucradas propuesta por Kelly (1943).

#### Evaluación de las diferencias cromáticas

La diferencia entre dos colores ( $\Delta E$ ) viene dada por la ecuación de la distancia entre dos puntos del espacio:

$$E = [(\Delta x)^2 + (\Delta y)^2 + (\Delta z)^2]^{\frac{1}{2}}$$

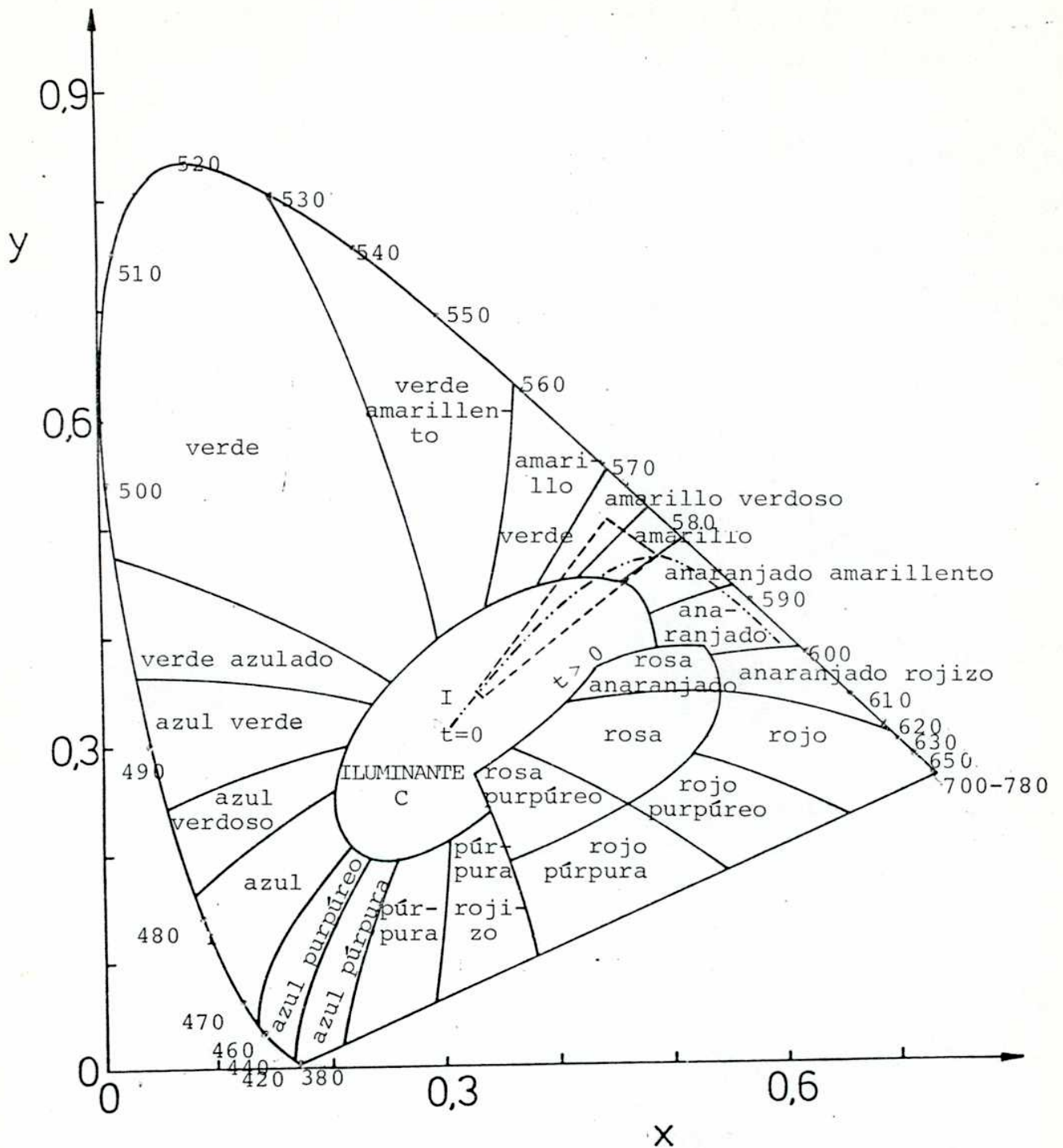


Figura 4: Diagrama de cromaticidades (Kelly, 1943) y curva de desplazamiento cromático para pardeamiento no enzimático (I; Buera y col., 1986). (Los números del borde corresponden a las longitudes de onda).

La diferencia de color así calculada no suele ser de fácil aplicación para estimar la diferencia entre dos colores debido a que el espacio CIE no es homogéneo (distancias iguales no suelen representar diferencias de color iguales en la percepción por el ojo humano).

Para subsanar este problema se han desarrollado una serie de transformaciones del espacio CIE que permiten obtener mejores resultados en la evaluación de la diferencia de color. Así surgen las transformaciones CIELAB y CIELUV (Lozano, 1979). El CIELUV es una transformación lineal del espacio cromático CIE. En cambio, líneas rectas en el espacio CIE corresponden a líneas curvas en el espacio CIELAB.

Dentro de estos nuevos espacios es posible a su vez definir otras funciones, que pueden ser indicativas de determinados atributos del color, como la saturación y el tono (Hunt, 1977).

Tono es el atributo que adjudica al color una cualidad que se define como rojo, verde, azul, etc.

Saturación es el atributo que, fijado el tono, describe al color por su similitud con un color espectral puro, cuanto más parecido a éste, tanto más saturado.

A la propiedad psicológica tono le corresponde la propiedad psicofísica longitud de onda dominante. Esta se obtiene gráficamente, conocidas las coordenadas cromáticas del color, uniendo

el punto que las representa con el punto correspondiente a las coordenadas cromáticas del iluminante, prolongando esta recta hasta que corte la línea de los colores espectrales; el punto en que la corta representa la longitud de onda dominante.

Pureza es la propiedad psicofísica que corresponde a la propiedad psicológica saturación.

Si el color está situado sobre la línea de colores espectrales, su pureza es 1.

Se puede calcular la pureza de un color como:

$$P = \frac{x - x_w}{x_p - x_w}$$

Donde:

$x$  = coordenada cromática del color

$x_w$  = coordenada cromática de la fuente

$x_p$  = coordenada cromática del color puro espectral

A partir del análisis de muestras de diferente composición, tratadas térmicamente bajo diferentes condiciones (a temperaturas entre 35 y 65°C), Buera y col. (1986) determinaron la curva que describe el desplazamiento cromático que experimentan las soluciones que se someten a pardeamiento. Dicha curva (I) está re-

presentada en la Figura 4. Desde el tiempo cero de tratamiento térmico, en que las soluciones son transparentes e incoloras, van incrementando su coloración a medida que avanza el tiempo de tratamiento térmico, hacia la zona del rojo. Eliminando los puntos que corresponden a soluciones transparentes, (cuya pureza es menor que 0,1), y los que son demasiado oscuros, (de pureza mayor que 0,9), se puede determinar que el color marrón relacionado con las reacciones de pardamiento no enzimático es un color cuya longitud de onda dominante está entre 573 y 580 nm, y el trapecioide delimitado por estas características contiene la curva que describe al fenómeno. Cualquier punto que caiga dentro de ese trapecioide pertenecerá a una muestra de color pardo.

Por lo tanto conociendo esta curva de cromaticidad, es posible hallar un índice de pureza, y la función correspondiente, saturación, es adecuada para el seguimiento del color en este tipo de sistemas.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

De todas las variables que afectan el desarrollo de las reacciones de pardeamiento, una muy importante es la composición del sistema. Teniendo en cuenta esto, se partió de soluciones en las que la formación de color es debida únicamente a interacciones entre un azúcar y el medio "buffer" en que se encuentra y luego se fueron adicionando compuestos que podrían afectar dichas reacciones (glicina, péptidos de glicina, sorbato de potasio), para estudiar la incidencia relativa de cada uno de ellos.

Esquemáticamente, sobre un sistema base formado por "buffer" fosfato 0,35M y NaCl para ajustar la actividad de agua a 0,90, los sistemas a analizar fueron, en orden creciente de complejidad:

- a) Distintos azúcares
- b) Distintos azúcares + glicina
- c) Glucosa + péptidos de glicina
- d) Glucosa + glicina + sorbato de potasio

#### 3.1. Preparación de los sistemas modelo

Los reactivos se disolvieron en agua destilada y las so-

luciones se hicieron llevando a volumen en matraces aforados. Para evitar los cambios de pH que se producen durante el transcurso de la reacción (sección 2.2.4.) se utilizaron mezclas reguladoras ("buffers") de concentración 0,35M en fosfatos, con cantidades variables de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , según el pH requerido. Si bien las cantidades relativas de estas sales pueden ser determinadas por cálculo a partir de las constantes de equilibrio, la alta fuerza iónica debido al agregado de NaCl (para ajustar la  $a_w$ ) hace que el pH obtenido difiera del teórico, por lo que dichas cantidades fueron determinadas experimentalmente por Petriella (1983). El ajuste final de pH se realizó con NaOH o HCl. En la Tabla 1 se indica la composición de los sistemas base. Para la determinación de pH se empleó un pH-metro Altronix modelo TMX.

### Sistemas modelo

- a) Para el estudio de la reactividad de azúcares en ausencia de grupos amino (caramelización)

	AZUCAR (0,27M)	g/l de solución
a1	glucosa (PM = 180)	49,36
a2	fructosa (PM = 180)	49,36
a3	sacarosa (PM = 342)	93,78

Tabla 1

Composición de los sistemas base

pH	2.85	4.0	5.0	6.0	7.75
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (g/l)	50,0	47,0	38,4	19,9	1,0
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (g/l)	0,6	2,0	12,1	36,6	60,0
NaCl (g/l)	120,0	120,0	120,0	120,0	120,0



a4	lactosa (monohidrato)	98,80
	(PM = 360)	
a5	maltosa (monohidrato)	98,80
	(PM = 360)	
a6	xilosa (PM = 150)	41,12

b) Para el estudio de la reacción azúcar-glicina

AZUCAR 0,27 M (igual que en la parte a)

GLICINA (PM = 75,07) 0,067 M            5,15 g/l solución

c) Para el estudio de la interacción de glucosa con glicina o péptidos

Glucosa                            0,27 M  
 Glicina o péptidos    0,067 M  
 Glicina (PM = 75,07)  
 Diglicina (PM = 132)  
 Triglicina (PM = 189)

En algunos ensayos se varió la concentración del compuesto nitrogenado para estudiar el efecto de la concentración anión-

///

nica. Se trabajó con una concentración de la forma aniónica del aminoácido o péptido, de  $1,671 \times 10^{-5} \text{M}$ , que corresponde a las siguientes concentraciones

pH	Glicina	Diglicina	Triglicina
5	$6,7 \times 10^{-1} \text{M}$	$2,3 \times 10^{-2} \text{M}$	$1,4 \times 10^{-2} \text{M}$
6	$6,66 \times 10^{-2} \text{M}$	$2,27 \times 10^{-3} \text{M}$	$1,378 \times 10^{-3} \text{M}$

d) Para el estudio del efecto del agregado de sorbato de potasio en la cinética de formación de color se agregó al sistema base glucosa (0,27M), glicina (0,067M) y sorbato de potasio desde 1 g/l hasta 3 g/l.

Las cantidades relativas azúcar (0,27M); compuesto nitrogenado (0,067M) corresponde a una relación 4:1 que es cercana a la hallada en algunos jugos de fruta para azúcares reductores: aminoácidos libres (Wolfson y col., 1974), y, por otro lado la concentración de azúcares utilizada se encuentra en el rango de la concentración de azúcares reductores en frutas, que oscila entre un 5 y un 10% (Paz y col., 1982).

///

### Ajuste de la actividad de agua

Se utilizó NaCl (agente humectante) para producir la reducción de actividad de agua hasta 0,90.

La cantidad utilizada (120 g/l) fue hallada partiendo de la ecuación de Ross (1975):

$$a_w = \prod_i a_{w_i}$$

$a_w$  = actividad de agua de la solución

$a_{w_i}$  = actividad de agua de cada componente calculada como si estuviera solo en la solución

El valor de  $a_{w_i}$  se obtiene de gráficos y tablas en los que la  $a_w$  viene expresada en función del porcentaje en peso del compuesto (Ferro Fontán y col., 1979). La cantidad de NaCl se obtuvo despejando la  $a_{w_i}$  y usando la tabla correspondiente.

### Medición de la actividad de agua

Las mediciones fueron realizadas usando un higrómetro eléctrico Vaisala Humicap (HMI 33), de la firma Vaisala Oy (PL 26 SF-00421, Helsinski 42, Finland), con sensor modificado por Driesen

y Kern (Post fach 1126, 2000 Tangstedt, West Germany) con un error de medición de  $\pm 0,005 a_w$ , de acuerdo con el procedimiento descrito por Favetto y col. (1983).

Se calibra el higrómetro en el rango a usar con soluciones salinas saturadas de  $a_w$  conocida a 25°C. Se obtiene una recta de calibración por cuadrados mínimos, con la cual se convierten los datos leídos en la  $a_w$  de las muestras.

Los valores de referencia de  $a_w$  de las soluciones saturadas a 25°C empleadas, se detallan a continuación (Chirife y col., 1983).

Sal	$a_w$ (25°C)
$(NH_4)_2SO_4$	0,801
KCl	0,843
BaCl <sub>2</sub>	0,902
KNO <sub>3</sub>	0,926
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,972

Las mediciones se realizaron en estufa de circulación forzada de aire (G.C.A. Corporation, U.S.A.).

///

Reactivos utilizados

7.

D-glucosa, D-fructosa, sacarosa, D-xilosa, lactosa, maltosa y ácido sórbico de la firma Mallinckrodt, calidad analítica.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{NaCl}$ , de la firma Merck.

Glicina, diglicina y triglicina de Sigma Chemical Co.

3.2. Tratamiento térmico

Las soluciones se envasaron en frascos cilíndricos de polietileno de alta densidad, de 20 ml de capacidad.

Se colocó en cada frasquito la misma cantidad de muestra (18 ml) para que la cámara de aire en la parte superior (espacio cabeza) fuera semejante.

Se almacenaron las soluciones envasadas a temperaturas de 45, 55, 60 y 65°C durante distintos períodos de tiempo.

Para evitar gradientes de temperatura dentro de las estufas donde se realizó el tratamiento, se utilizaron sistemas con circulación forzada de aire (Lab-line modelo Imperial III, Lab-line Instruments, Inc., Melrose Park, Ill; Longhi Hnos. modelo DBO; Memmert 854 Schabach, W. Germany) con un control de temperaturas de  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ .

Después del tratamiento térmico se retiraron las muestras

///

y se mantuvieron a  $-20^{\circ}\text{C}$  para detener las reacciones de deterioro hasta el momento de su análisis.

### 3.3. Método de medición del color

#### Espectrofotómetro

Se utilizó un espectrofotómetro de la firma Carl Zeiss, modelo DMC25, que consta de doble haz y esfera integradora. Diferentes salidas laterales de esta última permiten la ubicación de la muestra, el patrón de referencia y el fototubo detector.

El equipo puede adaptarse a diferentes tipos de muestras y eventualmente, a mediciones en el ultravioleta o infrarrojo. Permite, a su vez mediciones por transmisión o reflexión (con o sin componente especular). A su vez, tiene dos posibilidades de iluminación: monocromática o policromática, con ajuste automático de ancho de banda (2,5, 5 y 10 nm).

En el presente trabajo se midió el factor de transmitancia espectral en el ámbito visible (730-380 nm) utilizando iluminación monocromática. La fuente luminosa para mediciones en el espectro visible es una lámpara de tungsteno y el monocromador está compuesto por un sistema doble de prismas.

A partir del valor de la transmitancia espectral a cier-

tas longitudes de onda seleccionadas (treinta en total), un sistema acoplado de integración triestímulo (Davidson y Hemmendinger Inc., Tatamy, P.A.), calcula los valores triestímulo X, Y y Z para distintos iluminantes CIE (Lozano, 1978).

### Técnica

Las soluciones a medir se colocaron en cubetas de 10 mm. de ancho, especialmente diseñadas para muestras líquidas (Petriella, 1983). La cubeta se coloca dentro del aparato en forma tal que el haz de luz monocromática la atravesase antes de penetrar en la esfera integradora.

### Estimación del error de la medición de color

La diferencia entre dos mediciones de color sucesivas para la misma muestra es muy baja (alrededor del 0.1%).

Esta diferencia es mayor para mediciones después de calibraciones sucesivas (Petriella, 1983). Sin embargo, si se mide toda una serie de muestras (corrida) después de una calibración, disminuye este error. Además, el hecho de referir la variación de color a la muestra sin tratamiento térmico disminuye el error que se pueda cometer en la calibración.

Se calculó el error a partir de diez determinaciones sucesivas para la misma muestra, con una calibración previa y otra intermedia. Se obtuvo la desviación estándar para los valores triestímulo y luego con el factor  $t$  (para un grado de libertad) se halló el error absoluto para un intervalo de confianza del 95%.

Para una muestra con un grado de pardeamiento intermedio, el error estimado fue del 1% para el valor triestímulo  $X$  y del 3% para los valores triestímulo  $Y$  y  $Z$ .

#### 3.4. Determinación del grado de hidrólisis de sacarosa

Para interpretar los resultados obtenidos en las muestras que contenían sacarosa, fue necesario hacer consideraciones acerca de la hidrólisis que pudiera sufrir este azúcar durante el tratamiento térmico. La cuantificación de la hidrólisis se realizó mediante cromatografía gas-líquido de los derivados trimetilsililéteres de sacarosa y los productos glucosa y fructosa. Se utilizó el procedimiento de derivación de Brobst y Lott (1966), con adición de fenil- $\beta$ -D-glucopiranosido como estándar interno.

#### Preparación de la muestra

Este paso tiene por objeto eliminar productos del pardea-



miento, ácidos orgánicos y otras moléculas iónicas que pueden interferir en el análisis. Se realizó de acuerdo con el procedimiento de Heatherbell (1974).

Se colocaron 2 ml de la solución a ensayar por duplicado en tubos de 20 cm<sup>3</sup> con tapa de teflón. Se agregó a cada tubo 0,5 ml de solución saturada filtrada de acetato de plomo y 8 ml de alcohol. Se agitó con varillas y luego se lavaron éstas con 2 ml de alcohol. Se centrifugó a 2000 rpm durante 10 minutos.

Los sobrenadantes claros se decantaron en matraces aforados de 25 ml. Los residuos se lavaron 2 veces con porciones de 4 ml de alcohol y se centrifugó cada vez 10 min a 2000 rpm. Los líquidos de lavado se reunieron en los matraces de 25 ml y se llevaron a volumen con etanol 80%. Alícuotas de estas soluciones se colocaron en tubos de 10 ml con tapa para la preparación de los derivados de los azúcares.

Simultáneamente se preparó una solución de 6 mg/ml de fenil-β-D-glucopiranosido en etanol 80% y se agregó 1 ml de esta solución a cada tubo como estándar interno A .

Para la obtención de los factores de respuesta del detector se preparó una solución que contenía fenil-β-D-glucopiranosido, glucosa y fructosa (5 mg de cada uno) y 9 mg de sacarosa (pesados con una precisión de 0,1 mg), 1 ml de solución del estándar interno y 2 ml de alcohol B .

Se concentraron las soluciones A y B en evaporador rotatorio en baño María a 60°C y los restos de humedad se eliminaron en una estufa de vacío en 30 minutos a 60°C.

### Derivati zación

La derivati zación de azúcares es un requisito previo al análisis por cromatografía gas-líquido debido a la naturaleza polar y a la no volatilidad de los mismos. El análisis de los trimetilsililéteres (una de las primera técnicas, Sweeley y col., 1963) es generalmente complicado debido a la formación de múltiples picos causados por las varias formas anoméricas y estructurales de cada azúcar. Esta desventaja se obvia convirtiendo al azúcar en un derivado acíclico antes de la formación del derivado volátil.

Las oximas se forman en la reacción del azúcar con clorhidrato de hidroxilamina y los grupos oxhidrilo previamente impedidos estéricamente, quedan mejor dispuestos para la trimetilsililación (Stroz, 1979). La piridina es un buen solvente para ambas reacciones y, además, por ser un aceptor de protones desplaza la reacción. El trimetilsilil derivado del estándar interno (fenil- $\beta$ -D-glucopiranosido) se eluye en una posición en la que no se detecta ningún otro

azúcar presente, y esto, sumado a su adecuado factor de respuesta lo hace conveniente como patrón.

Se prepararon los trimetilsililderivados de acuerdo con el procedimiento de Brobst y Lott (1966).

Luego del secado, a cada tubo se agregó 1 ml de una solución de  $\text{HONH}_2 \cdot \text{ClH}$  (Clorhidrato de hidroxilamina en piridina (25 mg/ml)) y se colocaron 30 minutos en baño a  $70^\circ\text{C}$ . Después se dejaron enfriar y se agregó a cada tubo 1 ml de hexametildisilazano. Se agitó y se agregó cuidadosamente por las paredes 0,1 ml de ácido trifluoracético. Se tapó y agitó durante 1 minuto. Se dejaron los tubos en reposo 30 minutos. Luego se decantaron y cromatografiaron.

#### Reactivos utilizados

Acetato de plomo: Mallinckrodt

Etanol de grado analítico (Cicarelli)

Fenil- $\beta$ -D-glucopiranosido: Sigma Chem. Co.

$\text{HONH}_2 \cdot \text{HCl}$ : Mallinckrodt

Piridina: Merck

Hexametildisilano Merck

Acido trifluoracético: Merck

## Cromatografía

Se utilizó un cromatógrafo Hewlett Packard modelo 5840A, equipado con una columna de vidrio de 6 pies (1,83 m) de largo y 1/8 de pulgada (0,3 cm) de diámetro interno, con una fase fija de OV17 2% sobre Chromosorb W (malla 100-120) como soporte.

Se utilizó  $N_2$  como gas transportador y un detector de ionización con llama de hidrógeno.

El aparato consta de un integrador automático de datos.

Para la inyección de las muestras se utilizó una jeringa Hamilton de 10 microlitros.

## Condiciones de la corrida

- Flujo de  $N_2$  30 ml/min
- Flujo de  $H_2$  30 ml/min
- Flujo de aire 60 ml/min
- Temperatura del inyector: 325°C
- Temperatura del detector: 325°C
- Temperatura del horno: Programada para aumentar de 150 a 300°C a una velocidad de 6°C/min.
- Volumen de inyección = 1 microlitro

### 3.5. Análisis de la descomposición de péptidos por cromatografía en capa delgada

La cromatografía en placa delgada generalmente se aconseja para separar sustancias lipofílicas y para los compuestos hidrofílicos, como aminoácidos o péptidos, se sugiere desarrollar cromatografía en papel.

Sin embargo, la sílica gel o la celulosa pueden contener un considerable contenido de agua y de esta forma son soportes también adecuados para éstos últimos (Stahl, 1965). Como hay una similitud básica entre ambos métodos, se pueden utilizar los solventes, reveladores y métodos de preparación de muestras que se publicaron para cromatografía en papel.

Se probaron ambas técnicas, utilizando papel Whatman N° 1 en el caso de cromatografía en papel y sílica gel G analítica de 250  $\mu\text{m}$  de porosidad, comprobándose que por este segundo método se obtenía menor difusión de las muestras sembradas, lo que redundaba en una mayor nitidez, además de requerir menor tiempo, con lo que se decidió adoptar la técnica de cromatografía en capa delgada.

Para muchos de los solventes normalmente usados en la cromatografía de aminoácidos (el más común butanol: acético:agua 4:1:1) glicina (y por lo tanto sus péptidos) dan valores de  $R_f$  muy bajos. Según se observa en los gráficos de Stahl (1965) donde se

muestra el valor de  $R_f$  vs distintos sistemas de solventes, los que dan  $R_f$  más altos para glicina son etanol-agua 70:30 y, n-propanol-hidróxido de amonio 34% 70:30. De ellos se eligió el primero porque daba mejor resolución.

Se sembró 1  $\mu$ l de cada muestra (5  $\mu$ g de glicina) y se colocaron las placas por aproximadamente 2 h en una cámara saturada con el solvente de desarrollo.

Para el revelado de los cromatogramas se utilizó una solución de ninhidrina al 0,2% en etanol (Patton y Chism, 1951).

Este es el agente revelador más común para aminoácidos y péptidos pequeños. La reacción se basa en la formación de un compuesto de color azul o violeta con la mayoría de los aminoácidos (excepto con prolina e hidroxiprolina que da amarillo).

La mínima cantidad requerida de glicina para la detección en la cromatografía en capa delgada es 0,001  $\mu$ g (Stahl, 1965).

Resumen de las condiciones de operación:

Adsorbente: Sílica Gel G de 250  $\mu$ m de porosidad, analítica  
(sobre soporte de vidrio) Merck Chemical Co.

Solvente de desarrollo: Etanol (Merck)-agua 70:30

Agente revelador: 0,2% Ninhidrina (BDH) en etanol

Materiales: Micropipeta de 1  $\mu$ l

Cámara de desarrollo de vidrio

Atomizador

### 3.6. Determinación de ácido sórbico

Para verificar el grado de destrucción de ácido sórbico durante el tratamiento térmico de los sistemas, se procedió a la determinación del mismo en algunas de las muestras.

Para su aislamiento se utilizó el método de destilación por arrastre con vapor, previa acidificación de la muestra, con lo que se desplaza el equilibrio hacia la forma no disociada del ácido que es volátil y se arrastra con el vapor generado en un balón.

Se destilaron 200 ml de cada muestra y se diluyeron con agua destilada.

La determinación colorimétrica se realizó con el método del ácido tiobarbitúrico, que forma un pigmento rojo en presencia de malonaldehído (producto de oxidación del ácido sórbico con  $K_2Cr_2O_7$ ).

El método de destilación por arrastre y el de la determinación colorimétrica están detallados en AOAC (1980).

La reproducibilidad del método fue determinada por Gerschenson y col. (1986) y oscila entre 5 y 7% para un nivel de confianza de 95%. Además estos autores descartaron la posibilidad de interferencias provenientes de la degradación de azúcares en la determinación de ácido sórbico, en sistemas de concentración de azúcares más elevadas que las de este trabajo.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSION

##### 4.1. Cinética de la formación de color por reacciones de caramelización de diferentes azúcares

Como informaron Petriella y col. (1985) la saturación métrica ( $s_{uv}$ ) es una función de color adecuada para describir los cambios de color durante el pardeamiento no enzimático. La saturación métrica fue calculada según la siguiente ecuación:

$$s_{uv} = 13[(u' - u_0)^2 + (v' - v_0)^2]^{\frac{1}{2}}$$

donde:

$$u' = \frac{4X}{X + 15Y + 3Z}$$

$$v' = \frac{9Y}{X + 15Y + 3Z}$$

Como valores de referencia  $u_0$  y  $v_0$  se utilizaron los correspondientes al tiempo cero que representa el punto acromático (Lozano, 1978).

La Figura 5 muestra un gráfico de  $s_{uv}$  como función del tiempo de calentamiento a 55°C para las soluciones de distintos



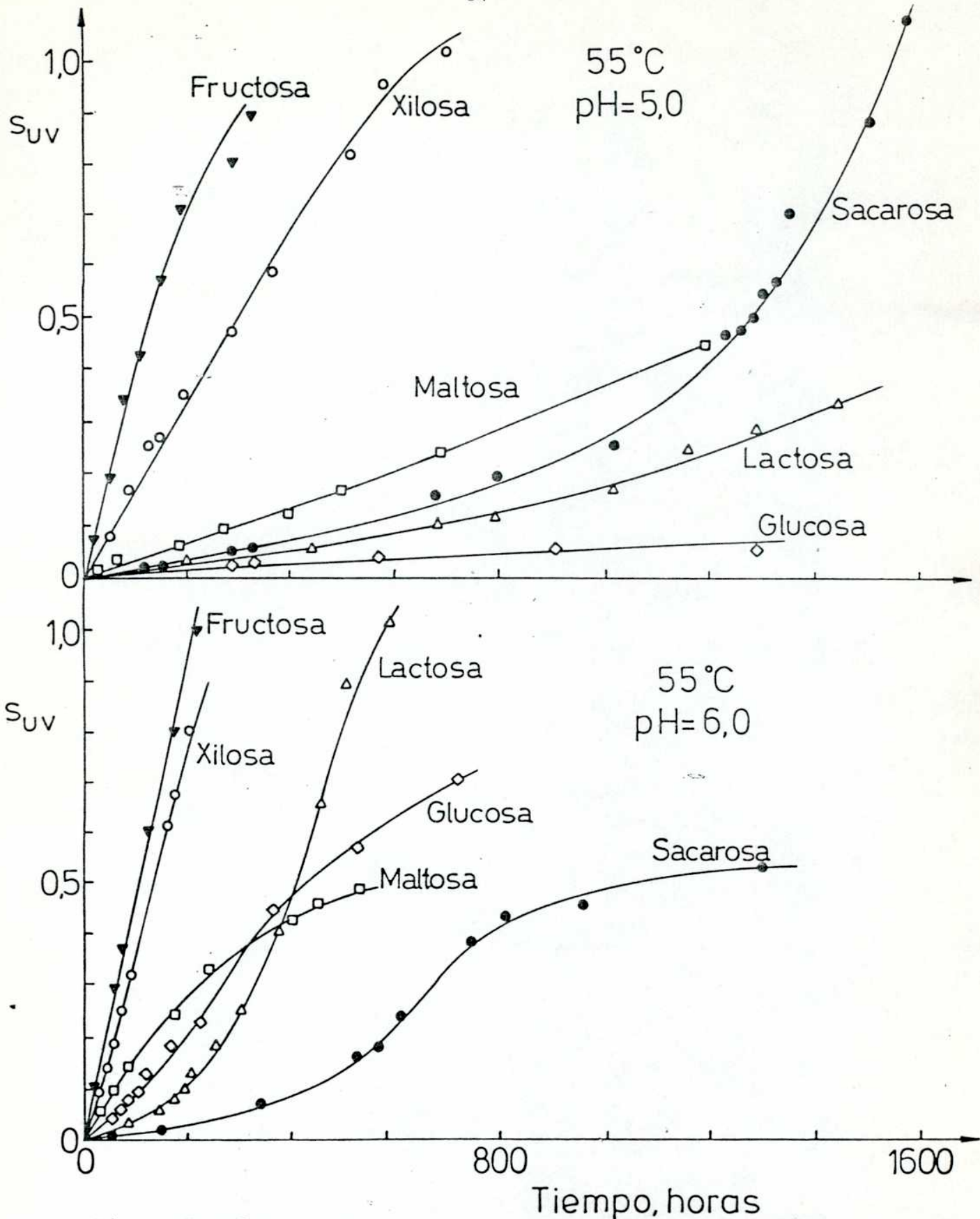


Figura 5: Efecto del tiempo de tratamiento a 55°C sobre el desarrollo de color para varias soluciones de azúcares de  $a_w = 0,90$ , a pH = 5 o pH = 6

azúcares. Puede observarse que tanto a pH = 5 como pH = 6 fructosa y xilosa muestran la mayor velocidad de desarrollo de color. Por ejemplo, a pH = 5 una solución de fructosa alcanza un valor de  $s_{uv}$  de 0,3, que corresponde a una coloración amarillo-parda, luego de 85 h de calentamiento, mientras sacarosa necesita 1050 h para alcanzar el mismo color. Todos los azúcares se pardearon más rápido a pH = 6 que a pH = 5, aunque este aumento de velocidad fue relativamente más importante para glucosa, maltosa y lactosa que para el resto de los azúcares. En este aspecto, el comportamiento de glucosa es notable: a pH = 5 la formación de color es despreciable, pero aumenta sensiblemente a pH = 6.

En la fotografía de la Figura 6 se observa la diferente velocidad de pardeamiento que presentan las soluciones de fructosa y xilosa, según lo visto en la Figura 5. Para el mismo tiempo de tratamiento térmico, las soluciones que contienen fructosa muestran un mayor grado de pardeamiento. Esta fotografía sirve para orientar sobre los colores que corresponden a los distintos puntos de la escala de valores de  $s_{uv}$  sobre la cual se trabaja.

#### 4.1.1. Modelos cinéticos propuestos

El comportamiento de las funciones de color en función del tiempo de tratamiento térmico se caracteriza por presentar tres fases: una inicial, en que el crecimiento es lento o casi impercep-

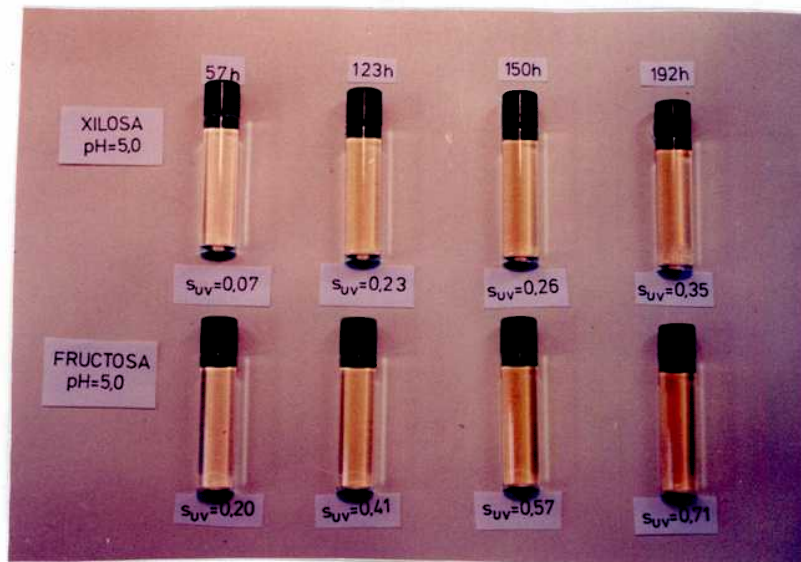


Figura 6: Aspecto que presentan las soluciones de xilosa y fructosa de pH = 5, tratadas por distintos períodos de tiempo a 55°C

tible, luego una fase lineal, en que se puede suponer que el color aumenta linealmente en función del tiempo, y otra final en que la velocidad de formación de color disminuye apreciablemente. (Petriella, 1983).

En la Figura 5 se puede observar este comportamiento para el sistema que contenía sacarosa a pH = 6, en que se pueden delimitar bien las tres zonas. En el resto de los sistemas no se alcanzó la fase final, y en algunos la fase inicial fue apreciablemente corta (fructosa, xilosa).

A pesar de que para la reacción de Maillard hay muchos estudios realizados y se dispone de datos sobre la misma existen pocas referencias bibliográficas sobre la reacción de caramelización a temperaturas moderadas, y menos aún sobre su cinética.

Shallenberger y Mattick (1983) siguieron el curso de la degradación de fructosa y glucosa tratadas a 100°C, mediante la cuantificación del 5-hidroximetilfurfural que se forma durante la reacción. Concluyeron que se trata de reacciones autocatalíticas de segundo orden y propusieron un modelo complejo, en el que le dieron expresión aritmética a cada una de las fases mencionadas anteriormente. Al segmento de curva inicial, lo caracterizaron por la expresión  $y = k t^2$ ; a la porción cuasi-lineal, le dieron la forma  $y = k \sqrt{t}$  y a la fase final en que la velocidad de formación de producto disminuye,  $y = k \sqrt[3]{t}$ .

Si bien este modelo podría describir la formación de color en función del tiempo, su aplicación no resulta de interés práctico ya que: a) la delimitación entre las distintas zonas no es nítida y los tiempos de iniciación de las mismas son variables para cada curva y b) el modelo supone la existencia de tres constantes para cada curva, y de esta forma los resultados pueden no ser fácilmente interpretados y es más difícil manejarlos cuantitativamente.

Varios autores concluyeron que el modelo más simple para la predicción matemática del pardeamiento debido a la reacción de Maillard es aquel de una reacción de orden cero (Mizrahi y col., 1970; Warmbier y col., 1976b; Labuza y Saltmarch, 1980). Un análisis de la Figura 5 sugiere que el pardeamiento por caramelización de fructosa, xilosa y también maltosa puede describirse mediante un modelo de orden cero. Sin embargo, para el resto de los azúcares esta aproximación describe los datos experimentales sólo después del período inicial, que es usualmente conocido en literatura como "período lag" y en algunos casos corresponde a un verdadero período lag, en el sentido que el desarrollo de color está ausente, pero en otros casos existe una cierta formación a velocidad creciente (Song y col., 1966).

Petriella y col. (1985) resolvieron en parte este problema proponiendo un modelo cinético de "orden mixto" para el sis-

tema glucosa-lisina en el cual la velocidad de formación de color está dada por:

$$\frac{ds_{uv}}{dt} = k s_{uv}^n \quad (1)$$

donde  $n$  es el orden de reacción.

Si se integra (1)

$$s_{uv} = [(1 - n) k t]^{1/(1-n)} \quad (\text{para } n \neq 1)$$

y

$$\log s_{uv} = \frac{1}{1-n} \log[(1-n) \cdot k] + \frac{1}{1-n} \log t$$

Graficando  $\log s_{uv}$  vs  $\log t$ , de la pendiente se puede obtener  $n$ .

Se halló que el orden de reacción  $n$  para el pardeamiento estaba entre 0 y 1. Puede considerarse que este orden fraccionario es el resultado de dos contribuciones independientes, una correspondiente a reacción de orden cero y otra correspondiente a una reacción de orden uno.

De acuerdo con la ecuación (1)

$$\text{Para } n = 0 \quad \frac{ds_{uv}}{dt} = k_0 \quad (2)$$

///

$$\text{Para } n = 1 \quad \frac{ds_{uv}}{dt} = k_1 (s_{uv}) \quad (3)$$

Petriella y col. (1985) propusieron que la velocidad de formación de color puede ser descripta por:

$$\frac{1}{ds_{uv}/dt} = \frac{1}{ds_{uv}/dt} \Big|_{n=0} + \frac{1}{ds_{uv}/dt} \Big|_{n=1} \quad (4)$$

Reemplazando (2) y (3) en (4),

$$\frac{1}{ds_{uv}/dt} = \frac{1}{k_0} + \frac{1}{k_1 s_{uv}} \quad (5)$$

Para encontrar una ecuación que permita representar matemáticamente el comportamiento de los datos experimentales, la ecuación (5) se reordenó de la siguiente manera:

$$\frac{dt}{ds_{uv}} = \frac{1}{k_0} + \frac{1}{k_1 s_{uv}} \quad (6)$$

La ecuación (6) puede integrarse para dar:

$$t = \frac{1}{k_0} s_{uv} + \frac{1}{k_1} \ln (s_{uv}) + c \quad (7)$$

///

Luego de evaluar la constante de integración  $c$ , se obtuvo:

$$t = \frac{1}{k_0}(s_{uv} - 0,005) + \frac{1}{k_1} \ln \frac{s_{uv}}{0,005} \quad (8)$$

Para  $t = 0$ , la ecuación (8) da un valor de  $s_{uv} = 0,005$  que es diferente de cero (que es el valor experimental), pero es cercano al mismo, ya que es un orden de magnitud menor que el error experimental en la medición de  $s_{uv}$ .

Los parámetros  $k_0$  y  $k_1$  fueron determinados por medio de un programa de computación que minimiza:

$$\emptyset = \sum_{i=1}^N [t_{\text{exp.}} - t_{\text{pred.}}]^2 \quad (9)$$

donde:

$t_{\text{exp.}}$  : valor de tiempo experimental

$t_{\text{pred.}}$  : valor de tiempo predicho

Para estimar la bondad del ajuste la desviación media relativa porcentual (DR) fue calculada según:

$$DR = \left[ \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|t_{\text{exp.}} - t_{\text{pred.}}|}{t_{\text{exp.}}} \right] \quad (10)$$

///



Donde:  $N$  = número de datos

Para las soluciones de fructosa, xilosa o maltosa el orden de reacción fue directamente considerado como cero, según sugería la linealidad de los datos mostrados en la Figura 1.

Entonces los datos experimentales fueron ajustados por:

$$s_{uv} = k_0 t \quad (11)$$

en cuyo caso la desviación relativa está definida:

$$DR = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|s_{uv \text{ exp.}} - s_{uv \text{ pred.}}|}{s_{uv \text{ exp.}}} \quad (12)$$

donde:

$s_{uv \text{ pred.}}$  : valor de saturación predicho

$s_{uv \text{ exp.}}$  : valor de saturación experimental

Para las soluciones de glucosa, lactosa o sacarosa el orden de reacción era distinto de cero y se usó el modelo de orden mixto.

La Figura 7 muestra la aplicación de las ecuaciones (8) y (11) para ajustar los datos de desarrollo de color durante el pardeamiento debido a las reacciones de caramelización de varios azúca-

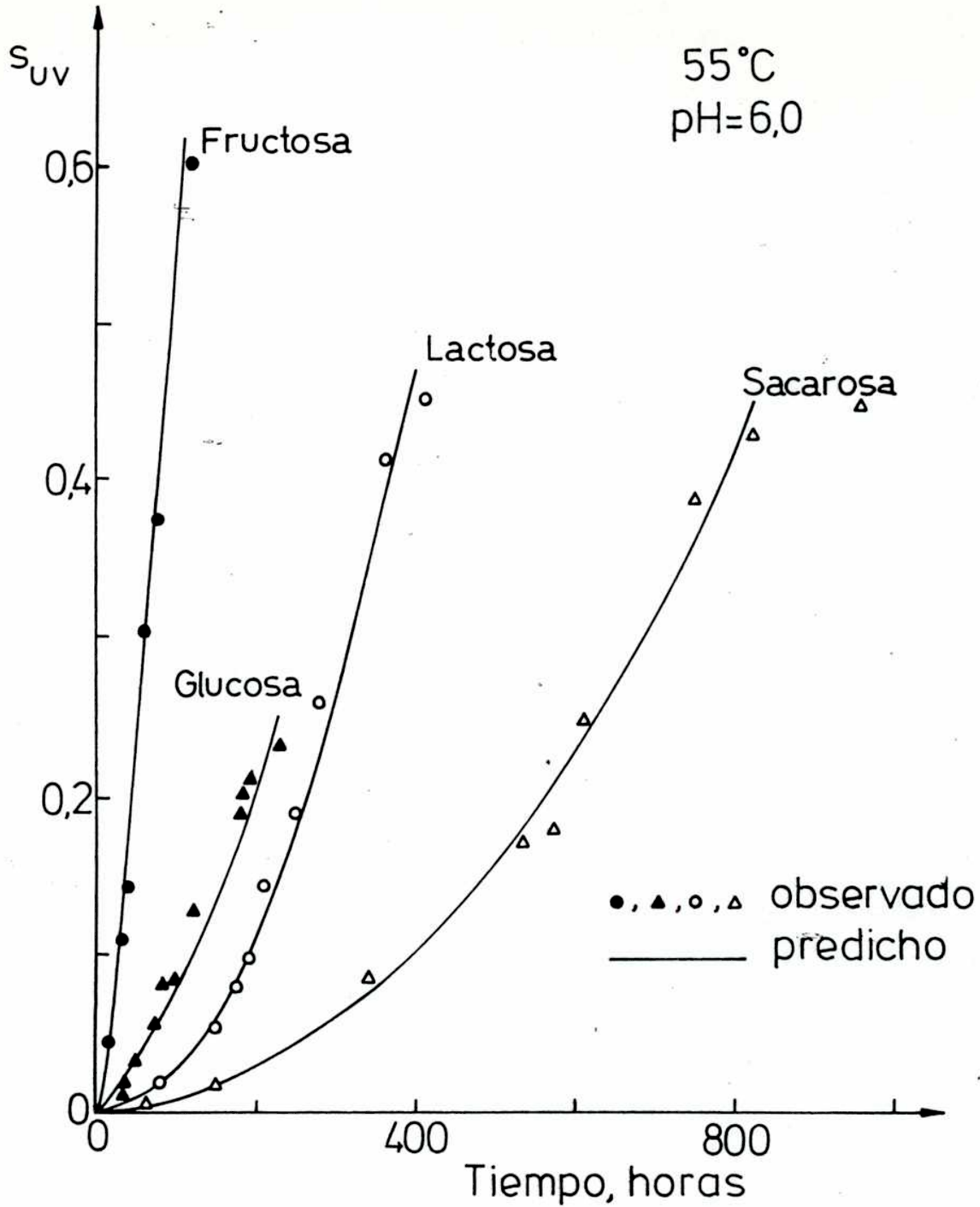


Figura 7: Comparación entre los valores experimentales y predichos, para la formación de color en soluciones de azúcares de  $a_w = 0,90$  y  $pH = 6$ , a  $55^\circ C$

res a 55°C. Puede verse que los modelos cinéticos ajustan bien los datos en la región de interés práctico. En el caso de glucosa, lactosa, maltosa y sacarosa los datos se desvían de la predicción para largos períodos de tratamiento.

Fueron calculadas las constantes de velocidad  $k_0$  y  $k_1$  para el desarrollo de color en soluciones de varios azúcares simples a varios pH y calentadas a varias temperaturas. La desviación relativa porcentual DR (ecuación (10)) estuvo entre el 4 y el 10% y para los sistemas en que se utilizó el modelo lineal, DR (ec. (12)) fue en general mayor.

En la Tabla 2 están incluidos los valores de  $k_0$  y  $k_1$  para los distintos sistemas, junto con la DR.

#### 4.1.2. Efecto de la temperatura

Las constantes de velocidad  $k_0$  y  $k_1$  a pH 6 se graficaron en escala semilogarítmica en función de la inversa de la temperatura absoluta ( $1/T$ ), de acuerdo con la ecuación de Arrhenius (sección 2.2.1.)

$$k = c e^{-E_a/RT}$$

$$\ln k = \ln c - \frac{E_a}{RT} \quad (13)$$

///

Tabla 2

Constantes de velocidad (ecuación (8)) y orden de reacción (obtenido por integración de la ecuación (1)) para el desarrollo de color de las soluciones de azúcar de  $a_w = 0,90$

Azúcar	pH	T (°C)	n	$k_0 \times 10^3$ (un.s <sub>UV</sub> /h)	$k_1 \times 10^3$ (h <sup>-1</sup> )	DR <sup>(a)</sup> %
Glucosa	4	55	0,47	0,057	0,70	4,3
	5	55	0,43	0,084	1,6	6,5
	6	55	0,35	1,5	64,6	13,0
	6	45	0,44	0,020	1,7	12,0
	6	65	0,48	10,2	99,9	3,2
Fructosa <sup>(b)</sup>	4	55	0	1,13	---	8,8
	5	55	0	3,6	---	9,7
	6	55	0	5,4	---	13,0
	6	45	0	1,8	---	10,0
	6	65	0	17		13,0
	6	50	0	2,4	---	10,0
Sacarosa	4	55	0,54	0,82	4,7	4,4
	5	55	0,55	1,5	5,2	7,3
	6	55	0,49	1,4	8,9	12,0
	6	45	0,39	0,042	0,55	5,1
	6	65	0,25	3,6	120	11,7

Tabla 2 (continuación)

Xilosa <sup>(b)</sup>	5	55	0	1,57		6,2
	6	55	0	4,8		8,3
	6	45	0	1,18		8,6
	6	65	0	18,7		5,1
Maltosa <sup>(b)</sup>	5	55	0	0,36		11,0
	6	55	0	1,3		20,2
	6	45	0	0,31		12,1
	6	65	0	13		10,0
Lactosa	5	55	0,50	0,35	7,4	5,8
	6	55	0,53	2,6	20	9
	6	45	0,53	0,54	2,1	12
	6	65	0,13	12,0	196	3,7

(a) Desviación relativa del ajuste

(b) Se asumió orden de reacción cero

La Figura 8 muestra el comportamiento para algunos de los azúcares. Excepto para los sistemas que contenían glucosa o sacarosa, las constantes  $k_0$  (y  $k_1$ , para lactosa) cumplen con la relación de Arrhenius.

La Tabla 3 muestra las energías de activación ( $E_a$ ) halladas para las constantes  $k_0$ , calculadas por análisis de regresión lineal, junto con los coeficientes de correlación correspondientes.

Puede observarse que las energías de activación de los monosacáridos fructosa y xilosa están en el rango 105-125 KJ/mol (25-30 Kcal/mol), mientras que para los disacáridos lactosa y maltosa, son algo más elevadas (150-170 KJ/mol) (36-41 Kcal/mol).

El hecho de que para los disacáridos las energías de activación calculadas sean mayores que para los monosacáridos puede atribuirse a que por ser moléculas más grandes tengan que atravesar una barrera superior de energía para reaccionar.

Se observó que las constantes  $k_0$  y  $k_1$  para glucosa y  $k_0$  para sacarosa no se alinean al representar la ecuación de Arrhenius. Además Cantor y Peniston (1940) estudiaron el equilibrio de la forma piranosa a la forma aldehído a través de mediciones polarimétricas para glucosa a pH = 6,95 y a concentraciones 0,25 M y 0,50 M en glucosa y obtuvieron que no había una correspondencia lineal entre el logaritmo de la constante de ese equilibrio y la inversa de la temperatura absoluta, y por lo tanto no calcularon la energía

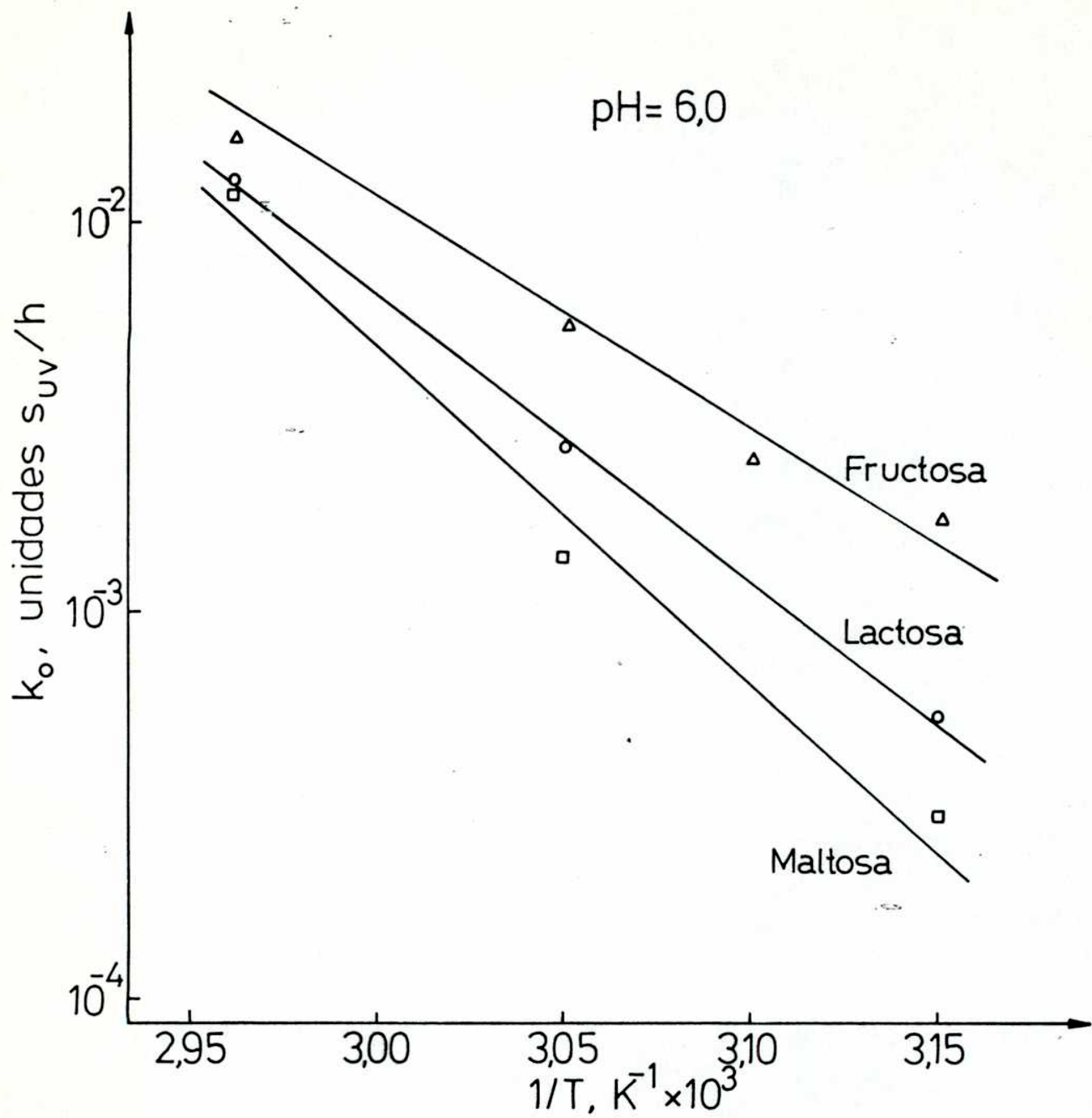


Figura 8: Representación de la ecuación de Arrhenius para el desarrollo de color en soluciones de varios azúcares de  $a_w = 0,90$

Tabla 3

Energías de activación para el desarrollo de color en soluciones de azúcar tratadas térmicamente ( $a_w = 0,90$ ; pH = 6)

Azúcar	Energía de activación			(KJ/mol)
	Para $k_0$	$r^2$ (2)	Para $k_1$	
Fructosa	103,8	0,989		
Xilosa	123,8	0,999		---
Glucosa	(1)		(1)	
Lactosa	147,7	0,999	202,5	0,949
Maltosa	168,2	0,989		
Sacarosa	(1)		240,9	0,999

(1) Las energías de activación no fueron evaluadas porque los datos se desviaban mucho de la ecuación de Arrhenius.

(2) Coeficientes de correlación para la ecuación de Arrhenius.



de activación de esta reacción.

Por lo tanto si en esta etapa inicial no fue posible para los mencionados autores aplicar la ecuación de Arrhenius, para la reacción de formación de color en sistemas que contengan glucosa (o sacarosa, a partir de la cual se obtiene glucosa por hidrólisis), no era de esperar el cumplimiento de dicha ecuación ya que la reacción global es aún más compleja. A pesar de esto, si se comparan las constantes de velocidad para las distintas temperaturas, se observa que tanto para glucosa como para sacarosa la dependencia con la temperatura es mayor que para los otros azúcares. Por ejemplo, al aumentar de 55 a 65°C la constante de velocidad  $k_0$  para glucosa (a pH = 6) aumenta siete veces, mientras que para xilosa y fructosa aumenta cuatro veces en las mismas condiciones.

#### 4.1.3. Efecto del pH

Las Figuras 9 y 10 muestran el efecto del pH sobre las constantes de velocidad  $k_0$  y  $k_1$ ; puede verse que a excepción de sacarosa (que se discutirá aparte), el aumento de pH en el rango entre 4 y 6 produce un notable aumento en las constantes de velocidad ( $k_0$  o  $k_1$ ) tanto para los monosacáridos como para los disacáridos.

En la Tabla 4 están resumidos los resultados de diversos

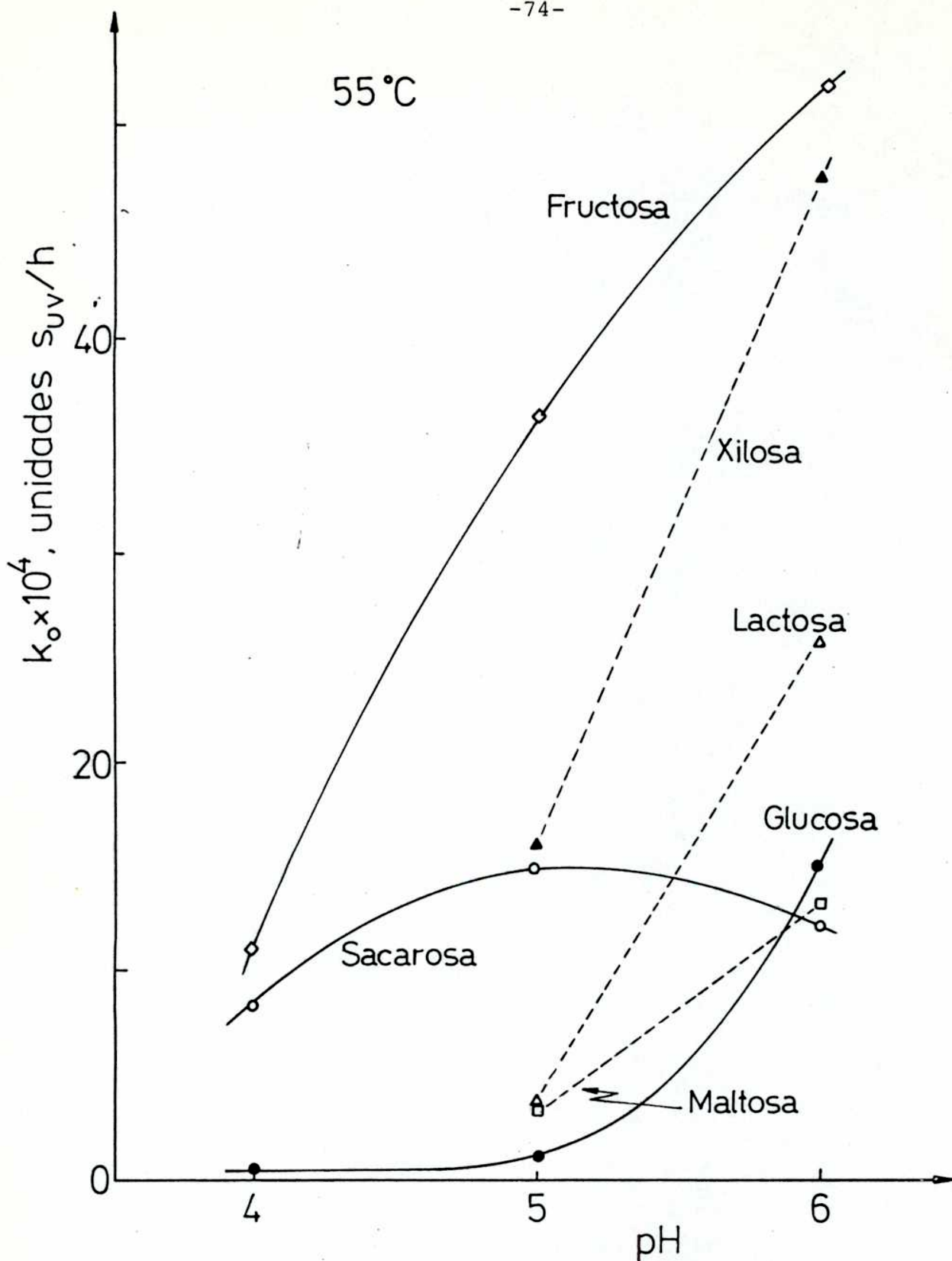


Figura 9: Efecto del pH sobre las constantes  $k_0$  para soluciones de azúcares de  $a_w = 0,90$

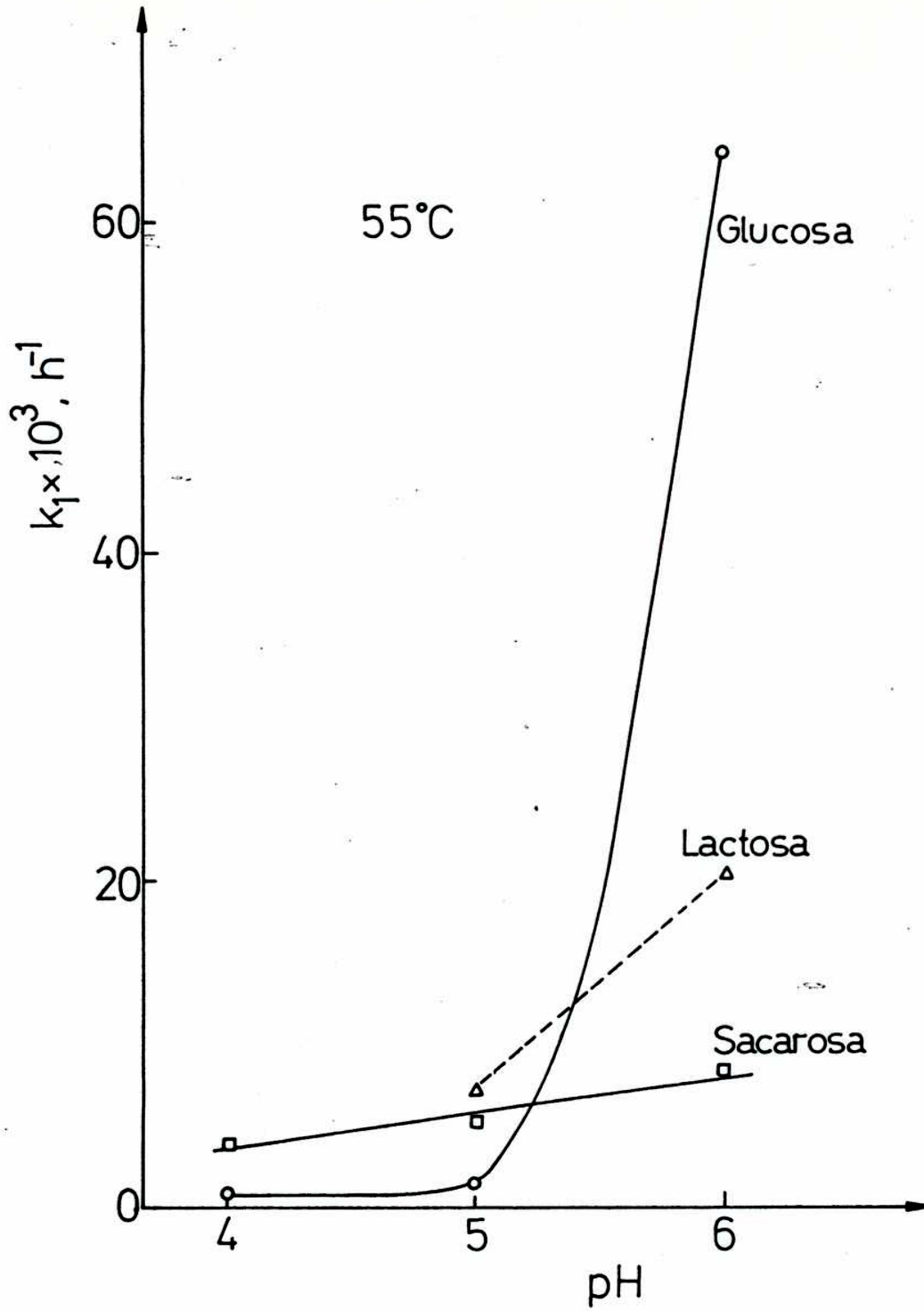


Figura 10: Efecto del pH sobre las constantes  $k_1$  para soluciones de azúcares de  $a_w = 0,90$

Tabla 4

Reactividad relativa de diferentes azúcares en reacciones involucradas en la caramelización (Referidas a glucosa = 1)

Azúcar	Método de seguimiento de la reacción	pH	Buffer	Conc. de azúcar	$a_w$	T(°C)	Reactividad relativa	Referencia*
	Formación de reductonas	6.5	--	0,25M	0,99	80	1,5	Kito y col., 1981
	Incorporación de FRUCTOSA tritio	11	$\text{CO}_3^-$	0,5M	0,96	25°C	10,7	Isbell y col., 1969
	HMF	1-6		0,17M	0,99	100°C	40-5	Shallenberger y Mattick, 1983
	Des. de color	4-6	$\text{PO}_4^-$	0,35M	0,90	45-65°C	2-90	Este trabajo
	Destrucción de azúcar.	6		0,56M	0,96	171	40	McGinnis y col., 1984
XILOSA	Abs. a 500 nm	5,5	$\text{Aco}^-$	0,5M	0,97	95	2	Rooney y col., 1967
	Incorporación de tritio	11	$\text{CO}_3^-$	0,5M	0,96	25	7	Isbell y col., 1969

Tabla 4 (continuación)

	Forma acíclica	3,7	0,25M	0,99	25	1,8	Stepanenko
	Forma acíclica	6,5	0,25M	0,99	25	6,3	Y. Serdyus, 1950 Cantor y Peniston, 1940
XILOSA	Forma acíclica	7	0,25M	0,99	20	7,1	Traitteur, 1951
	Mutorrotación	7	0,25M	0,99	20	3,3	Traitteur, 1951
	Formación de melanoidinas	7	0,25	0,99	20	5,5	Traitteur, 1951
	Des. de color	5-6	$\overline{PO_4} 0,35M$	0,90	45-65	2-60	Este trabajo
	Formación de reductonas	6,5	--	0,25M	80	1,1	Kito y col., 1981
SACAROSA	Abs. a 490 nm	6	0,12M	0,95	40-50	1	Burton y col., 1963
	Incorporación de tritio	4-6	$\overline{PO_4} 0,35M$	0,90	45-65	0,3-18	Este trabajo

Tabla 4 (continuación)

Abs. a 500 nm	5,5 Aco <sup>-</sup> 0,5M	0,2 M	0,97	90	0,2	Rooney y col., 1967
Incorporación de	11 CO <sub>3</sub> <sup>=</sup> 0,5M	0,2 M	0,96	25	2,4	Isbell y col., 1969
MALTOSA tritio						
Forma acíclica	3,7	0,25M	0,97	25	0,5	Stepanenko y Serdyus, 1950
Des. de color	5-6 PO <sub>4</sub> <sup>=</sup> 0,35M	0,27M	0,90	45-65	1-15	Este trabajo
Incorporación de	11 CO <sub>3</sub> <sup>=</sup> 0,5 M	0,2 M	0,96	25	2	Isbell y col., 1969
LACTOSA tritio						
Forma acíclica	3,7	0,25M	0,97	25	0,42	Stepanenko y Serdyus, 1950
Des. de color	5-6 PO <sub>4</sub> <sup>=</sup> 0,35M	0,27M	0,90	45-65	1-28	Este trabajo

\* Ver sección 2.3.

Abs.= absorbancia

trabajos hallados en bibliografía, en los que se desarrollan reacciones involucradas en la caramelización. Para normalizar los resultados para diferentes métodos y condiciones experimentales, las constantes de velocidad fueron referidas a la correspondiente a glucosa. Se calcularon las  $a_w$  de los sistemas de acuerdo con su composición utilizando la ecuación de Ross (1975). Se observa que los valores de velocidades relativas hallados en el presente trabajo caen dentro del rango de los obtenidos por los distintos autores. Se puede observar que, excepto en el caso de sacarosa, que se discutirá en la próxima sección las velocidades relativas son mayores que 1, lo que indica que los azúcares comparados son más reactivos que glucosa a cualquier pH estudiado.

El primer cambio estructural necesario para comenzar la compleja serie de reacciones que llevan a la caramelización, es la apertura del anillo hemiacetalico. La D-glucosa y la D-xilosa tienen una conformación piranósica más estable que D-fructosa (Hodge y Osman, 1976). En este trabajo (Figs. 9 y 10), con condiciones de pH y  $a_w$  constantes, la estabilidad de la conformación piranósica puede explicar la menor velocidad de desarrollo de color de D-xilosa y D-glucosa comparada con D-fructosa. Por otro lado, D-xilosa tiene la misma configuración que D-glucosa, pero tiene un mayor porcentaje de forma aldehído acíclica que la D-glucosa (Overend y col., 1961; Cantor y Peniston, 1940), y esto está de

acuerdo con que el aumento de color sea más rápido en las soluciones de xilosa que en las de glucosa. Las velocidades comparativas de desarrollo de color durante la caramelización de azúcares reductores (Figs. 9 y 10) fue, en orden decreciente: fructosa > xilosa > lactosa > maltosa > glucosa.

Este ordenamiento es en general paralelo al de la velocidad de las reacciones involucradas en los primeros pasos de la caramelización: mutarrotación (Traitteur, 1951); apertura del anillo hemiacetálico (Stepanenko y Serdyus, 1950) y enolización (Isbell, 1969). El efecto del pH sobre estas reacciones está también reflejado en la velocidad de pardeamiento; la velocidad de la transformación de la forma cíclica a la forma abierta aumenta rápidamente con el pH debido a que el enlace entre el oxígeno y el hidrógeno en el carbono C<sub>1</sub> es débilmente iónico y se debilita a medida que el pH aumenta (Delahay y Strassner, 1952). Kröner y Kotha (1939) y Mathews y Jackson (1933) hallaron que el pH de óptima estabilidad para glucosa y fructosa, respectivamente, era cercano a 3 para ambos azúcares.

Como se ve en las Figuras 9 y 10, el efecto del pH en la velocidad de pardeamiento ( $k_0$ ,  $k_1$ ) para las soluciones de sacarosa es notablemente distinto del hallado para los otros azúcares. Esto es atribuible a la hidrólisis de sacarosa catalizada por ácidos, a partir de la cual se forman fructosa y glucosa (sección



4.1.4.)

#### 4.1.4. Hidrólisis de sacarosa durante la caramelización

La Figura 11 muestra los cromatogramas de dos muestras de pH 4 y 6, tratadas térmicamente a 55°C durante 506 y 530 horas, respectivamente. Como se observa, mientras que para la muestra de pH = 4 se produjo la hidrólisis casi completa, para la muestra de pH = 6 queda la mayor parte de sacarosa sin hidrolizar, comparando la intensidad relativa de los picos correspondientes.

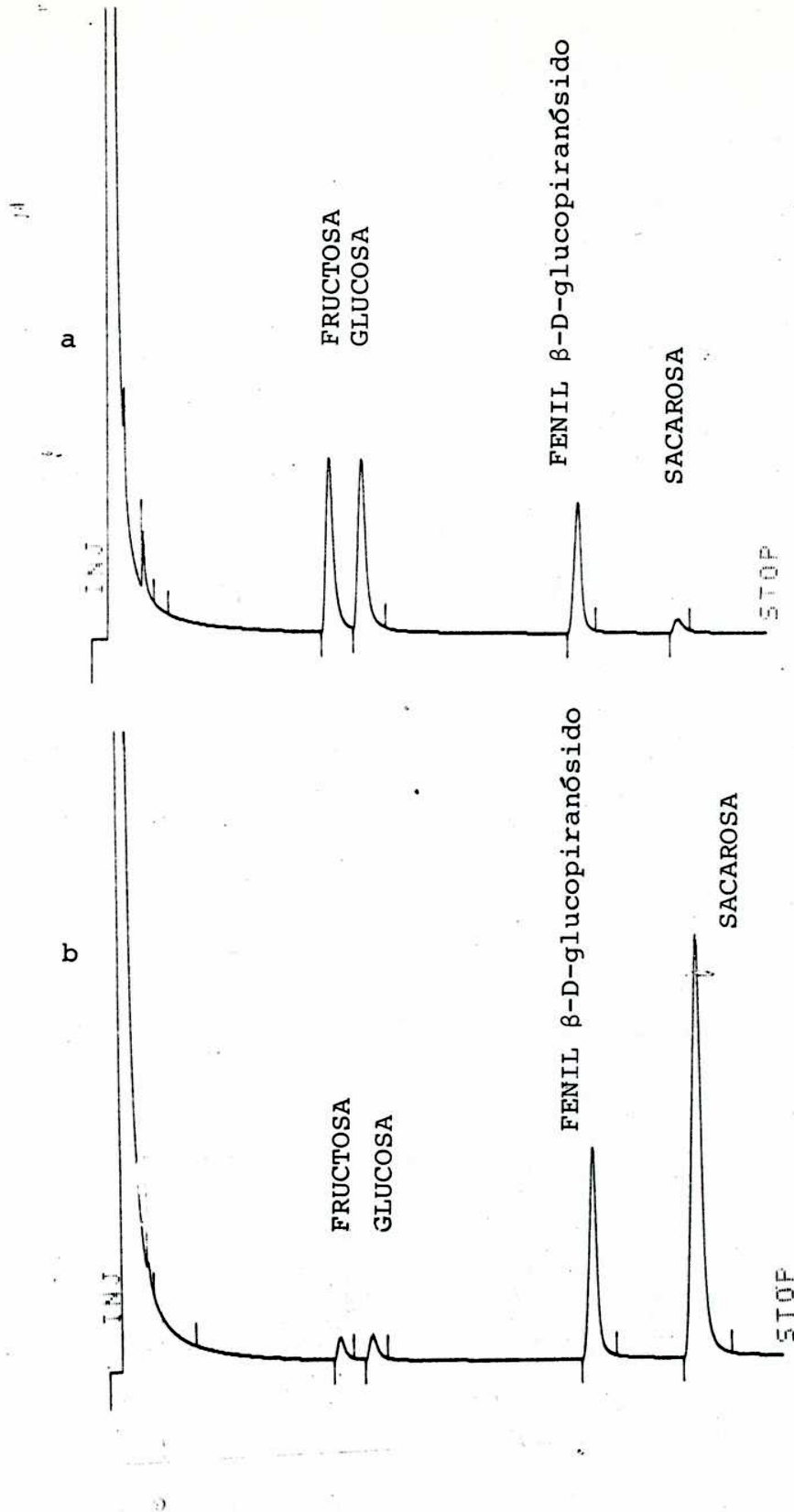
La Figura 12 muestra la aparición de fructosa y glucosa paralela a la reducción de la concentración de sacarosa, a lo largo del curso de la reacción, a 55°C, a pH = 4 y pH = 6.

Vukov(1965) estudió la hidrólisis de sacarosa en agua y observó que esta reacción podía ser descripta por una cinética de primer orden.

Según los resultados obtenidos en este trabajo, se pudo comprobar que en estas soluciones "buffer" de  $a_w$  controlada, se cumplió un comportamiento similar, dado por:

$$\ln \frac{S_0}{S} = k_H t \quad (14)$$

Donde  $S_0$  es la concentración inicial de sacarosa,  $S$  es la concen-



**Figura 11:** Cromatogramas correspondientes a soluciones de sacarosa sometidas a tratamiento térmico (55°C).

a: pH = 4; tiempo de tratamiento = 506 h

b: pH = 6; tiempo de tratamiento = 530 h

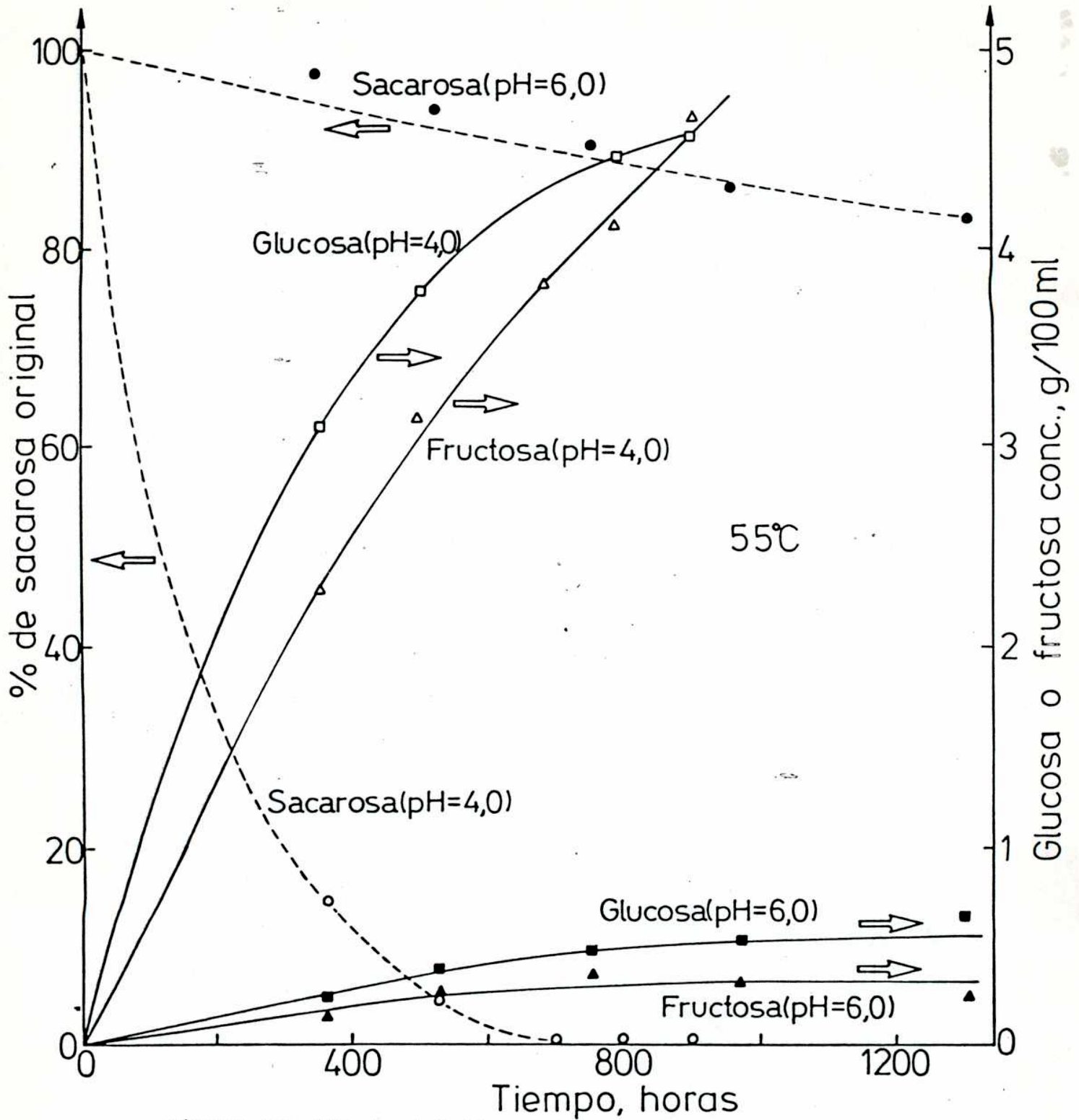


Figura 12: Efecto del tiempo de tratamiento a 55°C sobre la desaparición de sacarosa y aparición de glucosa y fructosa en muestras de pH = 4 o pH = 6

tración al tiempo  $t$  y  $k_H$  es la constante de velocidad para la reacción de hidrólisis.

La Figura 13 muestra los datos experimentales de las soluciones tratadas térmicamente, graficadas según la ecuación (14). Se obtienen líneas rectas y las pendientes de las mismas son las constantes de velocidad de primer orden, que aumentan cuando el pH disminuye de 6 a 4.

De esta forma, una reducción de pH produce dos efectos opuestos, que inciden en el desarrollo de color en las soluciones de sacarosa tratadas térmicamente. La generación de fructosa (producida por hidrólisis) facilita el desarrollo de color, pero al mismo tiempo la disminución de pH inhibe fuertemente el pardeamiento por caramelización.

La Figura 14 muestra la relación entre formación de color ( $s_{uv}$ ) y grado de hidrólisis en las soluciones de sacarosa de varios pH tratados a 55°C. A pH 6 un pequeño grado de hidrólisis es suficiente para producir una solución coloreada; a pH = 4 las soluciones están sólo débilmente coloreadas a pesar del sustancial grado de hidrólisis.

#### 4.2. Cinética de formación de color por la reacción de Maillard

La Figura 15 muestra un gráfico de  $s_{uv}$  en función del

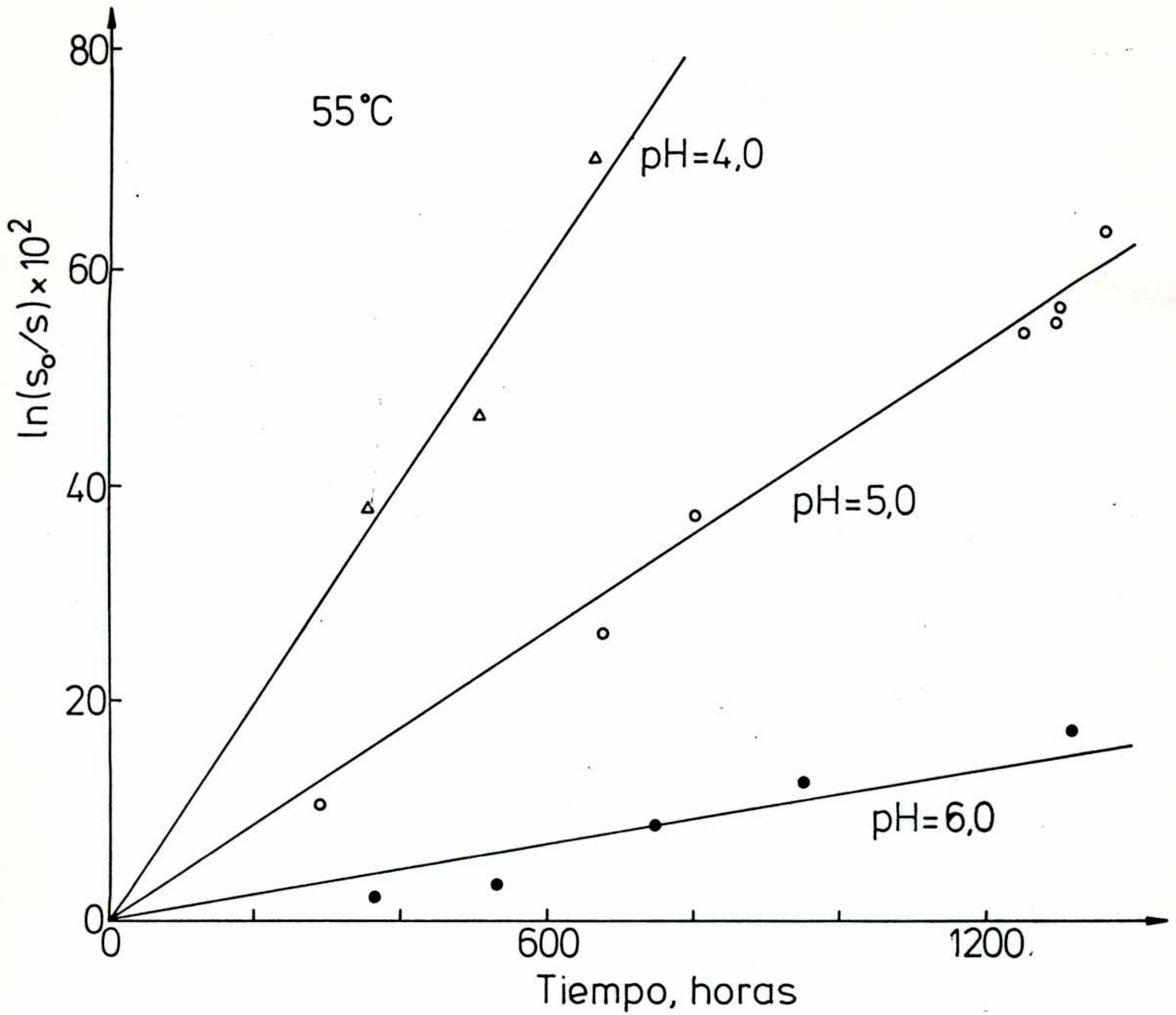


Figura 13: Representación de la cinética de orden uno para la hidrólisis de sacarosa en muestras de  $a_w = 0,90$  y de diferentes valores de pH tratadas a 55°C

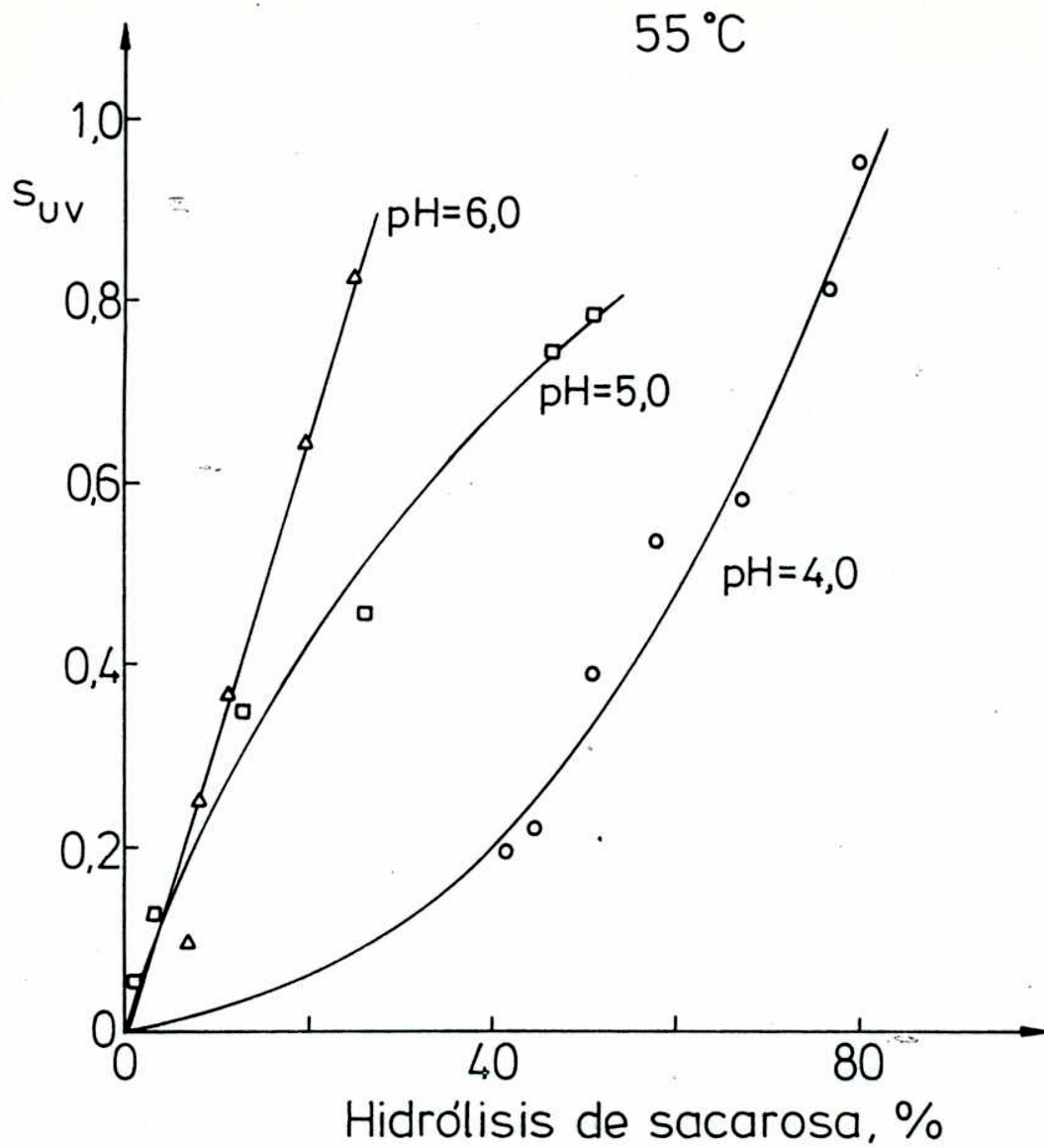


Figura 14: Desarrollo de color en función del porcentaje de hidrólisis de sacarosa  $\left(\frac{S_o - S}{S_o} \cdot 100\right)$  en muestras de  $a_w = 0,90$  tratadas a 55 °C, a diferentes pH.

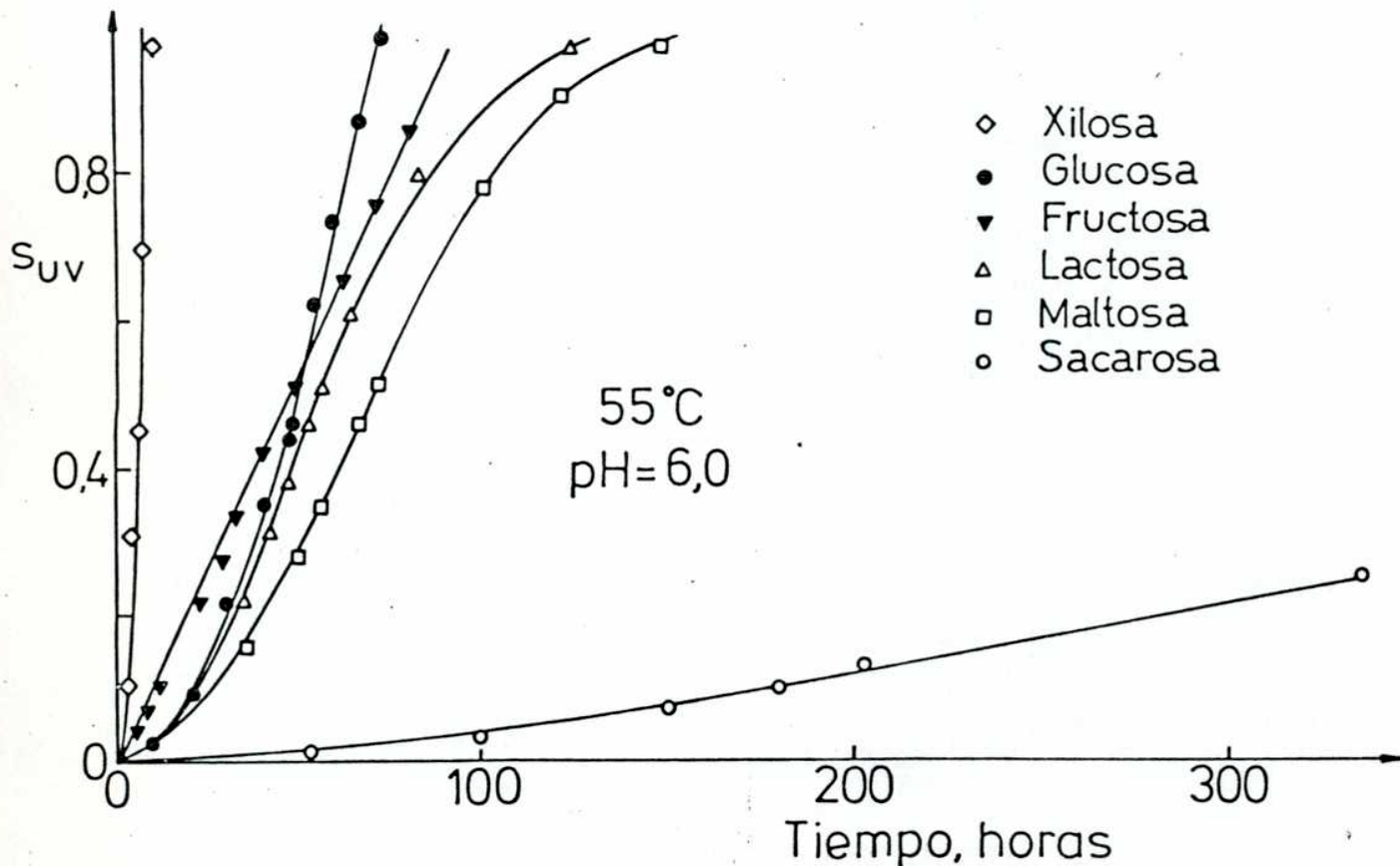
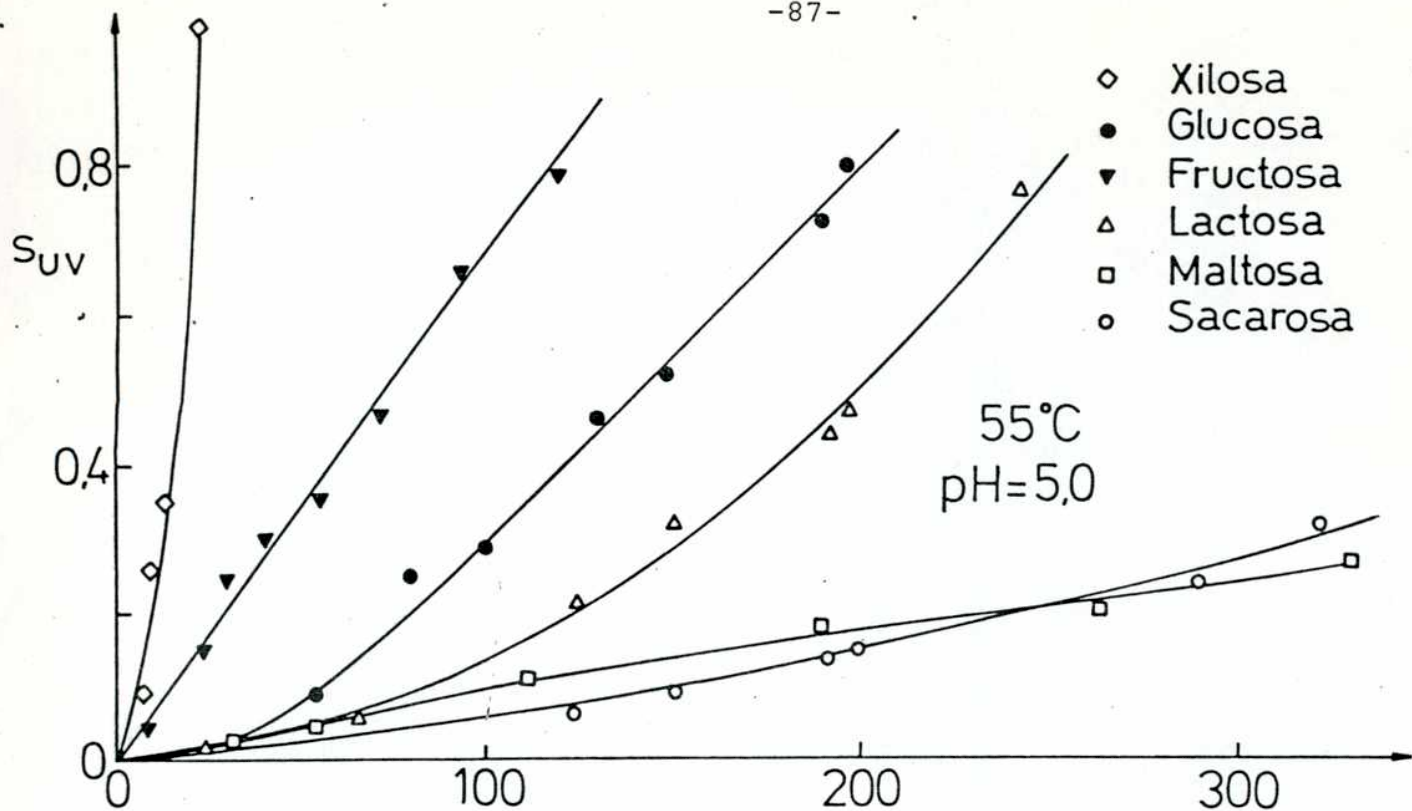


Figura 15: Efecto del tiempo de tratamiento a 55°C sobre el desarrollo de color para varias soluciones de azúcares y glicina, a pH = 5 o pH = 6

tiempo de tratamiento a 55°C para las diferentes soluciones de azúcar-glicina, a pH = 5 y a pH = 6. A ambos pH las soluciones de xilosa-glicina tienen la más alta velocidad de desarrollo de color, mientras sacarosa muestra ser el azúcar menos reactivo, como se evidencia por la baja velocidad de pardeamiento.

A pH = 6 glucosa, fructosa, lactosa y maltosa muestran un comportamiento similar pero a pH = 5 hay una diferencia notable entre los distintos azúcares, ya que las velocidades de desarrollo de color están en orden decreciente: fructosa > glucosa > lactosa > sacarosa. En la fotografía de la Figura 16 se observa la diferente velocidad de pardeamiento de las soluciones de fructosa y glucosa a pH = 5. Como la de la Figura 6 orienta además sobre los colores correspondientes a la escala de  $s_{uv}$  que se utiliza.

Es interesante comparar las curvas de la Figura 15 con las mostradas en la sección 4.1. para las reacciones de caramelización, para los mismos azúcares, en idénticas condiciones de  $a_w$ , temperatura y pH. Por ejemplo, a pH = 6 una solución de glucosa tratada térmicamente a 55°C durante 50 horas tiene una  $s_{uv}$  de 0,05 (incolora) (Figura 5) pero en presencia de glicina, con el mismo tiempo de tratamiento desarrolla una  $s_{uv}$  de 0,6 (visiblemente pardeada) (Figura 15).

Como era de esperarse, la velocidad de desarrollo de color para las soluciones azúcar-glicina es mucho mayor que para los mis-





Figura 16: Aspecto que presentan las soluciones de glucosa o fructosa con glicina de pH = 5 tratadas a 55°C durante diferentes períodos de tiempo

mos azúcares calentados solos; sin embargo, la contribución relativa de la caramelización en la reacción de Maillard, parece depender del tipo de azúcar y además del pH, lo cual será posteriormente analizado.

Durante la caramelización la sacarosa era el azúcar menos reactivo a pH 6, pero a pH 5 pardea más rápido que lactosa y glucosa. Sin embargo, durante el pardeamiento debido a la reacción de Maillard, la sacarosa muestra la menor velocidad de formación de color tanto a pH = 6 como a pH = 5.

El sistema xilosa-glicina se pardeó más rápido que el resto de los azúcares (en presencia de glicina), pero en ausencia de aminoácidos era la fructosa la que generaba color con mayor velocidad.

#### 4.2.1. Modelos cinéticos propuestos

A diferencia de lo que ocurre con las reacciones de caramelización, la reacción de Maillard fue ampliamente estudiada bajo muy diversas condiciones, y se han propuesto una gran diversidad de modelos cinéticos.

Haugaard y col. (1951) obtuvieron que la absorbancia (490 nm) era proporcional al cuadrado del tiempo en sistemas formados por glucosa (0,5-1M)-glicina (0,2-0,4M) a pH 6,1 tratados

térmicamente a 100°C, de manera que la expresión aritmética del pardeamiento (y) en función del tiempo t estaría dada por:

$$y = k t^2$$

donde k es una constante.

Pero la mayoría de los autores obtienen que sus datos se ajustan a cinéticas de orden cero, en que

$$y = k_0 t$$

o a cinéticas de orden uno, en cuyo caso

$$\ln y = k_1 t$$

En la Tabla 5 se resumen los resultados hallados por diversos autores y las condiciones en las que trabajaron.

Como se dijo anteriormente la curva de desarrollo de pardeamiento en función del tiempo presenta un período de inducción inicialmente que no es fácilmente determinable. Por esta razón la mayoría de los autores no tienen en cuenta este primer tramo de las curvas y trabajan con la fase de crecimiento lineal, semejando una cinética de orden cero a partir de la finalización del tiempo lag (Labuza y Saltmarch, 1980).

Si se observa la Figura 15 se puede inferir que el pardeamiento de la solución de fructosa debido a la reacción de Maillard puede ser descrito por un modelo de reacción de orden cero.

Tabla 5

Modelos cinéticos propuestos para la reacción de Maillard

Sistema	pH	T(°C)	Método de seguimiento de la reacción	Orden de reacción	$E_a$ (KJ/mol)	Referencia
Xilosa (0,25M)	1,7-9,7	65-100	Abs. a 490 nm	0	84,5	Wolfrom y col., 1953
Glicina (0,25M)						
Glucosa (1M)	5,5	53-99	Abs. a 490 nm	0	109,2	Song y col., 1966
Glicina (0,25M)						
Glucosa (0,27M)	5-7	35-55	Color	0	110,9-149,4	Petriella,1983
Lisina (0,067M)						
Glucosa 8M	3,5	50	Intermediario	1	108,8	Reynolds, 1963
Glicina 1M						
Varios azúcares	6,2y2,2	47y57	Abs. a 450 nm	1	104,6	Bobbio y col., 1973
(1,25 M)						
Glicina (0,66M)						

Tabla 5 (continuación)

Glucosa (0,27M)	5-7	35	Color	Mixto	Petriella y col., 1985
Glicina (0,067M)					

---

Abs.=absorbancia

pero esto no es aplicable a los otros azúcares. El modelo cinético de "orden mixto" usado por Petriella y col. (1985), se utilizó para describir la cinética del desarrollo de color (ecuación (8)).

La Figura 17 muestra la aplicación de la ecuación (8) para ajustar los datos de desarrollo de color para distintos azúcares. En el caso de fructosa, se usó directamente un modelo de reacción de orden cero (ecuación (11)), debido a la linealidad de los datos.

La Tabla 6 muestra los valores de los parámetros  $n$  (hallados como en 4.1.1.),  $k_0$  y  $k_1$  para todos los sistemas estudiados, como también la desviación estándar porcentual relativa (DR) (ecuaciones (10) y (12)). Esta última indica la buena concordancia entre las predicciones y la realidad.

Puede observarse que para la mayoría de los casos (con excepción de fructosa para la cual fue directamente propuesto un orden cero), el orden de reacción calculado es cercano a 0,5.

En la Figura 18 están representadas las constantes de velocidad  $k_0$  en función de las  $k_1$  para todos los sistemas analizados en esta sección. Se observa que existe una correlación directa entre ambas constantes. Esta observación permite simplificar el análisis de los datos, ya que para estudiar el efecto de las distintas variables sobre dichas constantes, basta observar lo que ocurre con una de ellas. Si, por ejemplo en función de una dada variable se observara para las dos constantes una dependencia diferente, sería más difícil extraer

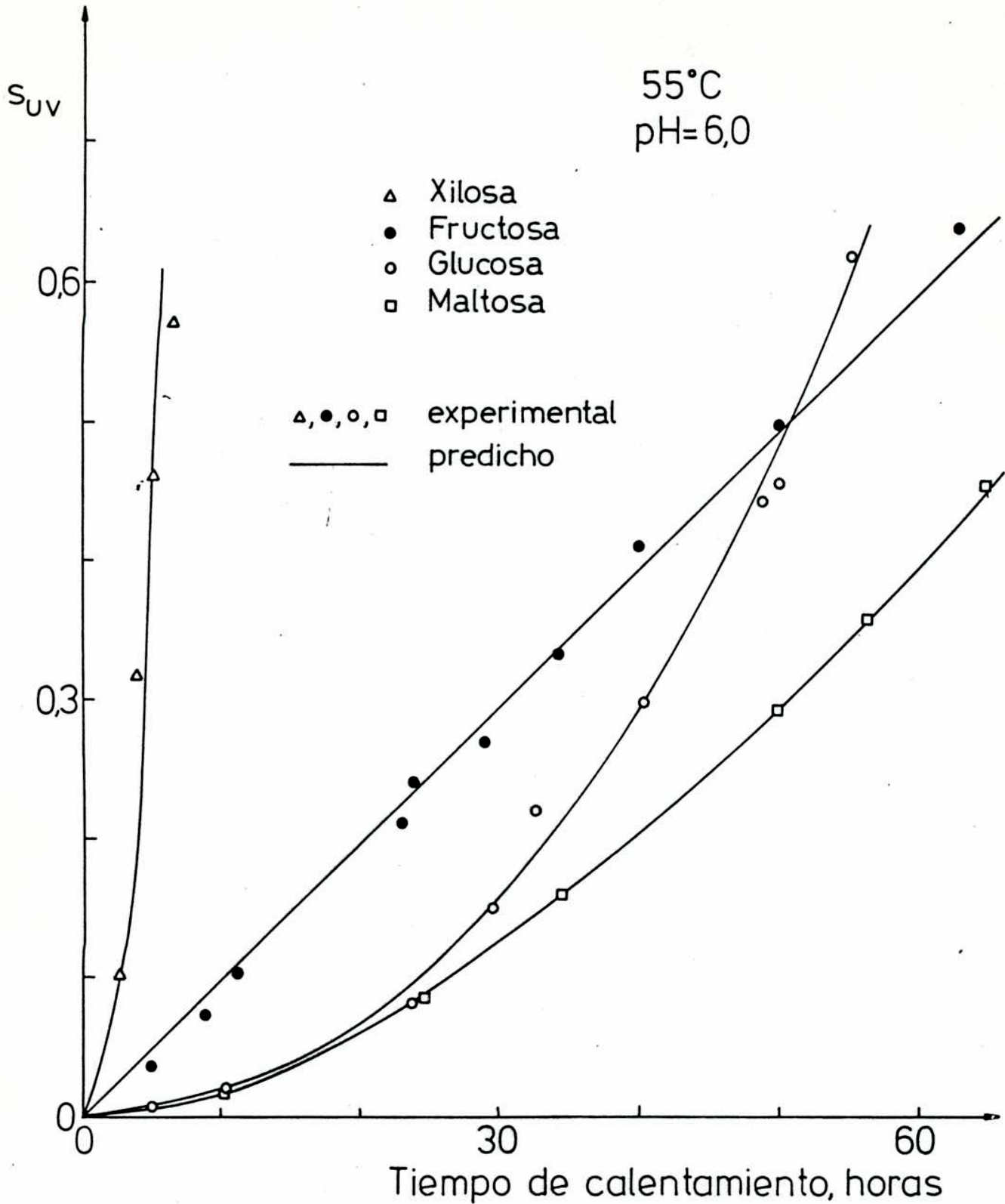


Figura 17: Comparación de los valores experimentales y predichos para la formación de color en soluciones de azúcares y glicina de  $a_w = 0,90$

Tabla 6

Constantes de velocidad (ecuación (8)) y orden de reacción (obtenido por la integración de la ecuación (1)) para el desarrollo de color de soluciones azúcar-glicina de  $a_w = 0,90$  tratadas térmicamente

Azúcar	pH	T (°C)	n	$k_0 \times 10^2$ (un. $s_{uv}/h$ )	$k_1 \times 10^2$ ( $h^{-1}$ )	DR (a)
Glucosa	4	55	0,54	0,27	1,79	2,6
	5	55	0,43	0,82	5,4	5,6
	6	55	0,52	2,95	13,77	2,7
	6	45	0,60	0,86	3,7	3,9
	6	50	0,30	1,2	31	9,7
	6	60	0,56	6,8	35	5,1
	6	65	0,51	8,6	56	7,7
Fructosa (b)	4	55	0	0,54		11,9
	5	55	0	0,80		13,8
	6	55	0	0,99		5,8
	6	45	0	0,17	---	5,1
	6	50	0	0,55	---	6,3
	6	65	0	2,9		21



Tabla 6 (continuación)

Xilosa	5	55	0,51	9,0	47	4,3
	6	55	0,46	24	141	5,3
Sacarosa --	4	55	0,44	0,52	4,4	7,6
	5	55	0,33	0,17	2,7	4,3
	6	55	0,34	0,14	2,7	3,6
	6	45	0,41	0,036	0,48	4,5
	6	65	0,48	1,25	10,3	3,9
Maltosa	5	55	0,10	0,10	15,5	7,4
	6	55	0,44	1,20	15	5,6
Lactosa	5	55	0,35	0,56	4,2	6,3
	6	55	0,52	2,3	14	6,0

---

(a) Desviación relativa del ajuste

(b) Se asumió el orden de reacción cero

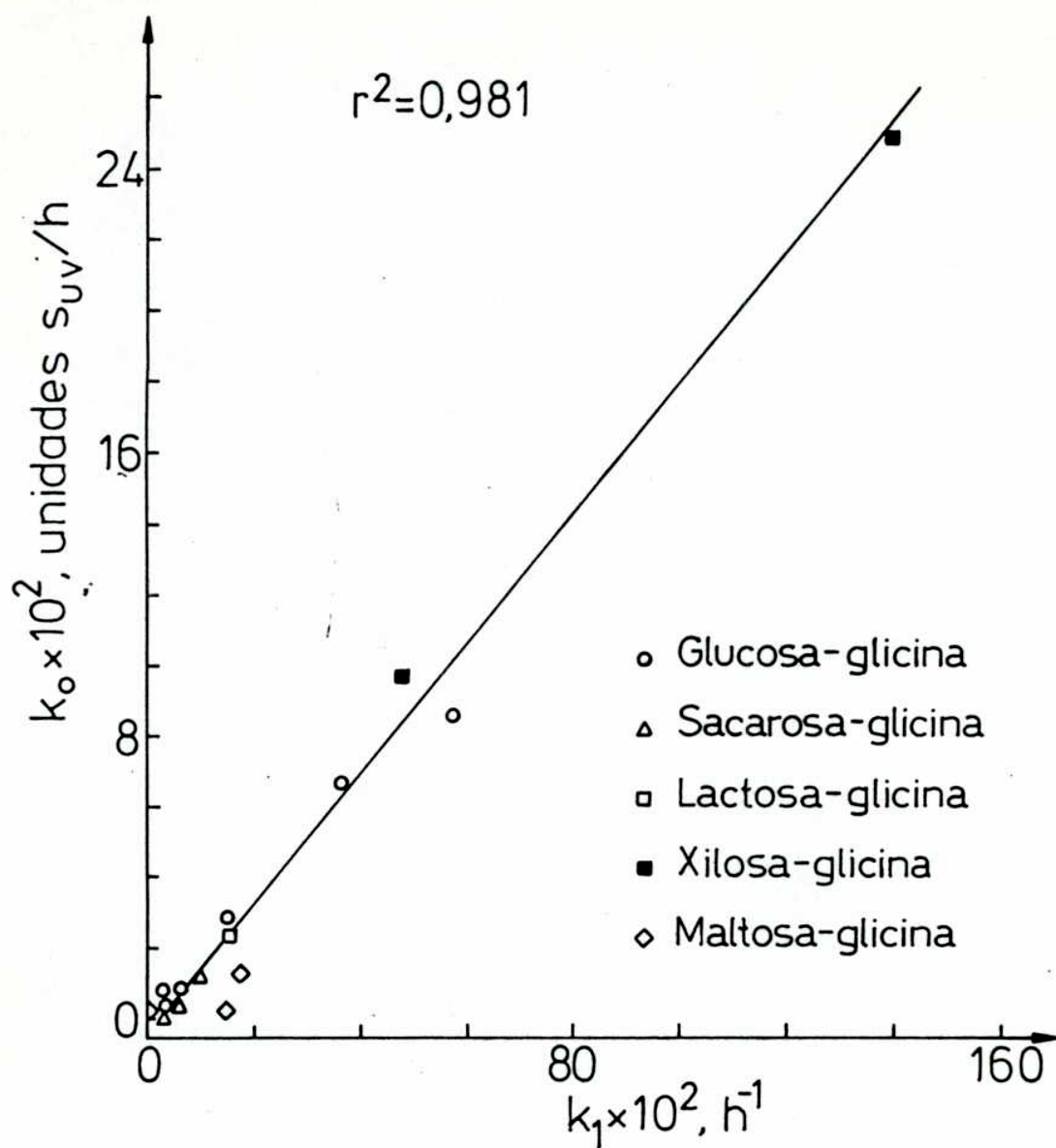


Figura 18: Constante de velocidad  $k_0$  en función de  $k_1$  para los sistemas de azúcar-glicina bajo distintas condiciones de pH y temperatura

conclusiones sobre los efectos de dicha variable sobre la velocidad de la reacción y habría que hacer una evaluación para cada caso particular.

#### 4.2.2. Efecto de la temperatura

Las Figuras 19 y 20 muestran que al graficar el logaritmo de las constantes  $k_0$  de glucosa, fructosa y sacarosa (en presencia de glicina) en función de la inversa de las temperaturas absolutas, se obtienen rectas, por lo cual, se puede decir que los sistemas mencionados cumplen con la ecuación de Arrhenius (ecuación (13)). Las energías de activación fueron obtenidas por análisis de regresión lineal de los datos y están tabulados en la Tabla 7. Como se observa en esta tabla, el valor obtenido para fructosa es similar al hallado para el pardeamiento debido a caramelización (sección 4.1.2.). Aunque para la reacción de caramelización no se calcularon las energías de activación para glucosa y sacarosa debido a la gran desviación observada en el gráfico de Arrhenius se puede observar en la Figura 20 que en ausencia de glicina la dependencia con la temperatura es significativamente mayor que en presencia del aminoácido, y esto es atribuible al hecho de que los compuestos con grupo amino pueden considerarse agentes catalíticos (Shallenberger y Birch, 1975). En el caso de fructosa, que contiene mayor concentración de forma acíclica, el efecto catalítico del

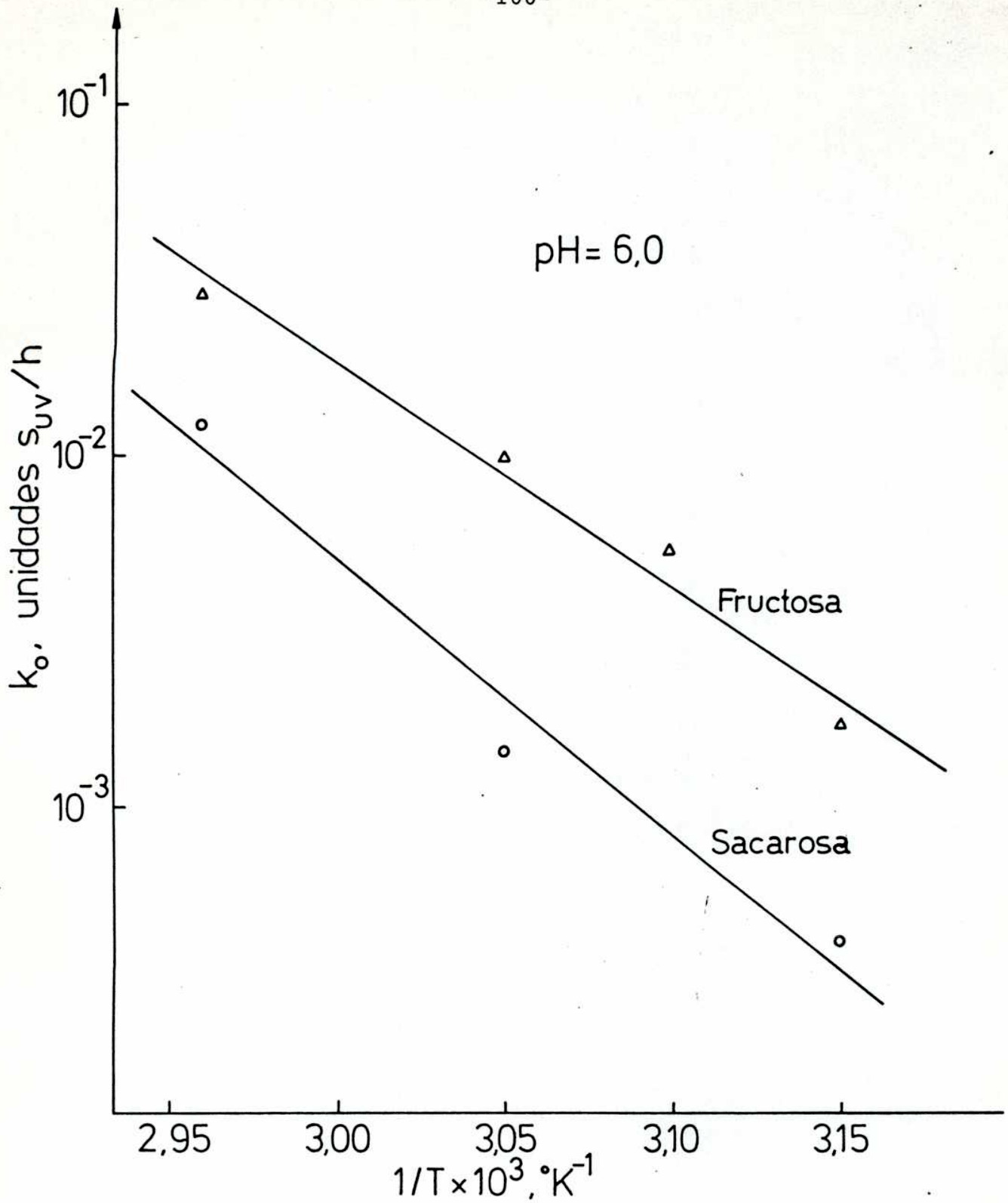


Figura 19: Representación de la ecuación de Arrhenius para las soluciones de fructosa y sacarosa con glicina, de  $a_w = 0,90$

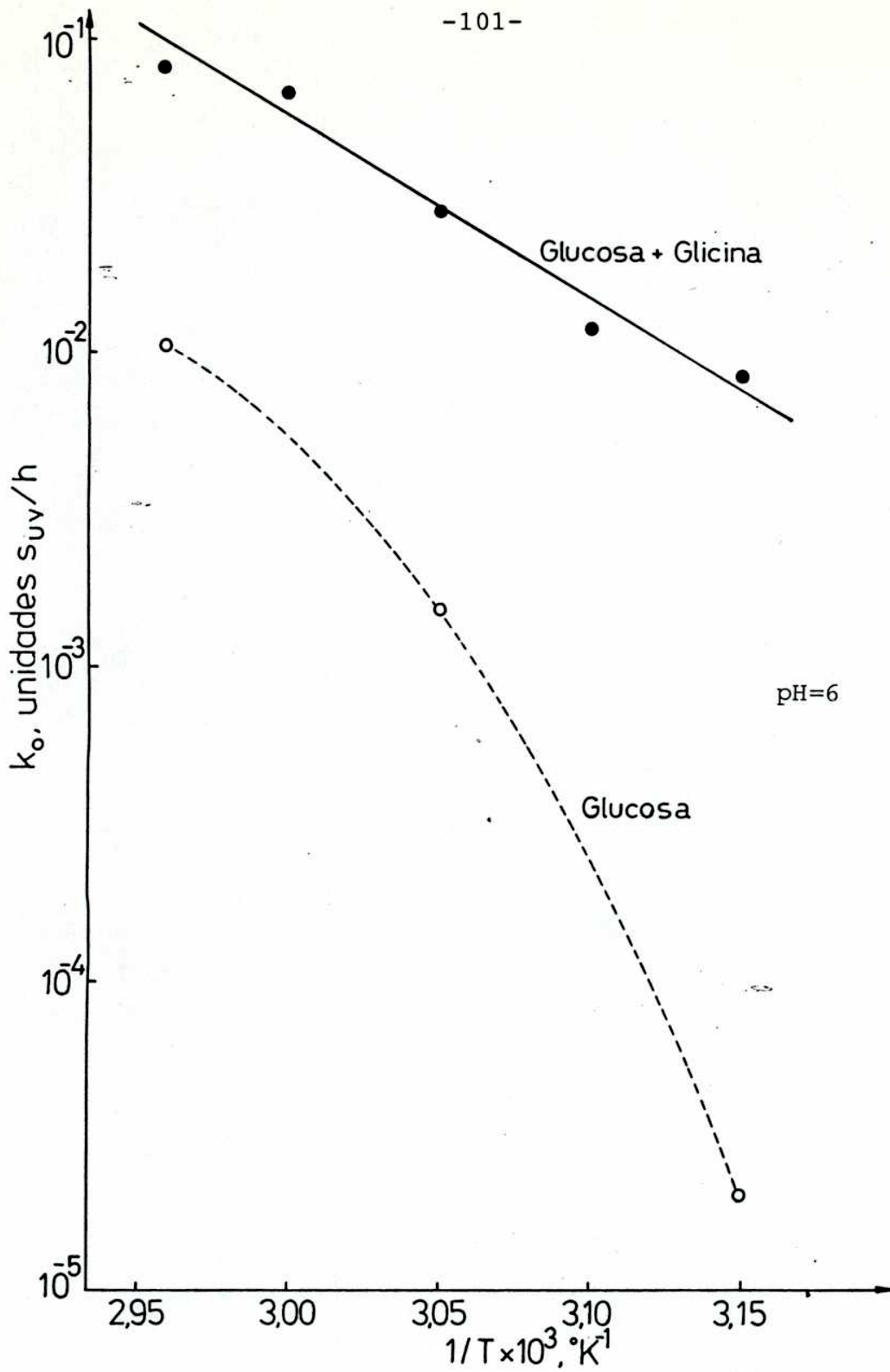


Figura 20: Dependencia de la constante de velocidad con la inversa de la temperatura para las soluciones de glucosa y glucosa+glicina.

Tabla 7

Energías de activación para el desarrollo de color en soluciones de azúcar y glicina tratadas térmicamente ( $a_w = 0,900$ ; pH = 6)

Azúcar	Energía de activación (KJ/mol)			
	Para $k_0$	$r^2$	Para $k_1$	$r^2$
Glucosa	107,4	0,980	133,8	0,993
Fructosa	122,4	0,984	-----	-----
Sacarosa	153,0	0,973	140,8	0,997

aminoácido es menos importante ya que la forma reactiva del azúcar es más estable de por sí, y por otro lado los intermediarios que forma en presencia de glicina son menos reactivos, y esto conduce a un cambio pequeño en la energía de activación cuando se agrega glicina.

Los valores de energías de activación obtenidos en este trabajo para los sistemas glucosa-glicina y fructosa-glicina (107,4 y 122,5 KJ/mol, o sea 26 y 29 Kcal/mol) están en concordancia con los valores hallados en literatura para composición y pH similares.

En la Tabla 5 se muestran los resultados de diversos autores, junto con las condiciones en las que trabajaron. Se observa que todos los valores caen en el rango 85-150 KJ/mol (20-35 Kcal/mol). A su vez, si se compara la energía de activación de estos sistemas modelo con la de sistemas reales de alta actividad de agua, que difieren notablemente en su composición y propiedades, y aún en otro rango de temperaturas de trabajo, como jugo de manzana, leche, queso, papas (Labuza y Saltmarch, 1980), se observa que también caen dentro del mismo rango de variación, lo que indica que las reacciones de pardeamiento no enzimático debido a la reacción de Maillard se pueden caracterizar por una energía de activación de 85 a 150 KJ/mol (20-35 Kcal/mol), lo cual tiene cierta aplicación predictiva.

Este rango de valores también está en concordancia con el propuesto por Heiss y Eichner (1984), aunque los mismos toman como límite superior un valor de 166 KJ/mol (40 Kcal/mol) sin aclarar la fuente de información ni las condiciones a las que se refieren.

#### 4.2.3. Efecto del pH

La Figura 21 ilustra el comportamiento de las constantes de velocidad  $k_0$  y  $k_1$  con el pH en el rango de 4-6 para glucosa, sacarosa y fructosa. Para glucosa ocurre un aumento muy notable de las constantes  $k_0$  y  $k_1$  entre pH = 5 y pH = 6, mientras que para sacarosa el efecto del pH es distinto al observado para los otros azúcares (ver también Tabla 6), ya que  $k_0$  y  $k_1$  disminuyen cuando el pH aumenta de 4 a 6. Este comportamiento será discutido en la sección que trata sobre hidrólisis de sacarosa.

En la sección 4.1.3. se informó que las velocidades comparativas de formación de color durante el pardeamiento debido a reacciones de caramelización de azúcares reductores, guardaba un paralelismo con la estabilidad estructural de los azúcares (mutarotación, apertura del anillo hemiacetalico y enolización). Para los sistemas azúcar-glicina el orden decreciente de reactividad en cuanto a la formación de color a pH menor que 6 es: xilosa >



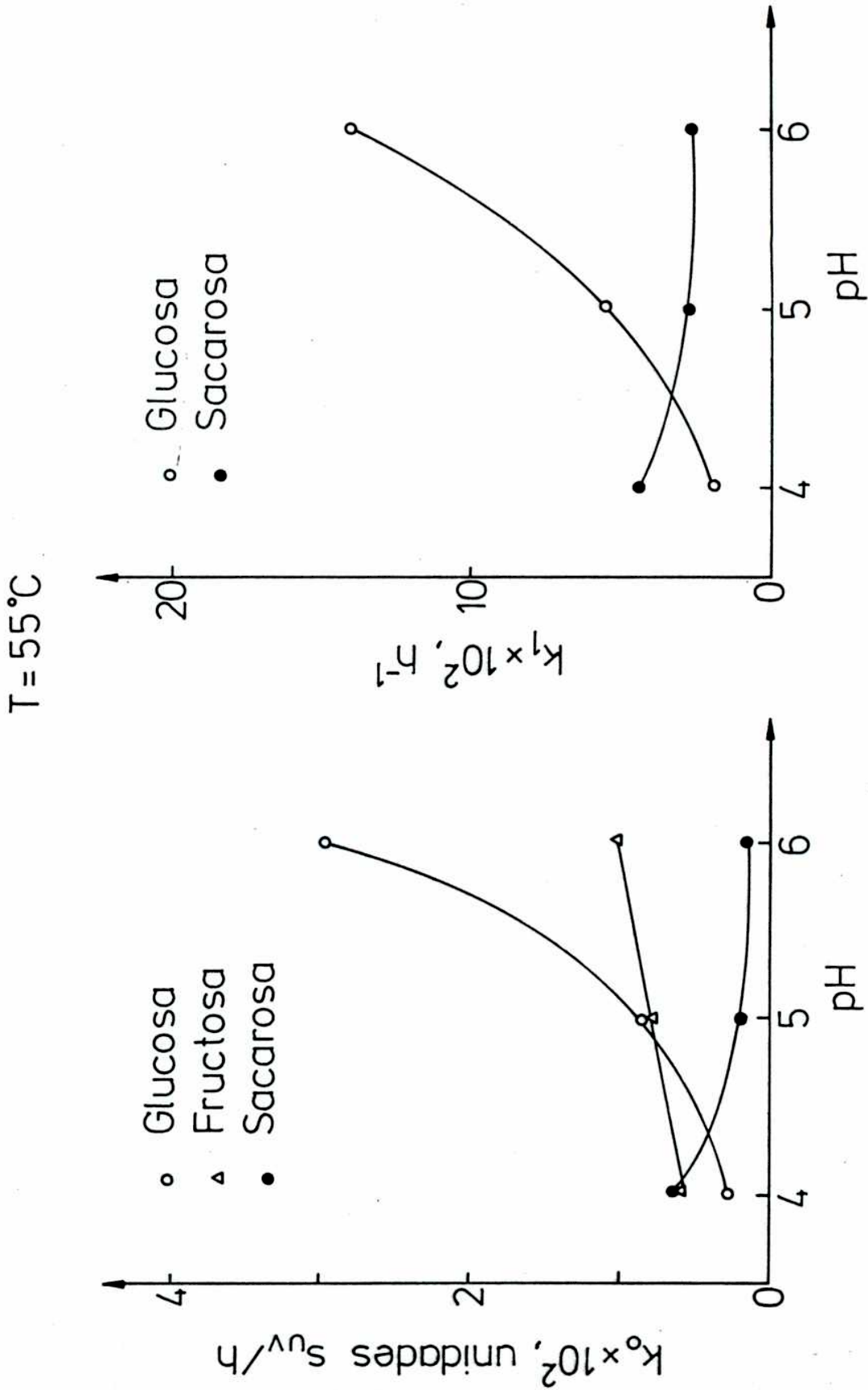


Figura 21: Efecto del pH sobre las constantes de velocidad  $k_0$  y  $k_1$  para soluciones de azúcares y glicina, de  $a_w = 0,90$

fructosa > glucosa > lactosa > maltosa y a pH 6 el orden es xilosa > glucosa > fructosa > lactosa > maltosa.

Esto sugiere que en el pardeamiento debido a la reacción de Maillard la velocidad de formación de color no está directamente relacionada con la estabilidad estructural del azúcar, lo cual indica que este no es un paso limitante en el curso de la reacción, y que hay otros factores que deben tenerse en cuenta.

A pesar de que la forma acíclica está en mayor proporción para la D-fructosa, y ésta se enoliza a una velocidad mayor que D-xilosa y D-glucosa (Isbell, 1969), no forma aminas disustituidas reactivas como xilosa o glucosa, y esto explica que las soluciones glucosa-glicina y xilosa-glicina desarrollan color más rápidamente que fructosa-glicina a pH =6. A pH menores, D-fructosa es más reactiva que D-glucosa debido a que la primera es fácilmente deshidratada a intermediarios que llevan a hidroximetilfurfural (Kato y col., 1969; Reynolds, 1963).

Tal como se discutió para las reacciones de caramelización para los azúcares reductores, la velocidad de desarrollo de color disminuye a medida que el pH disminuye; en el caso de sacarosa, sin embargo, la situación está de algún modo complicada por la hidrólisis de la misma, catalizada por ácidos y que lleva a la formación de fructosa y glucosa. Como se ve en la Figura 21 las constantes de velocidad para el desarrollo de color en las solu-

ciones de sacarosa son muy distintas de las observadas para glucosa, principalmente a pH 6 y son algo más cercanas a las de fructosa.

La Tabla 8 resume los rangos de constantes de velocidad halladas por diferentes autores, en comparación con las obtenidas en este trabajo. Para normalizar los resultados para diferentes métodos y condiciones de tratamiento, se refirió a los valores de las constantes a los correspondientes a glucosa, es decir se tomó el cociente entre la constante de velocidad de un determinado azúcar, y la correspondiente a glucosa, para las mismas condiciones. Como se observa, se puede establecer el mismo orden de reactividad en los trabajos citados y en los encontrados en este trabajo, para un dado pH. A diferencia de lo que ocurre en caramelización, no todas las velocidades relativas son mayores que 1, debido al efecto catalítico del aminoácido que contrarresta la alta estabilidad de la forma cíclica de la glucosa.

#### 4.2.4. Hidrólisis de sacarosa durante la reacción de Maillard

El análisis de los datos experimentales de las soluciones de sacarosa-glicina tratadas a 55°C, de  $a_w$  0,90 y a distintos valores de pH, mostró que la hidrólisis de la sacarosa sigue el comportamiento indicado por la ecuación (14), es decir que se ajus-

///

Tabla 8

Valores comparativos de las constantes de velocidad de pardeamiento debido a la reacción de Maillard

Azúcar	rango de pH	Rango de T(°C)	Rango de $k_r$ *	Referencia	Rango de $k_r$ (Este trabajo)
Fructosa	6,2-6	45-65	0,2-0,9	1-2-3-4	0,2-0,3
	5-2,2	45-100	2-7,2	1-4-5-6-7-8	1,0-2,0
Xilosa	6,2-6	24-65	1,2-15	1-3-4-9-10	9
	5,5-2	45-120	2-52	1-4-11-12	10
Sacarosa	6,7-6	45-65	$10^{-3}$ -0,5	2-3-4-8-14	0,04-0,2
	5-3,8	45-145	2-3,1	8	0,2-2,0
Maltosa	6,2-6	30-65	$4 \times 10^{-3}$ -0,8	3-9	0,4-1
	5,5-4	45-95	0,14-0,3	13	0,1-3,0
Lactosa	6,7-6	24-65	0,5-0,8	9-15	1
	5-4	45-120	0,3	12	0,7

Tabla 8 (continuación)

- |                              |                                |
|------------------------------|--------------------------------|
| (1) Bobbio y col., 1973      | (9) Frankel y Katchalsky, 1937 |
| (2) Wolfrom y col., 1974     | (10) Hashiba, ~1976            |
| (3) Spark, 1969              | (11) Motai, 1973               |
| (4) Haugaard y col., 1951    | (12) Hashiba, 1982             |
| (5) Kato y col., 1969        | (13) Rooney y col., 1967       |
| (6) Schwimmer y Olcott, 1953 | (14) Burton y col., 1963       |
| (7) Reyes y col., 1982       | (15) Katchalsky y Sharon, 1953 |
| (8) Singh y col., 1948       |                                |

\*  $k_r$  = velocidad relativa a glucosa

tan a una cinética de orden uno.

La Figura 22 muestra el efecto del pH sobre las constantes de primer orden para la hidrólisis de la sacarosa en las soluciones de sacarosa-glicina tratadas a 55°C, y, para comparar se incluyen las de las soluciones de sacarosa (sección 4.1.4.) en ausencia de glicina. La correlación semilogarítmica entre la constante de velocidad de primer orden para la hidrólisis de sacarosa y el pH fue observada por otros autores para distintos tipos de sistemas y varias condiciones (Vukov, 1965; Bunton y col., 1957; Zhong, 1984), A medida que el pH aumenta, la constante disminuye (catálisis ácida).

Sin embargo, la dependencia de la misma con el pH no puede ser descripta por la ecuación desarrollada por Vukov (1965), en la cual:

$$\log_{10} k_H = 16,91 + \log_{10} W_O - \frac{5670}{T} - \text{pH}$$

Donde:

$k_H$  : constante de velocidad para la hidrólisis ( $\text{h}^{-1}$ )

$W_O$  : concentración inicial de agua (moles de agua/100 g de sólido)

$T$  : temperatura absoluta (°K)

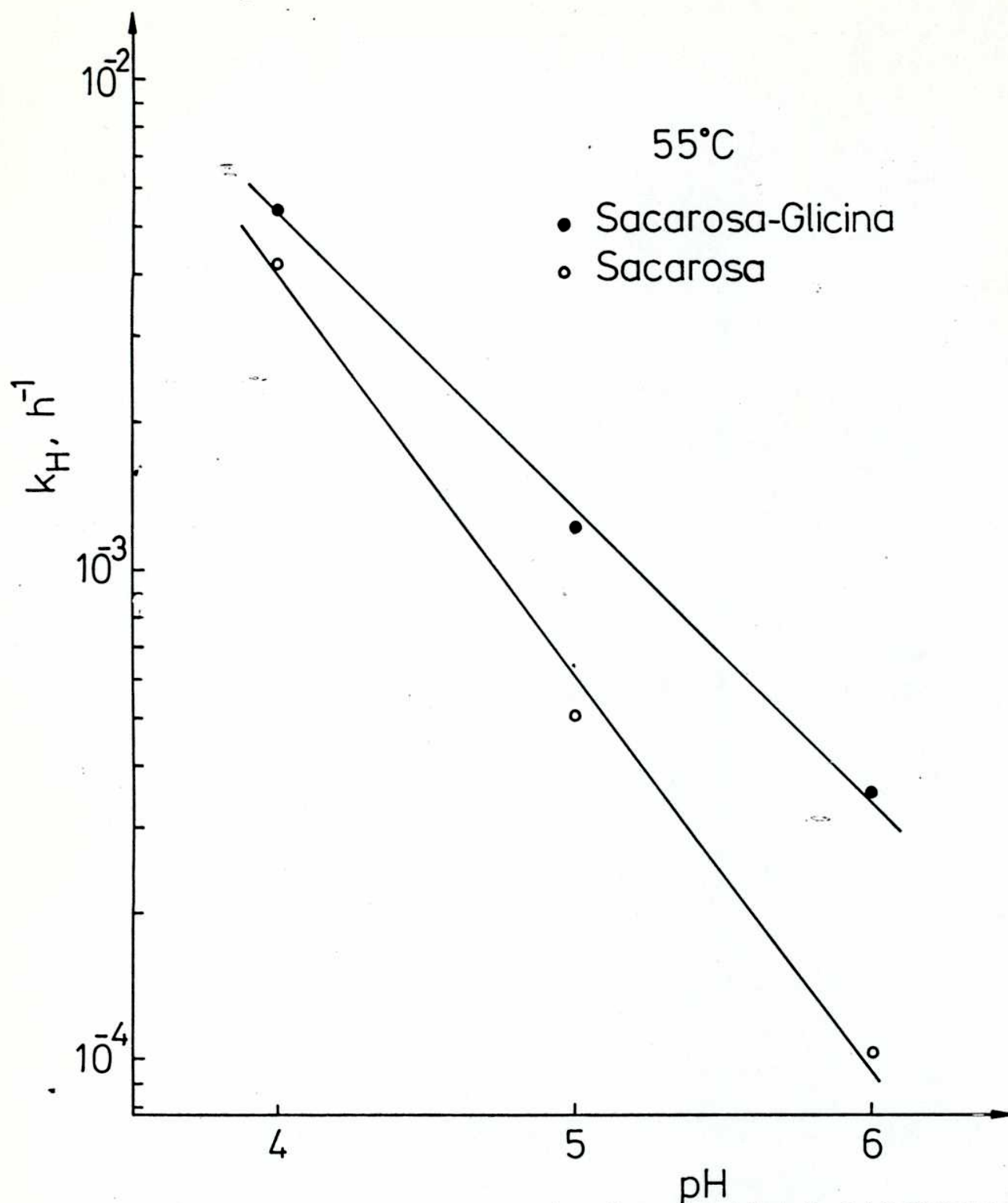


Figura 22: Efecto del pH sobre la velocidad de hidrólisis de sacarosa en presencia y ausencia de glicina.

Aunque se halló una dependencia lineal de  $\log_{10} k_H$  vs. pH, en el presente trabajo los valores experimentales hallados son cerca de diez veces mayores que los predichos por la ecuación de Vukov (1965). Esto puede deberse al efecto catalítico que ejerce el ion cloruro (incorporado en estos sistemas como cloruro de sodio) sobre la hidrólisis de la sacarosa (Hammet y col., 1934), o al buffer usado.

En la misma Figura 22 se puede observar además que la hidrólisis de sacarosa se produce más rápidamente en presencia de glicina, hecho atribuible en parte al consumo de los productos de la reacción de hidrólisis en la reacción de Maillard, por un desplazamiento del equilibrio, y además al efecto catalítico de los aminoácidos sobre la hidrólisis de la sacarosa (Shallenberger y Birch, 1975).

En la Figura 23 se muestran dos cromatogramas que ilustran el mencionado efecto del pH en dos muestras en las que tiene lugar la reacción de Maillard. En la muestra de pH = 4 se produjo un alto grado de hidrólisis en 303 h a 55°C, mientras que a pH = 6 el grado de hidrólisis fue muy bajo en 341 h a 55°C, como puede deducirse de la intensidad relativa de los picos respectivos.

En la Figura 24 se observan los valores de color ( $s_{uv}$ ) en función del grado de hidrólisis en las soluciones de sacarosa, de distintos pH, tratadas a 55°C. Puede observarse que se requiere un grado de hidrólisis relativamente elevado para que las muestras



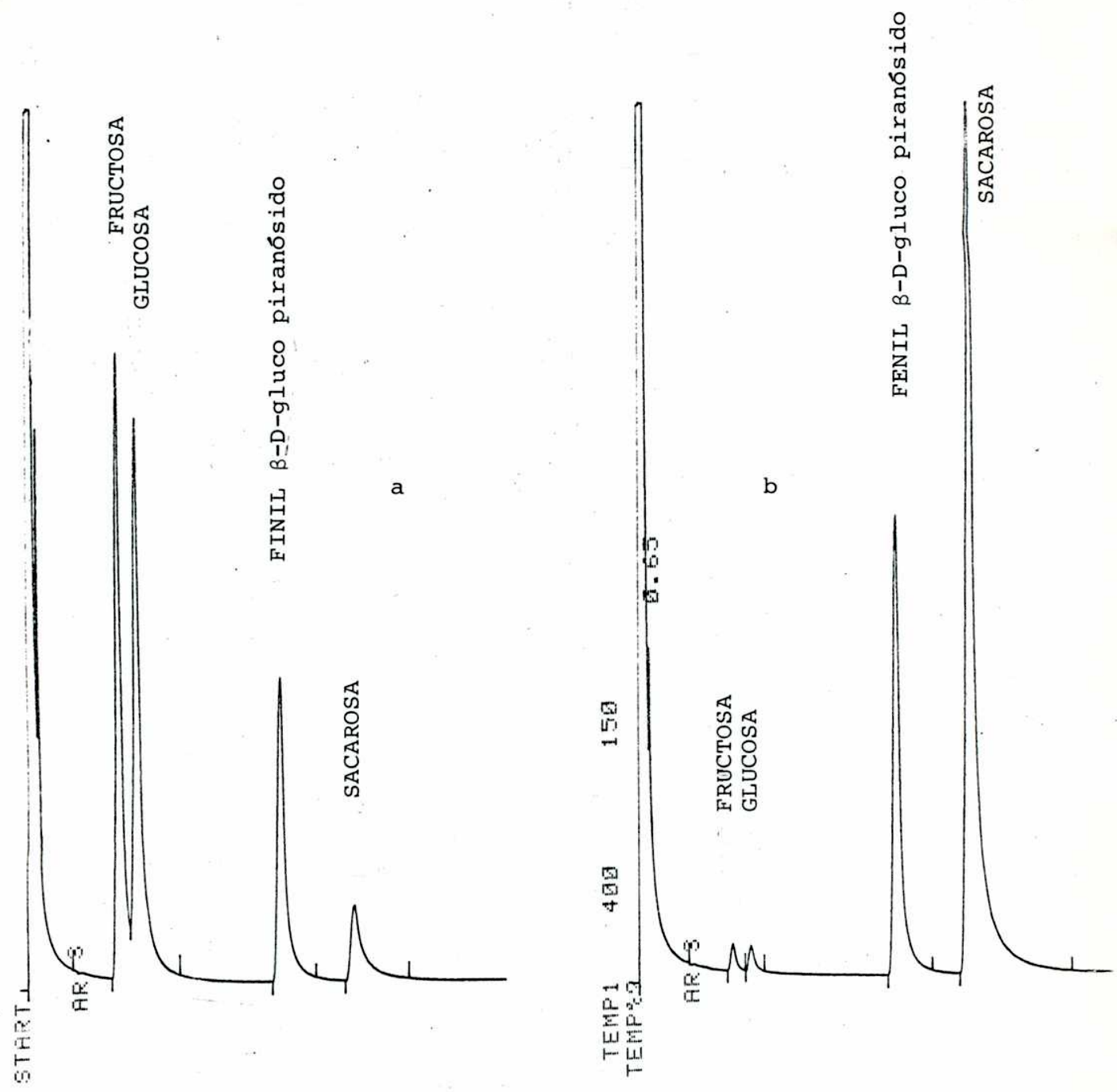


Figura 23: Cromatogramas de soluciones de sacarosa y glicina sometidas a tratamiento térmico a 55°C  
a: pH = 4; tiempo de tratamiento = 303 h  
b: pH = 6; tiempo de tratamiento = 341 h

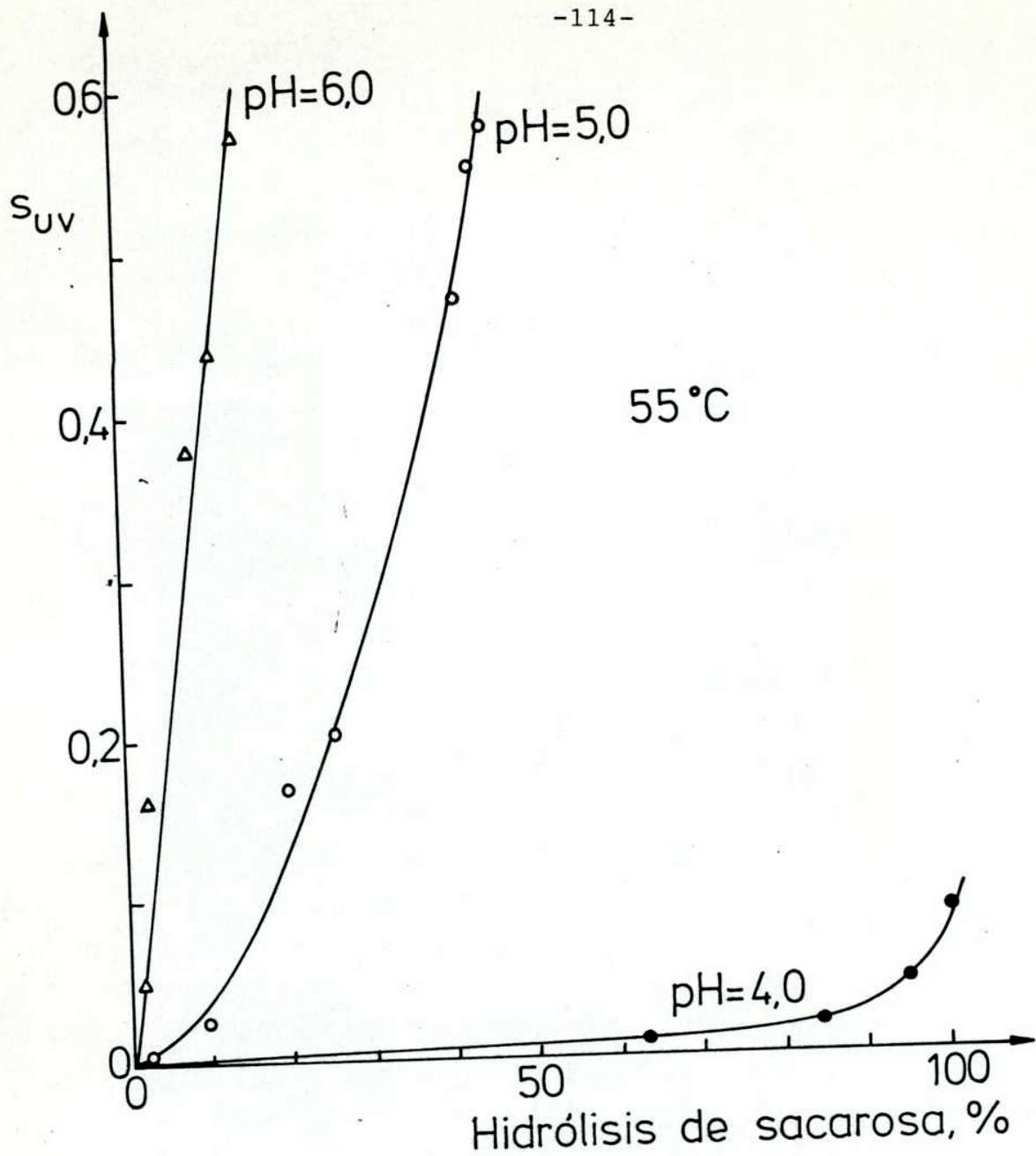


Figura 24: Desarrollo de color en función del porcentaje de hidrólisis de sacarosa  $(\frac{S_o - S}{S_o} \cdot 100)$  en presencia de glicina en muestras de  $a_w = 0,90$

de pH = 4 desarrollen soluciones coloreadas; al aumentar el pH el grado de hidrólisis que da el mismo color se reduce. Por ejemplo, para el tiempo en que una solución sacarosa-glicina de pH = 6 calentada a 55°C alcanza un  $s_{UV} = 0,3$  (coloración amarillo-parda), sólo ocurre un 10% de la hidrólisis de sacarosa. Sin embargo, si la muestra es calentada a pH = 4, la hidrólisis de la sacarosa aumenta hasta un 48% para el tiempo en que la función de color ( $s_{UV}$ ) alcanza el mismo valor. La presencia de glicina marca una diferencia con respecto al pardeamiento de soluciones tratadas térmicamente en ausencia de aminoácidos. Como se vio en la sección 4.1.4., las soluciones de sacarosa calentadas a pH = 4 estaban sólo débilmente coloreadas a pesar del alto grado de hidrólisis.

El grado de hidrólisis que experimenta un azúcar durante el procesamiento depende de la acidez del medio, la forma anomérica y la posición de los enlaces interglucosídicos, la forma cíclica de las unidades de azúcares y el grado de uniones puente de hidrógeno entre las moléculas (suponiendo que las hidrolasas están inactivadas). En general, los compuestos con enlace  $\beta$ -D son menos susceptibles a hidrólisis que los  $\alpha$ -D y los enlaces  $\alpha(1-6)$ -D más estables que los enlaces  $\alpha(1-4)$ ,  $\alpha(1-3)$  o  $\alpha(1-2)$ . La forma piranosica de las unidades glicosídicas es más estable que la forma furanosica, la cual es muy fácilmente hidrolizable.

Por todo lo expuesto, el enlace  $\beta$ -D fructofuranosil de

la sacarosa es lábil bajo condiciones ácidas moderadas a bajas temperaturas e incluso a bajos contenidos de humedad (Hodge y Osman, 1976). Y, por otro lado, las hidrólisis de lactosa (enlace  $\beta(1-4)$  D-galactopiranosil) o maltosa con enlace ( $\alpha(1-4)$  D-glucopiranosil), no se ha considerado debido a que dichas reacciones ocurren a velocidades muy bajas (cerca de mil veces menores que la hidrólisis de sacarosa) (Overend, 1952).

#### 4.3. Comparación entre la cinética de la reacción de Maillard y la de caramelización

Cuando una solución de azúcar y aminoácido se somete a tratamiento térmico o a un almacenamiento prolongado, el pardeamiento resultante es debido a la contribución de dos reacciones, la de caramelización y la de Maillard. Por esta razón es interesante visualizar, por lo menos estimativamente, la contribución de cada reacción para los diferentes azúcares y en las distintas condiciones de tratamiento.

Esto se muestran en las Figuras 25, 26 y 27, en las que se compara la curva de desarrollo de color en soluciones de fructosa, glucosa y sacarosa tratadas a 55°C, solas o en presencia de glicina. Puede verse que la contribución relativa de la caramelización al pardeamiento total depende del tipo de azúcar, del pH

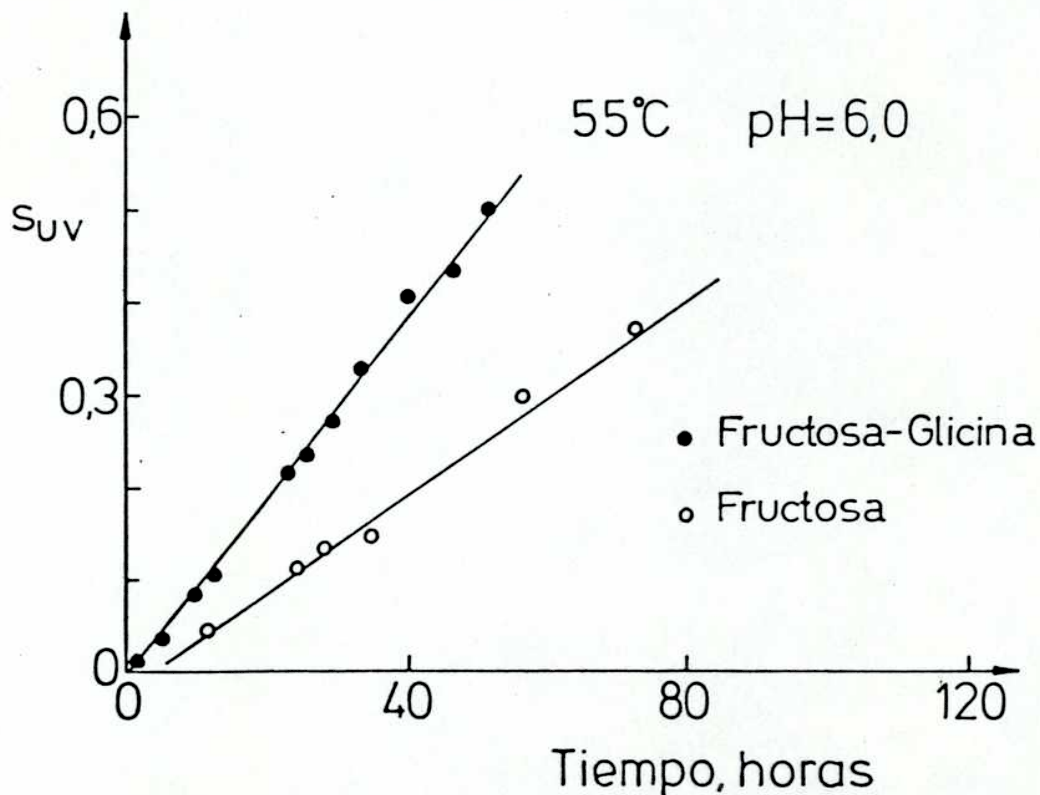
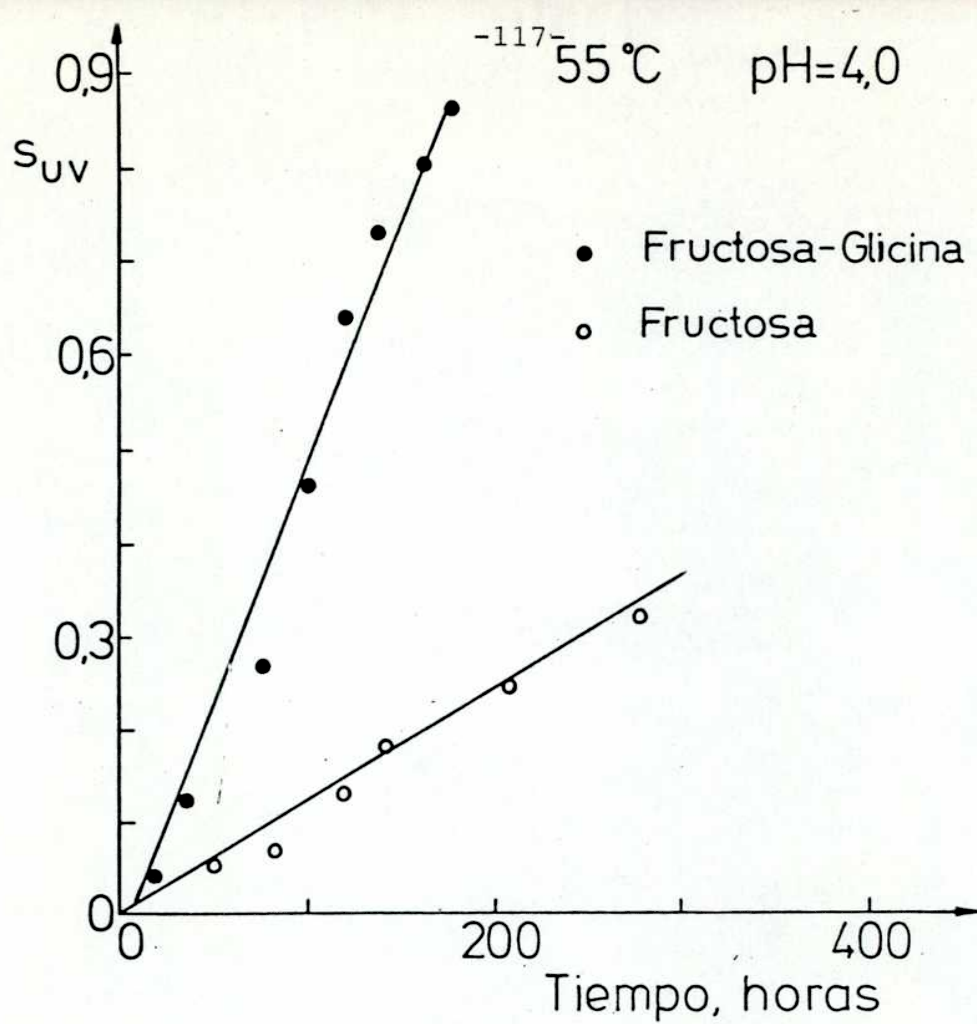


Figura 25: Contribución del pardeamiento debido a caramelización con soluciones de fructosa y glicina de  $a_w = 0,90$  tratadas térmicamente

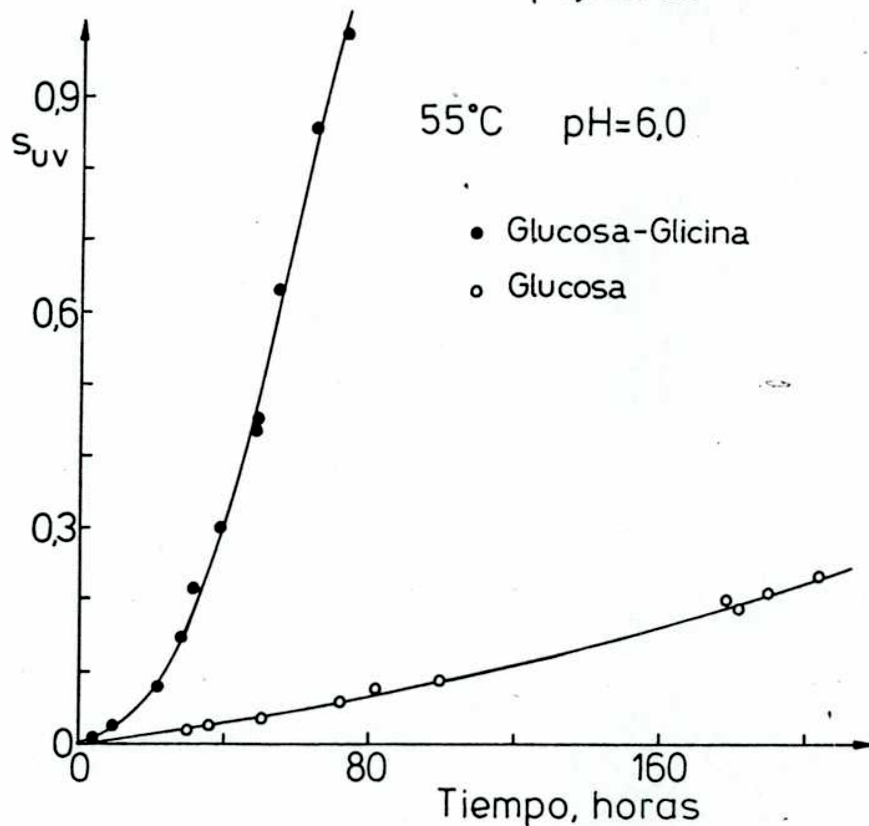
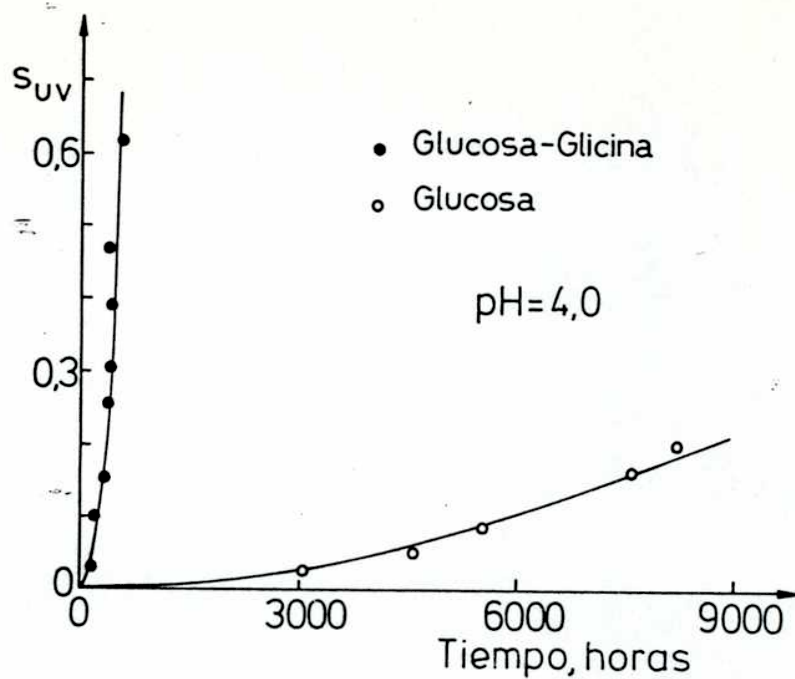


Figura 26: Contribución del pardeamiento debido a caramelización en soluciones de glucosa y glicina de  $a_w = 0,90$  tratadas térmicamente

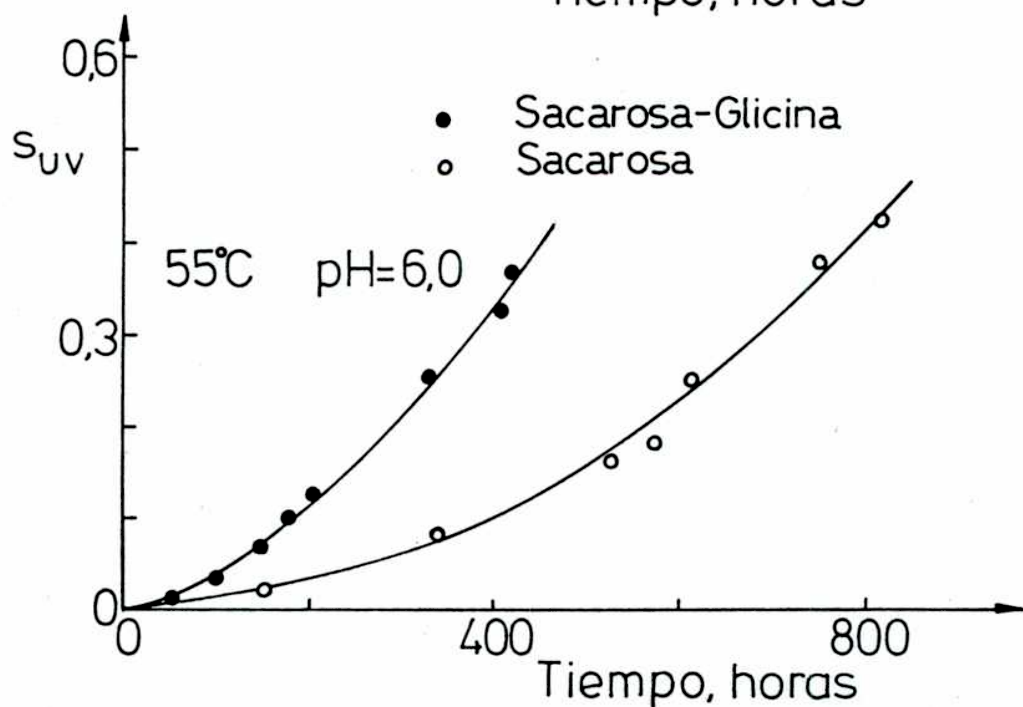
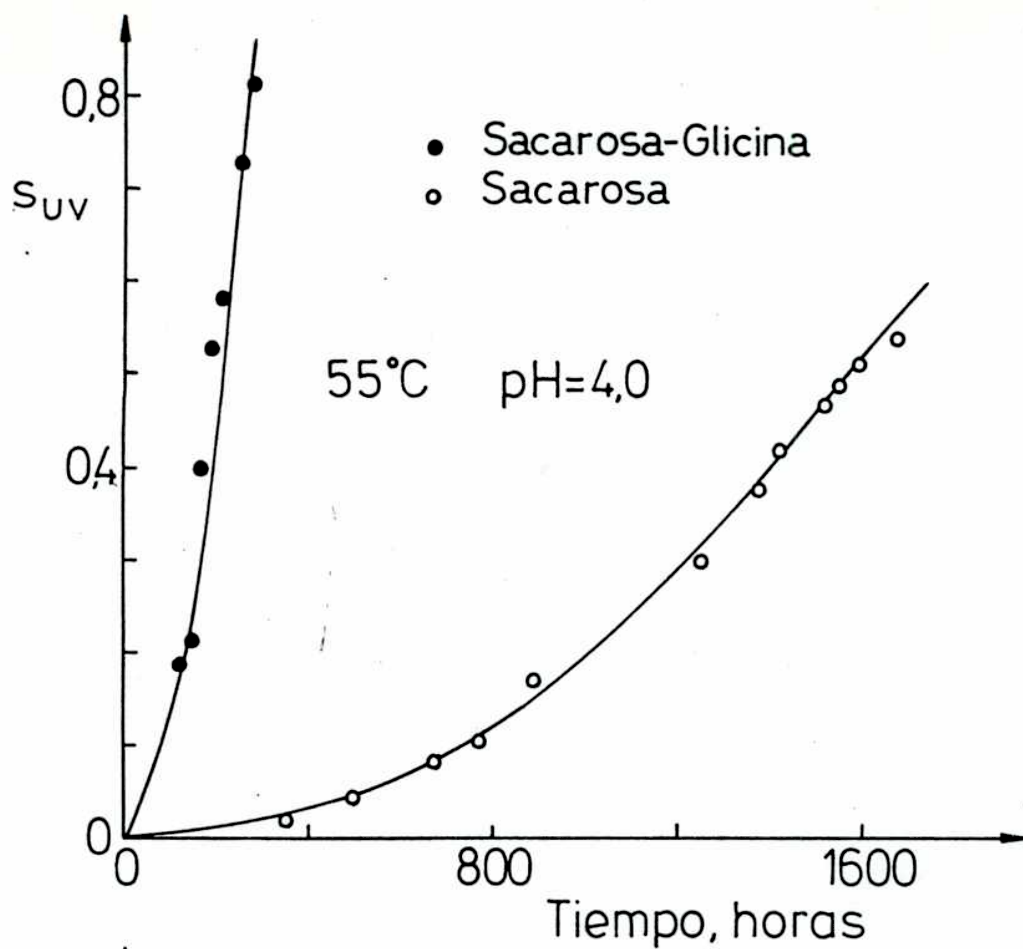


Figura 27: Contribución del pardeamiento debido a caramelización en soluciones de sacarosa y glicina, de  $a_w = 0,90$  tratadas térmicamente

y de la temperatura; para todos los azúcares esta contribución es más importante a pH = 6 que a pH = 4. Sobre todo, la caramelización parece contribuir notablemente al pardeamiento en las soluciones de fructosa-glicina o sacarosa-glicina de pH = 6. Sin embargo, en el caso de los sistemas compuestos por glucosa y glicina, la caramelización puede despreciarse como un mecanismo que produzca un pardeamiento significativo a todos los pH estudiados, y lo mismo sucede con las soluciones de sacarosa-glicina de pH = 5.

Este resultado es similar al obtenido por Resnik (1982) a 90°C que observó que la reacción de caramelización se hace preponderante a medida que aumenta el pH, y a partir de pH=6. A pH inferiores domina la reacción de Maillard cuando el sistema es glucosa (0,04M)-alanina (0,04M).

En la sección 4.2.2. se discutió que la dependencia con la temperatura para el pardeamiento de las soluciones de sacarosa o glucosa tratadas térmicamente en ausencia de aminoácidos es mayor que la de los sistemas que contienen glicina, y de esta forma se espera que a temperaturas mayores, la contribución relativa de la caramelización esté acentuada.

En la Tabla 9 está representado el aumento de la constante de velocidad de formación de color, para las soluciones que contienen glicina respecto de los correspondientes sistemas en los que la formación de color es debida a reacciones de caramelización.



Tabla 9

Aumento de la constante de velocidad de formación de color por el agregado de glicina ( $k_{\text{Maillard}}/k_{\text{caramelización}}$ )

Azúcar	pH	T(°C)	$k_{0M}/k_{0C}$	$k_{1M}/k_{1C}$
Glucosa	4	55	48	26
	5	55	98	33
	6	55	20	2
	6	45	441	19
	6	65	8	6
Xilosa	5	55	52	--
	6	55	58	--
Fructosa	4	55	5	
	5	55	2	--
	6	55	2	--
	6	45	1	--
	6	50	2	--
	6	65	2	--
Sacarosa	4	55	6	9
	5	55	1	5
	6	55	1	3

Tabla 9 (continuación)

Sacarosa	6	45	9	9
	6	65	3	1
Maltosa	5	55	16	
	6	55	9	
Lactosa	5	55	16	6
	6	55	9	7

---

En el caso de aldosas (glucosa, xilosa) la concentración de forma acíclica es pequeña (por lo que la caramelización está menos favorecida) y el efecto catalítico de la condensación con un aminoácido es grande debido a los intermediarios reactivos que se forman, y por lo tanto la velocidad de reacción se ve notablemente incrementada por el agregado de un aminoácido.

Fructosa, por otro lado tiene mayor proporción de forma acíclica y no forma aminas sustituidas tan reactivas, por lo tanto el agregado de un aminoácido no produce un aumento tan notable en la velocidad de formación de color, como en el caso de las aldosas.

Para los disacáridos reductores el efecto acelerador de la glicina es mayor que para fructosa, pero no es tan importante como en el caso de las aldosas.

Para las muestras que contienen sacarosa, el efecto del agregado de glicina es en general de poco peso (comparado con las aldosas o aún con los disacáridos reductores), pero la interpretación no es tan directa debido a que, por un lado el aminoácido favorece la hidrólisis, pero por otro existe un efecto del cambio de pH sobre la velocidad de hidrólisis, y una influencia diferente del agregado de glicina sobre cada uno de los productos de hidrólisis.

En las Figuras 28 y 29 están representadas las constantes de velocidad ( $k_0$ ) para la reacción de pardeamiento junto con las

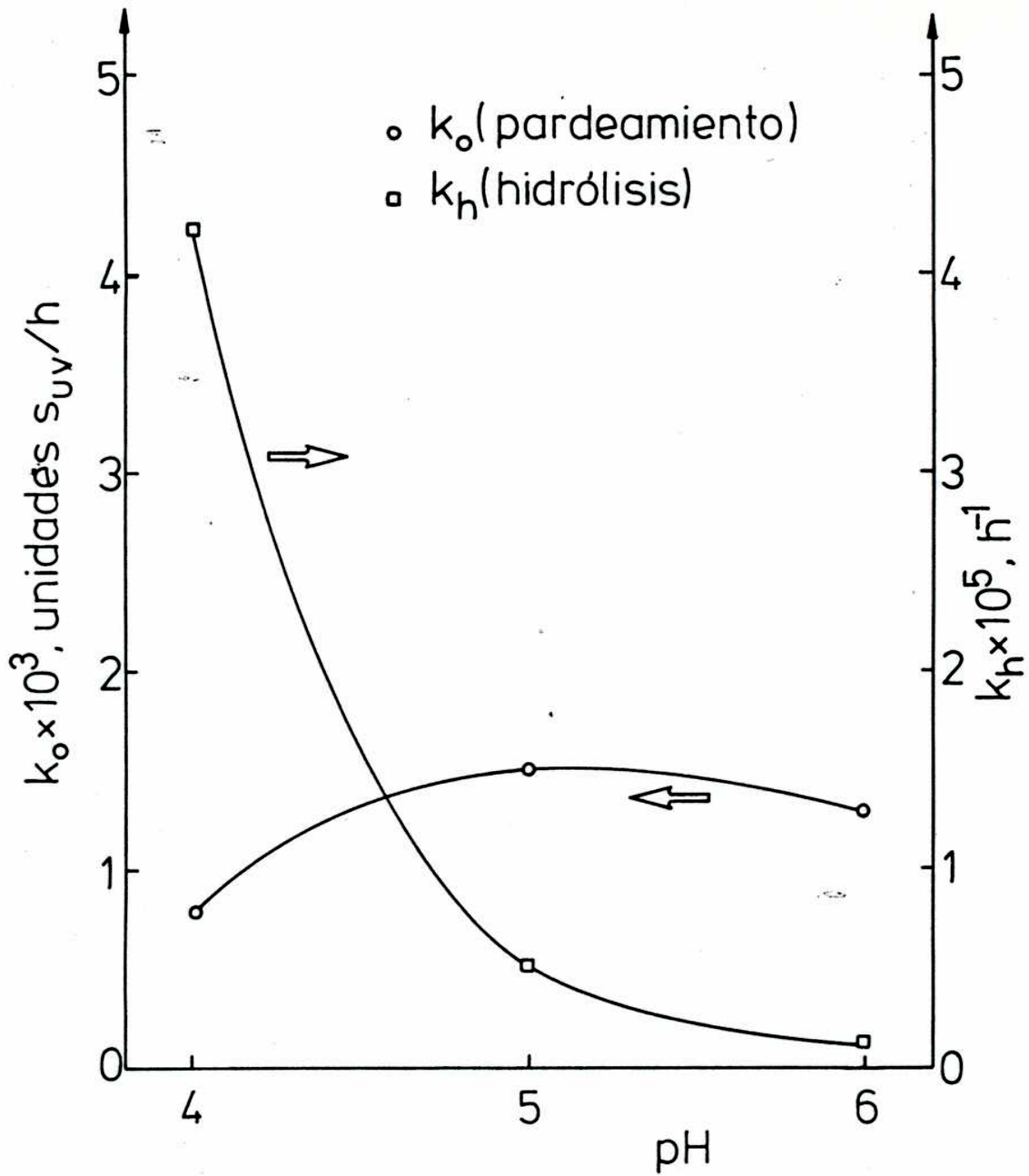


Figura 28: Constantes de velocidad para la reacción de pardeamiento y para la hidrólisis de sacarosa, durante la caramelización (55°C)

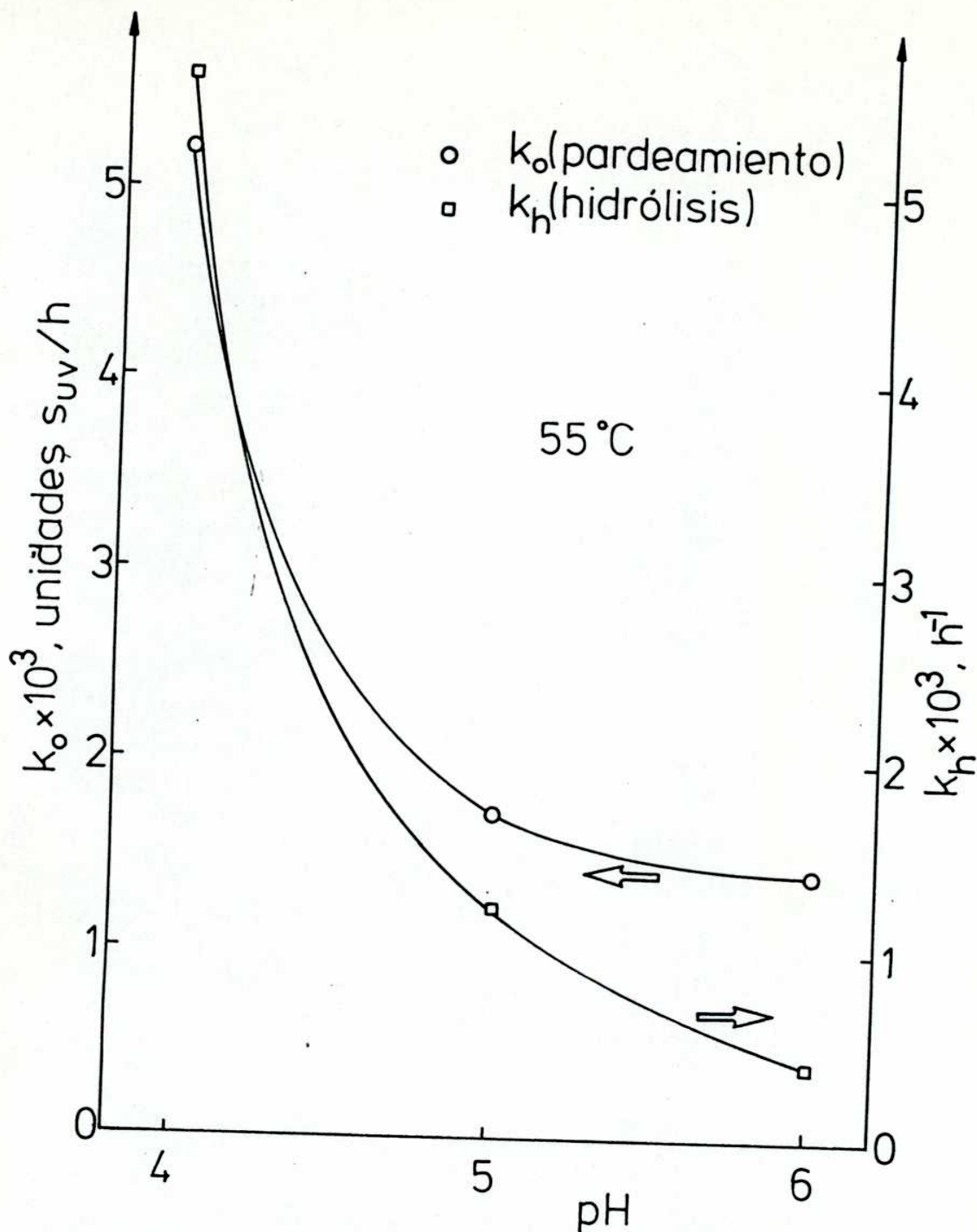


Figura 29: Constantes de velocidad para la reacción de pardeamiento y para la de hidrólisis de sacarosa durante la reacción de Maillard (Sistema sacarosa-glicina tratado a 55°C)

correspondientes a la hidrólisis de sacarosa, en los sistemas que no contenían aminoácido, y en los que contenían glicina, respectivamente estos resultados son similares a los obtenidos al comparar las  $k_H$  con las constantes de pardeamiento  $k_1$ . Se puede observar que en ausencia de glicina (Figura 28) ambas reacciones no se dan paralelamente, y que el efecto de disminuir el pH hasta 4 tiene una gran influencia inhibitoria sobre el pardeamiento, teniendo en cuenta la alta velocidad de hidrólisis. En cambio, en presencia de glicina (Figura 29) el pardeamiento procede en forma bastante paralela a la hidrólisis de la sacarosa.

Estas observaciones pueden explicar lo visto anteriormente en las Figuras 14 y 24 (secciones 4.1.4. y 4.2.4.), en las que se representaba la saturación en función del grado de hidrólisis de sacarosa. En ausencia de glicina (Figura 14) a pH = 4 a un elevado grado de hidrólisis correspondía poco pardeamiento, y a pH=6, se daba la situación inversa: a una muestra muy pardeada correspondía un bajo grado de hidrólisis. En presencia de glicina (Figura 24), se cumple a todos los pH que a un alto grado de hidrólisis corresponde un color oscuro, lo que es reflejo del paralelismo entre ambas reacciones observado en la Figura 29.

De estas observaciones se puede concluir que en ausencia de aminoácidos el hecho de reducir el pH es más efectivo para disminuir la velocidad de pardeamiento, que en presencia de glicina.

Esto se puede comprobar tomando la relación entre las constantes de velocidad de pardeamiento de los productos de hidrólisis para pH 6 y 4 para ambos casos (con y sin glicina). En la Tabla 10 se observan los resultados obtenidos.

En ausencia de glicina la constante de velocidad para fructosa disminuye 5 veces cuando el pH disminuye de 6 a 4 y en presencia de glicina disminuye sólo a la mitad, y para glucosa, en ausencia de aminoácidos ocurre una disminución de 26 veces al disminuir el pH de 6 a 4, mientras que en presencia de glicina la constante  $k_0$  disminuye 11 veces para la misma disminución de pH (el mismo análisis puede hacerse con la constante  $k_1$ ).

#### 4.4. Cinética de la reacción de péptidos de glicina con glucosa

Para describir la cinética del desarrollo de color se utilizó el modelo cinético de orden mixto, cuya expresión aritmética es la ecuación (8).

La Figura 30 compara el pardeamiento observado y el predicho en soluciones de glicina o péptidos (diglicina y triglicina) con glucosa, tratadas a 55°C y pH = 5.

Se observa que la ecuación (8) describe bien la formación de color en los sistemas que contienen glucosa y péptidos de glicina y que la intensidad de pardeamiento en las soluciones de pép-

Tabla 10

Efecto de la disminución de pH sobre la velocidad de pardeamiento no enzimático para los sistemas que contenían glucosa y fructosa

	Fructosa		Glucosa	
	$\frac{k_o \text{ pH}=6}{k_o \text{ pH}=4}$	$\frac{k_o \text{ pH}=6}{k_o \text{ pH}=4}$	$\frac{k_1 \text{ pH}=6}{k_1 \text{ pH}=4}$	$\frac{k_1 \text{ pH}=6}{k_1 \text{ pH}=4}$
CON GLICINA	2	11	7,7	
SIN GLICINA	5	26	91	



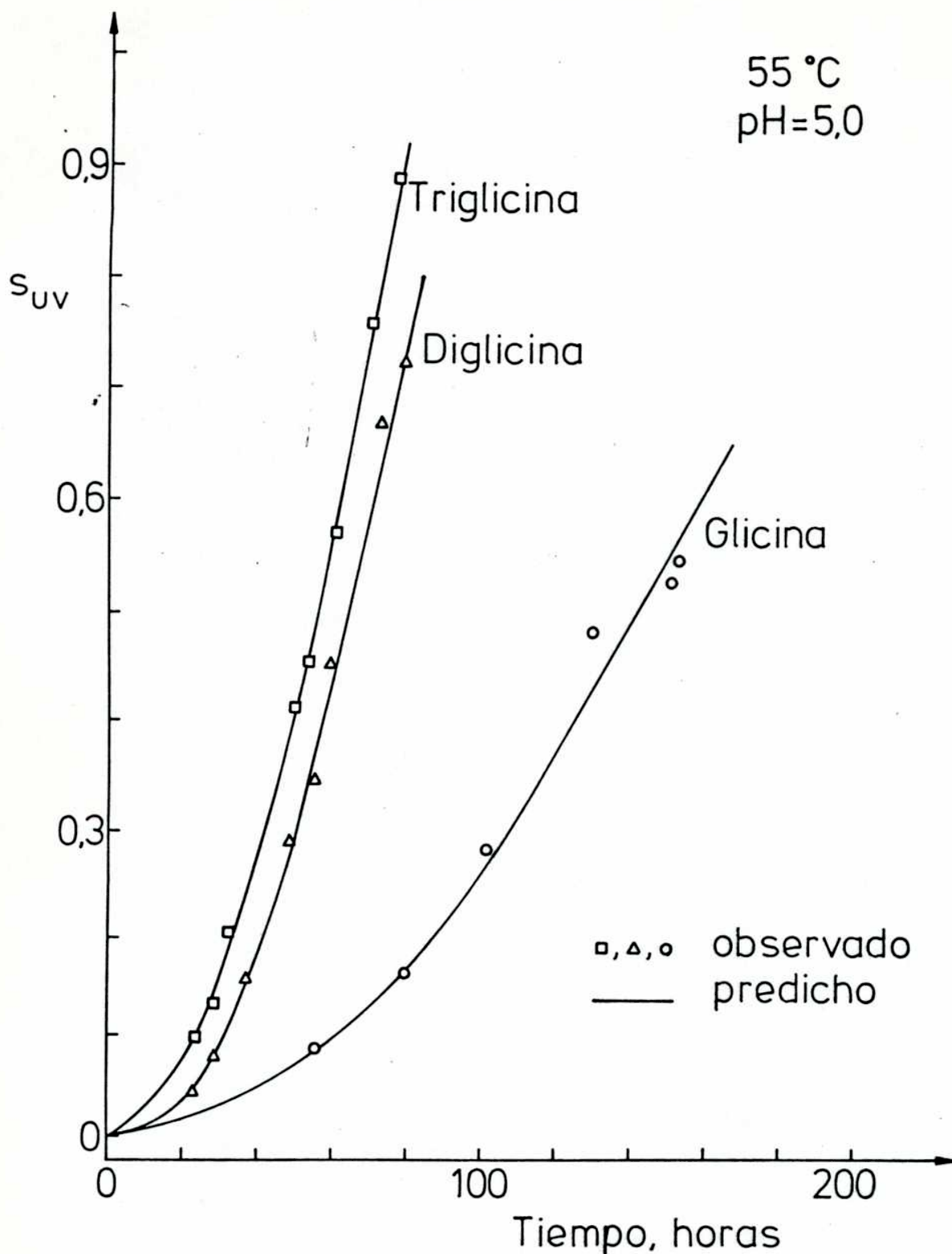


Figura 30: Desarrollo de color (observado y predicho) en soluciones de glicina o péptidos (diglicina y triglicina) a 55°C y pH = 5

tidos es mayor que la del aminoácido (glicina) a la misma concentración molar. En estas condiciones el orden de creciente de pardeamiento es: triglicina > diglicina > glicina.

En la Tabla 11 se muestran las constantes  $k_0$  y  $k_1$  obtenidas con la ecuación (8) tal como se hizo anteriormente junto con el orden  $n$  hallado con la ecuación (1) y la desviación standard porcentual relativa (DR) (ecuación (10)). Los órdenes de reacción  $n$  hallados para la reacción de pardeamiento en presencia de péptidos son similares a los obtenidos en presencia de glicina (Tabla 6), y las constantes de velocidad  $k_0$  y  $k_1$  son del mismo orden que las correspondientes a la reacción con glicina. Los valores pequeños de DR (2-9%) muestran que existe buena concordancia entre los valores que predice la ecuación empleada y los obtenidos experimentalmente.

#### 4.4.1. Efecto de la temperatura

La Figura 31 muestra que las constantes de velocidad  $k_0$  y  $k_1$  para las soluciones que contienen péptidos se pueden ajustar a la ecuación de Arrhenius (ecuación (13)). Por análisis de regresión lineal de estos datos se obtuvieron las energías de activación y los resultados se observan en la Tabla 12. Los valores de energía de activación para las constantes  $k_0$  para diglicina y triglicina son similares (aunque algo mayores) a las halladas para glicina.

Tabla 11

Constantes de velocidad (ecuación (8)) y orden de reacción (obtenido por integración de la ecuación (1)) para el desarrollo de color en soluciones glucosa-péptidos sometidas a tratamiento térmico ( $a_w = 0,90$ )

Péptidos	pH	T(°C)	n	$k_0 \cdot 10^2$ (unid. $s_{UV}/h$ )	$k_1 \cdot 10^2$ ( $h^{-1}$ )	DR %
Diglicina	2,85	55	0,58	0,51	1,8	3,4
	4	55	0,48	0,49	2,8	2,1
	5	55	0,56	2,0	12	5,0
	6	55	0,47	3,2	18	3,3
	6	45	0,46	1,17	8,1	4,4
	6	65	0,64	17	43	4,4
	7,75	55	0,51	3,4	18	0,6
Triglicina	2,85	55	0,58	0,63	2,0	3,2
	4	55	0,55	0,66	2,5	1,6
	5	55	0,48	2,1	14	2,5
	6	55	0,48	2,7	20	7,2
	6	45	0,38	0,64	12,6	1,2
	6	65	0,64	12	51	3,2
	7,75	55	0,50	3,2	19	1,1

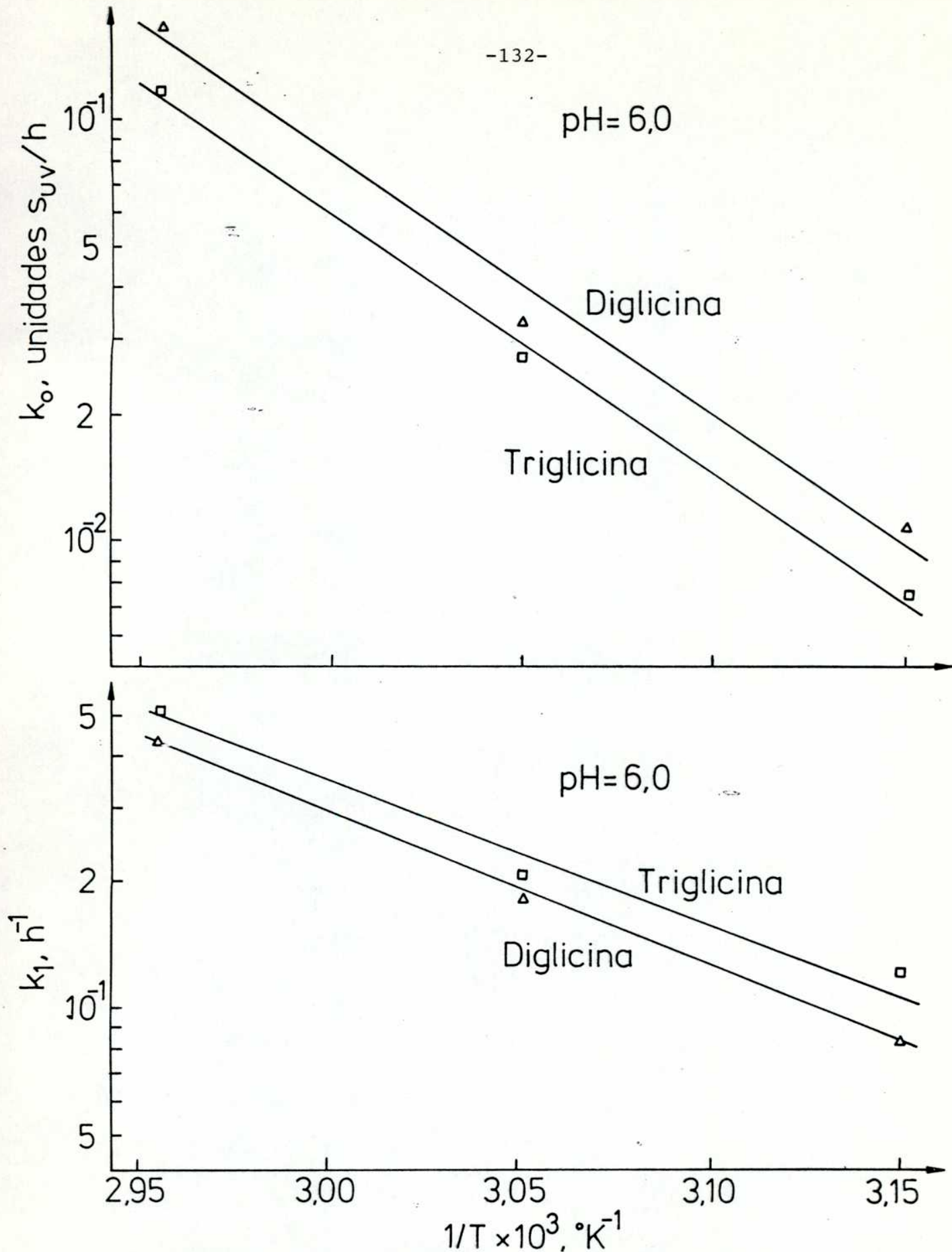


Figura 31: Representación de la ecuación de Arrhenius para las constantes de velocidad de pardeamiento en soluciones de glucosa-péptidos

Tabla 12

Energías de activación para el desarrollo de color en la reacción de Maillard producida por glicina y sus péptidos (y glucosa) a pH=6

	$E_a^{(a)}$ (KJ/mol)	$r^2$	$E_a^{(b)}$ (KJ/mol)	$r^2$
Glicina	107,5	0,980	135,7	0,993
Diglicina	120,9	0,975	74,9	0,998
Triglicina	130,5	0,999	62,8	0,979

r = coeficiente de correlación para la relación de Arrhenius

(a) Energías de activación para las constantes  $k_0$

(b) Energías de activación para las constantes  $k_1$

Sin embargo, las energías de activación obtenidas con las constantes  $k_1$  son significativamente menores para los péptidos. El hecho de que para  $k_0$  se obtengan energías de activación mayores para los péptidos que para glicina y que para las constantes  $k_1$  ocurra lo contrario, hace que sea difícil predecir qué tipo de compuesto (aminoácido o péptido) mostrará una dependencia mayor con la temperatura de acuerdo únicamente con este parámetro. En las Figuras 32 y 33 se grafican las curvas de desarrollo de color en función del tiempo de tratamiento a 45°C y 65°C para los sistemas que contenían glicina (Figura 32) y péptidos (Figura 33). Se puede ver que las curvas de ambas temperaturas presentan mayor separación para el sistema glicina que en los que contienen péptidos, lo que indicaría que el sistema con aminoácido es más dependiente de la temperatura que los que contienen péptidos.

#### 4.4.2. Efecto del pH

La Figura 34 muestra la dependencia de las constantes  $k_0$  y  $k_1$  con el pH, para los péptidos y para glicina. A pH por debajo de 6, las constantes de velocidad para el pardeamiento de las soluciones de péptidos son mayores que las de glicina. A pH cercano a 7 se observa lo contrario: las constantes de velocidad para el pardeamiento de péptidos son menores que aquellas de las

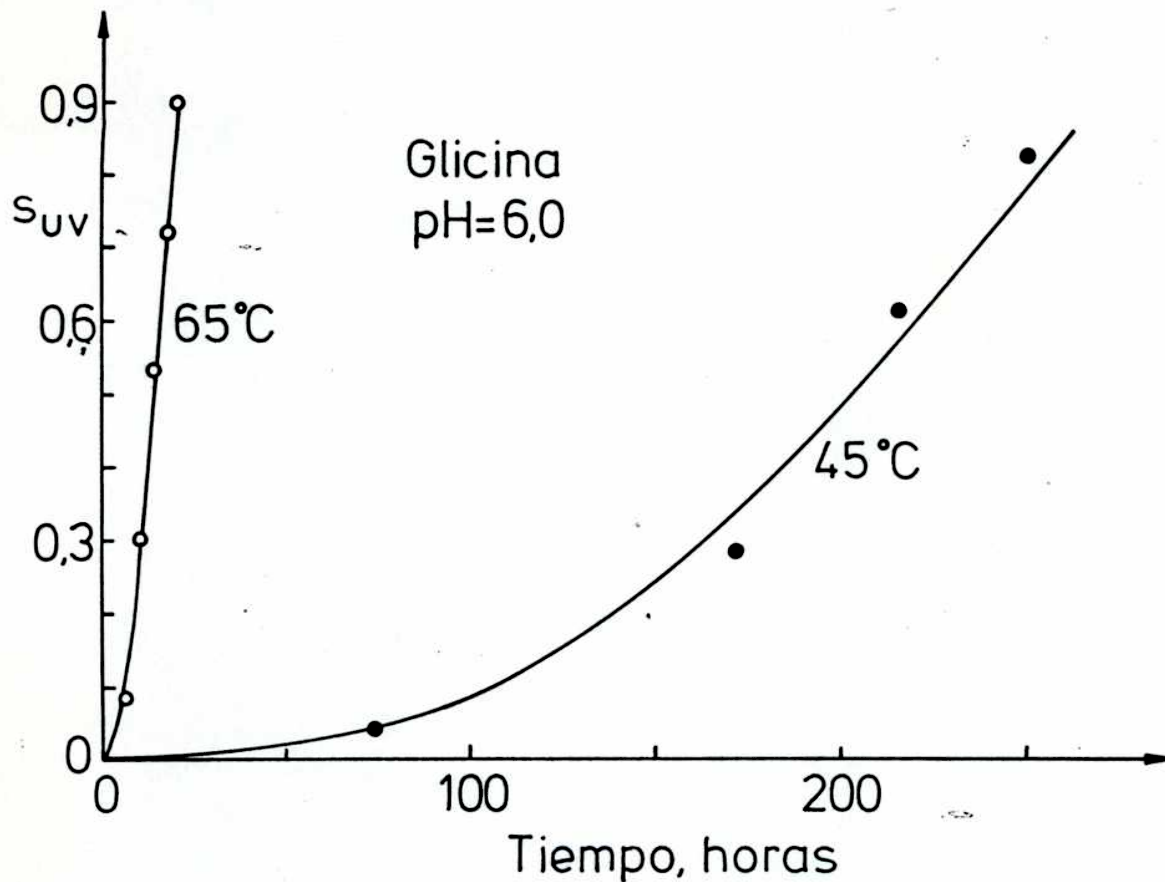


Figura 32: Efecto del tiempo de tratamiento térmico a 45 y 65°C sobre el desarrollo de color en el sistema glucosa-glicina ( $a_w = 0,90$ )

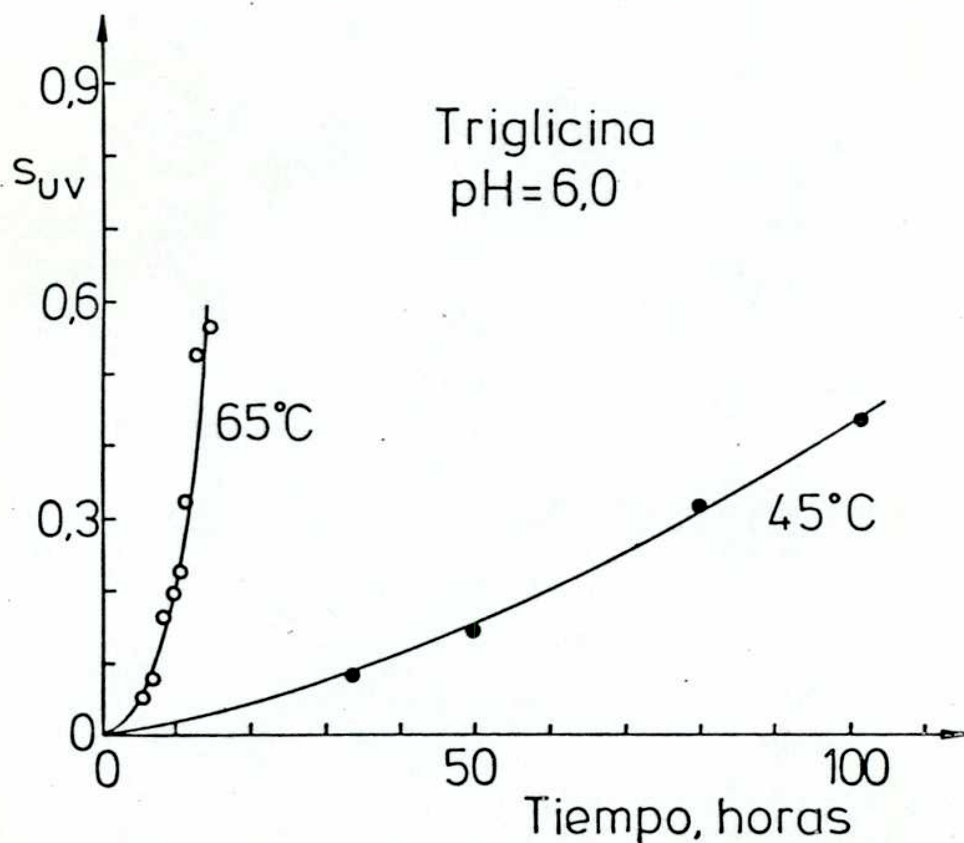
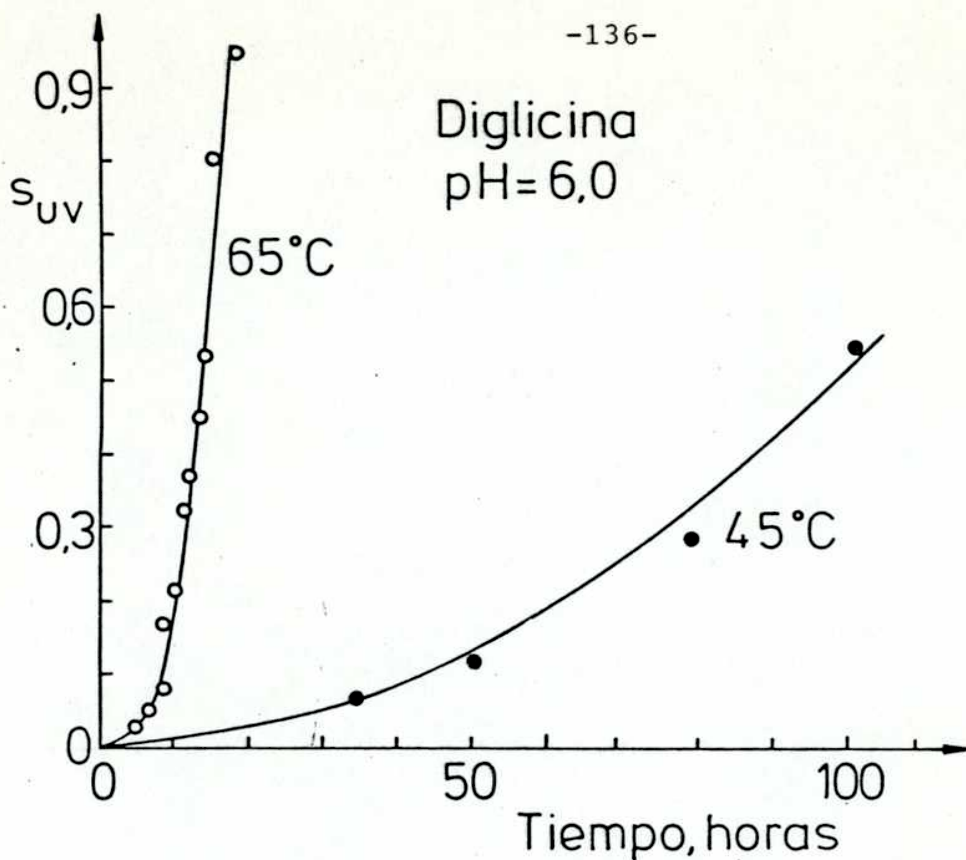


Figura 33: Efecto del tiempo de tratamiento térmico a 45 y 65°C sobre el desarrollo de color para los sistemas glucosa-diglicina y glucosa-triglicina ( $a_w = 0,90$ )



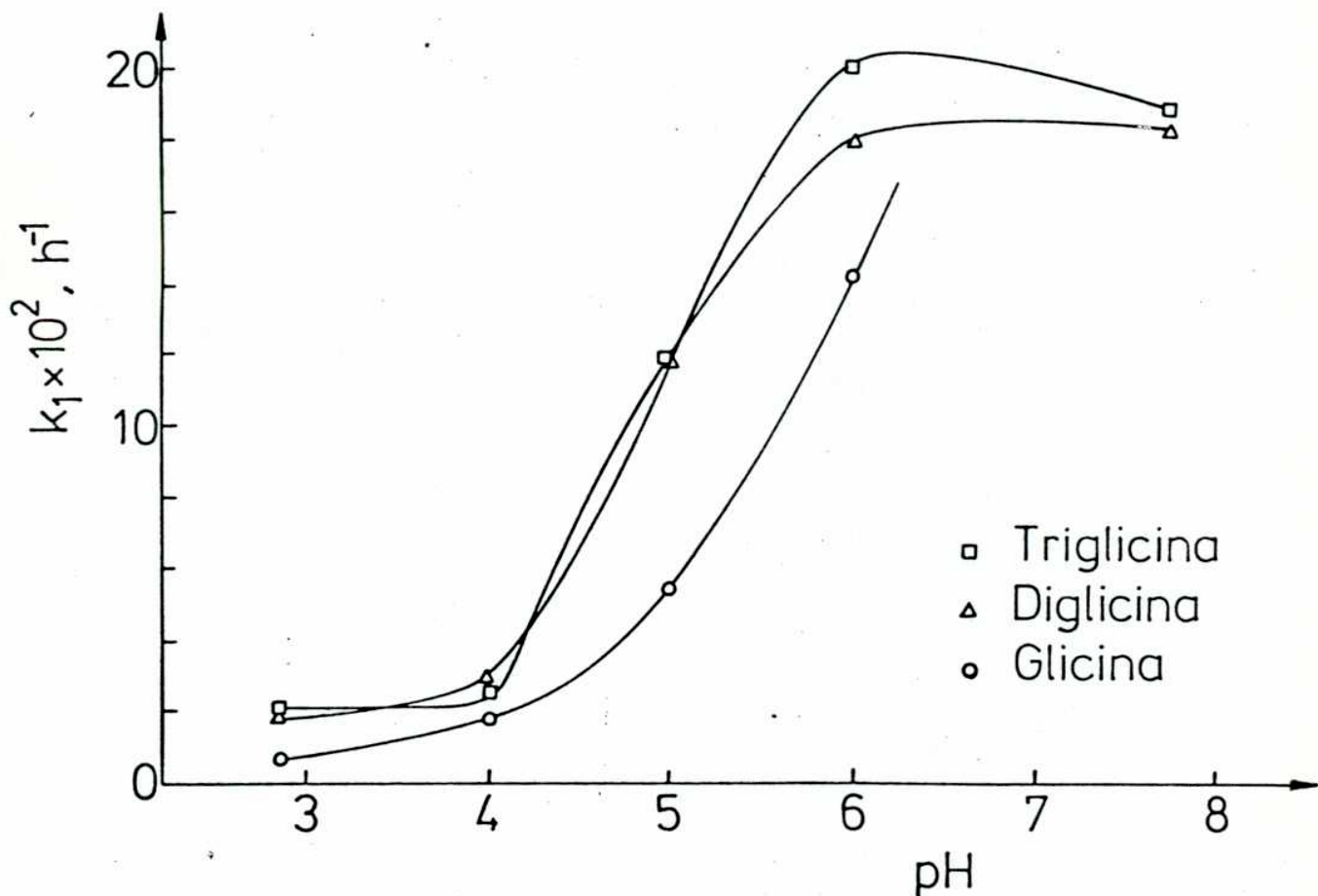
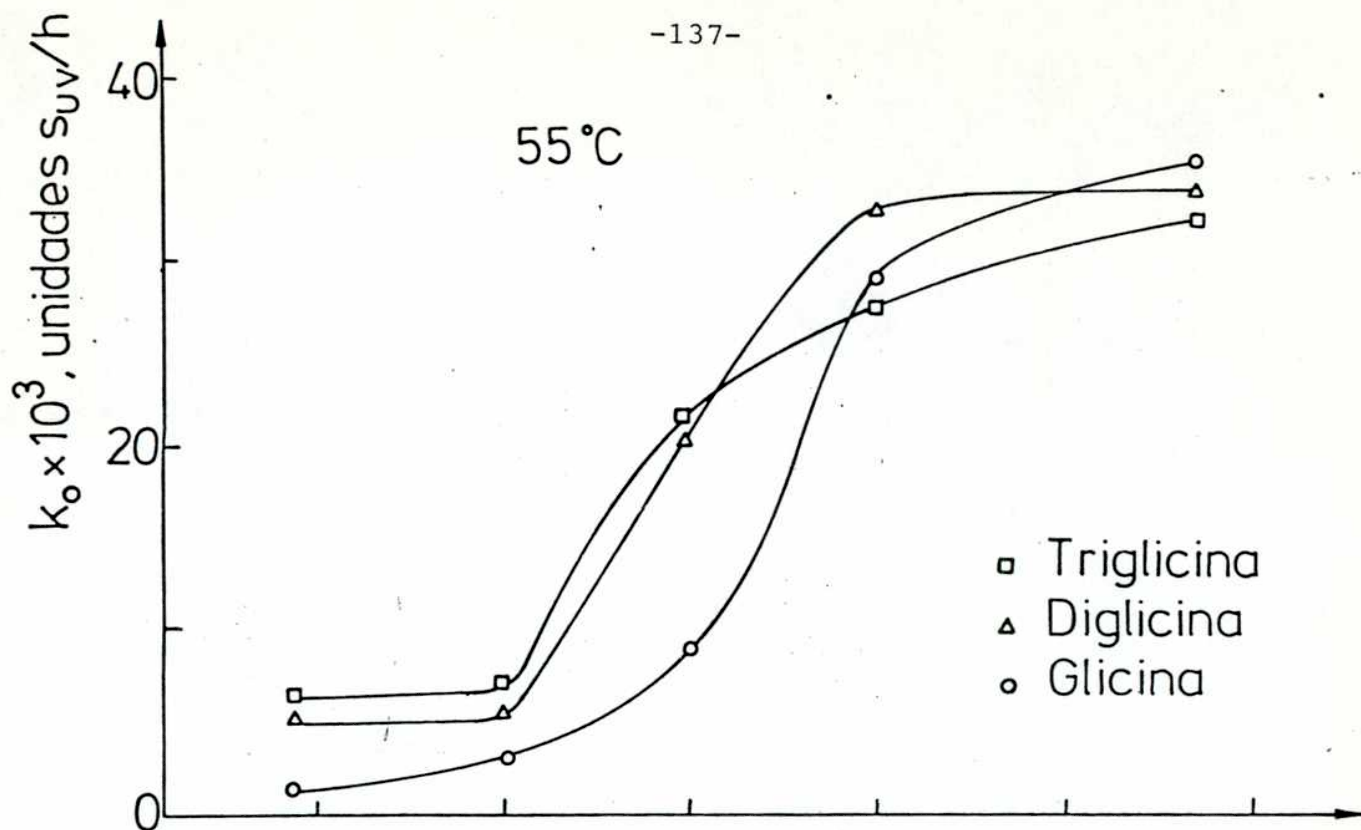
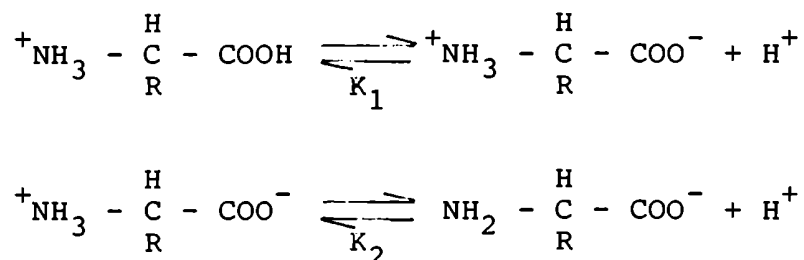


Figura 34: Efecto del pH sobre las constantes de velocidad para el desarrollo de pardeamiento en soluciones de glicina o péptidos

soluciones de glicina.

Generalmente se aceptó que el orden de velocidad de pardeamiento en los amino-compuestos era aminoácido > péptido > proteína (Chuyen y col., 1973). Sin embargo, Motai (1973) observó que en general, a pH = 5 los péptidos causaban mayor pardeamiento que los aminoácidos. Los aminoácidos y péptidos reaccionan con los compuestos carbonílicos en su forma aniónica (Chuyen y col., 1973; Reynolds, 1969).

Cuando un aminoácido o péptido se disuelve en agua, se establecen los siguientes equilibrios:



Predominará una u otra especie de acuerdo con los valores de  $K_1$  y  $K_2$ , y además de acuerdo con el pH del medio.

En la Tabla 13 se muestran los valores de  $\text{p}K_1$  ( $-\log K_1$ ) y  $\text{p}K_2$  ( $-\log K_2$ ) de glicina, diglicina y triglicina, así como también el valor de pH del punto isoeléctrico ( $\text{pH}_i$ ) que corresponde al pH para el cual la molécula no posee carga eléctrica neta y no

Tabla 13

Valores de  $pK_1$ ,  $pK_2$  y  $pH_i$  para glicina y sus péptidos (Lehninger, 1972)

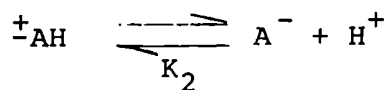
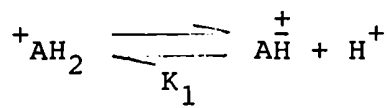
	$pK_1$	$pK_2$	$pH_i$
Glicina	2,34	9,6	5,97
Diglicina	3,06	8,13	5,59
Triglicina	3,26	7,91	5,58

se desplaza en un campo eléctrico (El  $pH_i$  puede calcularse a partir de los valores de  $pK_1$  y  $pK_2$ :  $pH_i = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2)$ ) (Lehninger, 1972)).

A valores de pH por debajo del punto isoeléctrico, los amino compuestos que tengan menor valor de  $pK_2$  tendrán mayor concentración de especies reactivas y promoverán más pardeamiento y por lo tanto el orden de reactividad sería coincidente con el obtenido para la velocidad de pardeamiento al comparar glicina con los péptidos a pH menor que 6 (Figura 34).

Conociendo los valores de  $K_1$  y  $K_2$  para los equilibrios citados, se puede hallar el valor de la concentración de la especie aniónica (que es la reactiva en la etapa inicial) a un determinado pH, mediante el siguiente razonamiento:

Si se esquematiza a los equilibrios



$$C = [A^+H_2] + [A^+H] + [A^-]$$

donde C es la concentración molar del compuesto aminoácido o péptido que se incorporó a la solución.

///

$$K_2 = \frac{[A^-][H^+]}{[A^+H]} \quad A^+H = \frac{[A^-][H^+]}{K_2}$$

$$K_1 \cdot K_2 = \frac{[A^-][H^+]^2}{[A^+H_2]} \quad A^+H_2 = \frac{[A^-][H^+]^2}{K_1 \cdot K_2}$$

Reemplazando

$$C = \frac{A^- [H^+]^2}{K_1 \cdot K_2} + \frac{[A^-][H^+]}{K_2} + A^-$$

de donde:

$$[A^-] = \frac{C}{1 + \frac{[H^+]^2}{K_1 \cdot K_2} + \frac{[H^+]}{K_2}}$$

La Figura 35 muestra que si se tiene en cuenta la concentración de la forma iónica  $[A^-]$ , que como se dijo juega un papel muy importante en los primeros pasos de la reacción, la relación  $k_0/[A^-]$  disminuye al aumentar el número de unidades de glicina. Para la relación  $k_1/[A^-]$  se obtiene el mismo tipo de gráfico.

Este efecto fue verificado experimentalmente llevando a

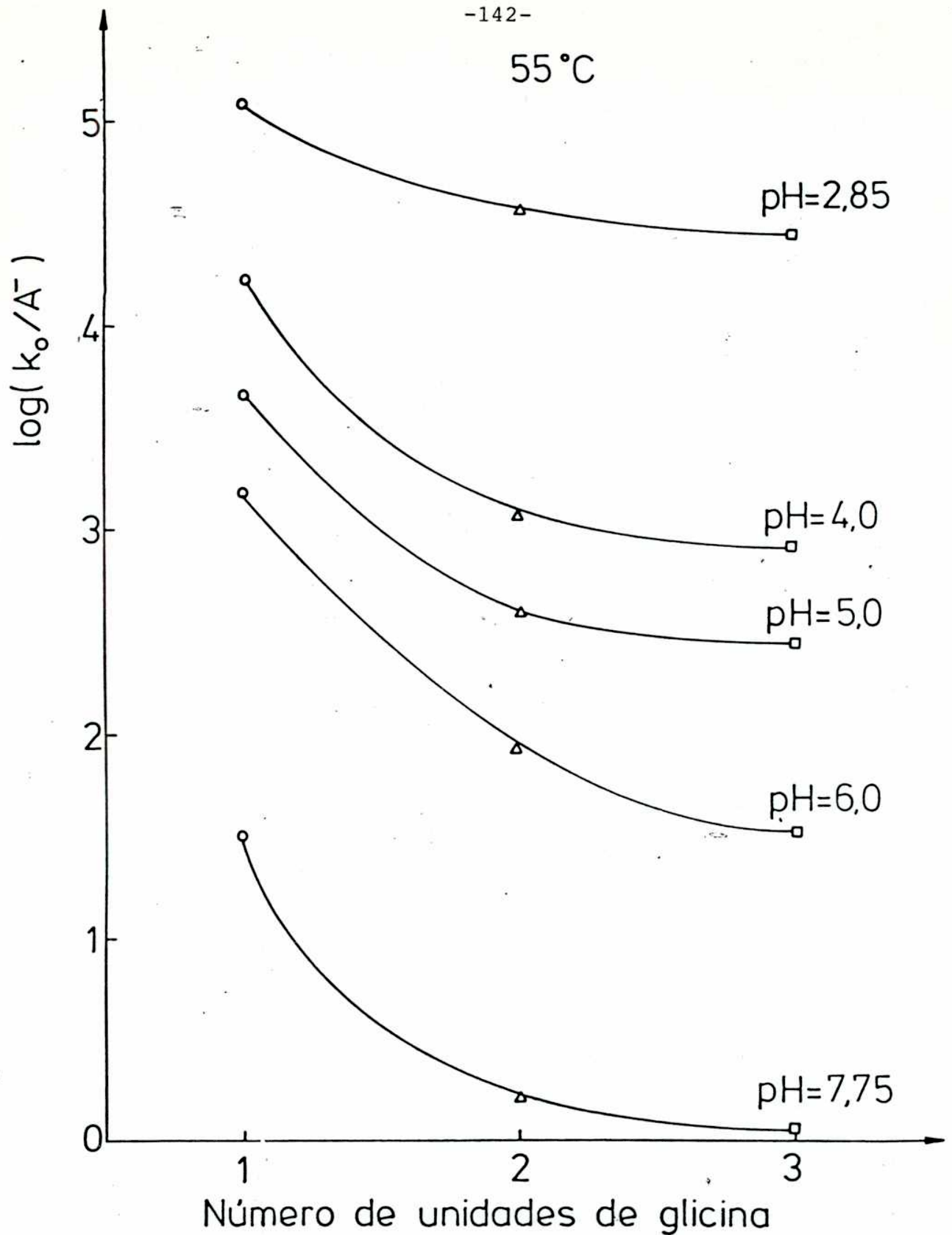


Figura 35: Efecto del número de unidades de glicina de la cadena peptídica sobre la constante  $k_0$  (normalizada respecto de la concentración aniónica) para los distintos pH

cabo experimentos a una concentración aniónica constante,  $[A^-] = 1,67 \times 10^{-5} M$ . Los datos figuran en la Tabla 14.

La Figura 36 muestra que a igual concentración aniónica del péptido o glicina a  $pH = 5$  o a  $pH = 6$  la constante de velocidad  $k_0$  decrece al aumentar el número de unidades de glicina. Esto puede atribuirse al tamaño de la molécula. Para las constantes  $k_1$  se verifica el mismo efecto (Ver Tabla 14).

Por otra parte, algunos autores han informado que durante la reacción de péptidos con compuestos carbonílicos, ocurre una ruptura del enlace peptídico a través de una reacción iónica (Chuyen y col., 1973), llevando a la liberación de aminoácidos (Hashiba, 1975).

Es de hacer notar que a semejanza de un grupo amido simple, el enlace peptídico muestra un elevado grado de estabilización por resonancia, y por lo tanto es difícil que se produzca la ruptura del enlace peptídico en condiciones moderadas (Lehninger, 1972). Hashiba (1975) observó que cuando una solución que contenía diglicina (a  $pH = 5$ ) se conservaba a  $50^\circ C$  por 1 mes, no se detectaba después de ese tiempo ningún otro compuesto aparte del péptido, y sólo ocurría la degradación después de tres meses. Pero si agregaba glucosa a la solución, en dos semanas a  $37^\circ C$  se producía la liberación de glicina (detectada por medio de un analizador de aminoácidos) por la ruptura del enlace peptí-

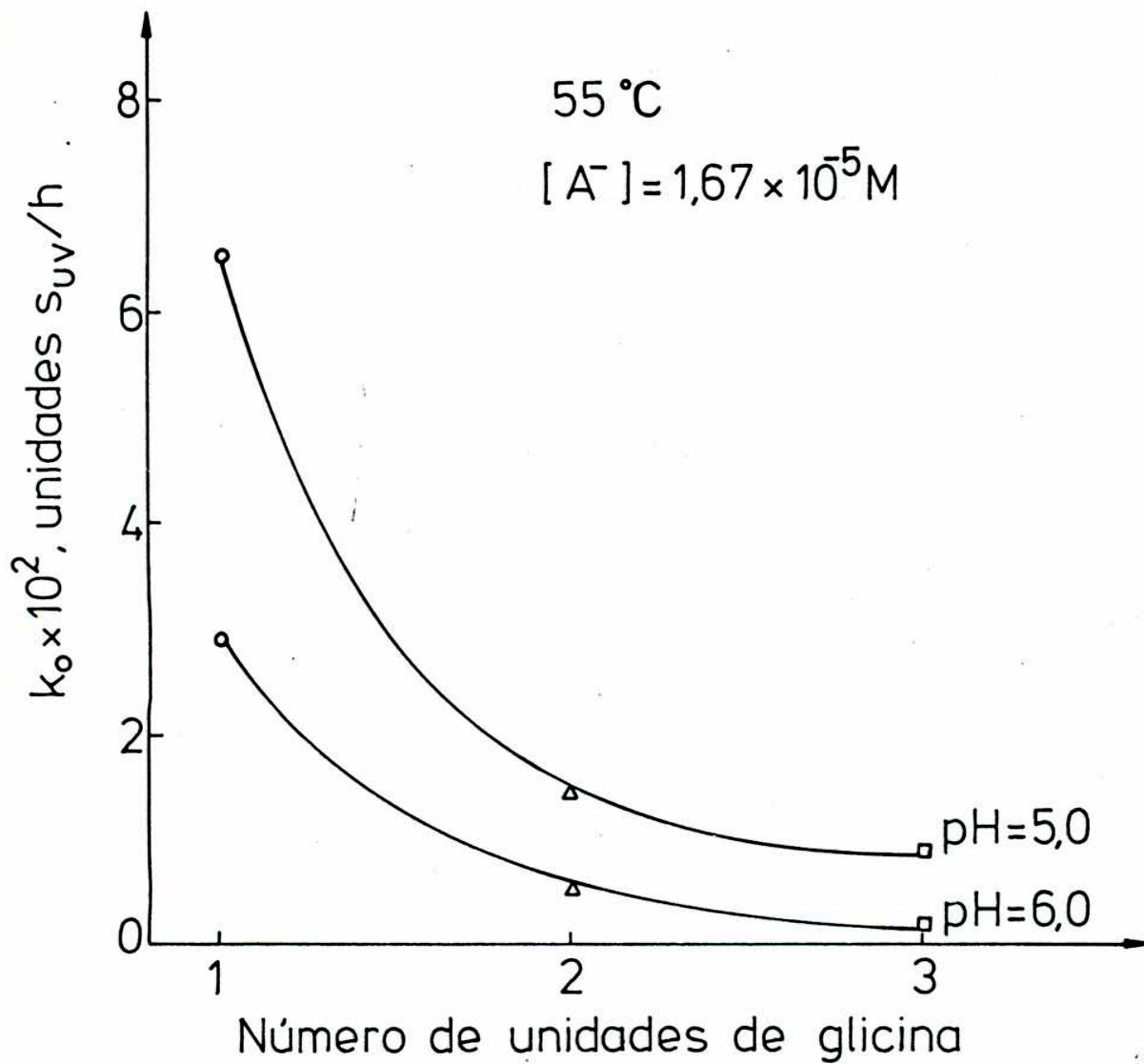


Figura 36: Efecto del número de unidades de glicina de la cadena peptídica sobre la constante  $k_0$ , en soluciones de concentración aniónica  $1,67 \times 10^{-5} M$



Tabla 14

Constantes de velocidad (según ecuación (8)) para el desarrollo de color en soluciones de glucosa-glicina o glucosa-péptidos, de concentración aniónica del amino-compuesto =  $1,67 \times 10^{-5} \text{M}$  en todos los sistemas ( $T = 55^\circ\text{C}$ ;  $a_w = 0,90$ )

Compuesto	pH	$k_0 \times 10^2$	$k_1 \times 10^2$
Glicina	5	6,57	30,6
	6	2,95	13,8
Diglicina	5	1,42	13,9
	6	0,54	11,7
Triglicina	5	0,97	12,0
	6	0,20	11,7

dico durante la reacción de pardeamiento.

La Figura 37 muestra una cromatografía en placa delgada de algunas de las muestras analizadas. Los péptidos tienen un  $R_f$  menor que el de glicina, pero a medida que se desarrolla el pardeamiento en las soluciones de glicina y triglicina, aparece un producto de  $R_f$  más cercano al de glicina, lo que sugiere que existiría una ruptura del enlace peptídico. Esto ocurre tanto a  $pH=4$  como a 7,75.

Para  $pH$  por encima del punto isoeléctrico del amino-compuesto, la concentración de la forma aniónica no es un factor limitante, pero la forma salina (protonada) del mismo, que es requerida en una etapa posterior de la reacción (Reynolds, 1969), puede convertirse en el factor limitante. Esto solapa el efecto de la ruptura del enlace peptídico que tiene lugar aún a estos  $pH$ .

En síntesis, a  $pH$  por debajo del punto isoeléctrico los péptidos desarrollan mayor velocidad de pardeamiento que el aminoácido porque:

- a) Tienen mayor concentración de forma aniónica (a un dado  $pH$ ) debido a que tienen menor  $pK_2$ .
- b) La escisión del enlace peptídico aumentaría la concentración de grupos reactivos.

Y a  $pH$  por encima del punto isoeléctrico el aminoácido

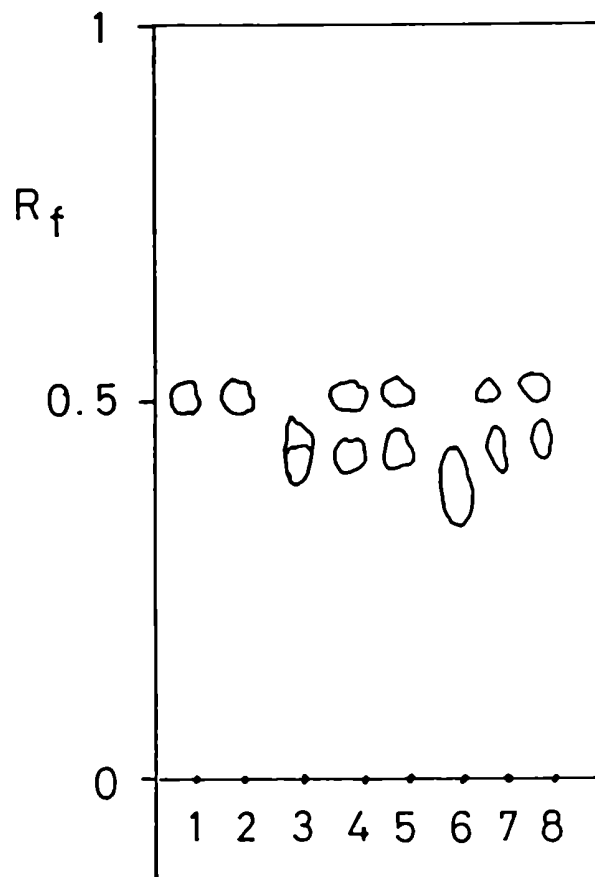


Figura 37: Cromatograma en placa delgada de soluciones de glucosa-glicina, glucosa-diglicina y glucosa-triglicina, bajo distintas condiciones

- (1) Glucosa-glicina a tiempo = 0 (pH = 4,0)
- (2) Glucosa-glicina tratada a 55°C (pH = 4,0)
- (3) Glucosa-diglicina a tiempo = 0 (pH = 4,0)
- (4) Glucosa-diglicina tratada a 55°C (pH = 4,0)
- (5) Glucosa-diglicina tratada a 55°C (pH = 7,75)
- (6) Glucosa-triglicina a tiempo = 0 (pH = 4,0)
- (7) Glucosa-triglicina tratada a 55°C (pH = 4,0)
- (8) Glucosa-triglicina tratada a 55°C (pH = 7,75)

desarrolla mayor velocidad de pardeamiento porque:

- a) La concentración de forma aniónica ya no es un factor limitante y sí lo es la concentración de forma salina, que es mayor para glicina, que tiene mayor  $K_1$ .
- b) Probablemente hay un efecto del tamaño de la molécula que se suma al efecto anterior.

Ambos efectos solaparían el hecho de que a pH por encima del punto isoeléctrico también se produce ruptura del enlace peptídico.

El efecto probable del tamaño de la molécula se pone de manifiesto al trabajar a pH constante y a concentración aniónica constante, con lo cual se observa que al aumentar el tamaño de la molécula disminuye la velocidad de pardeamiento.

#### 4.5. Efecto del sorbato de potasio sobre la cinética de la reacción glucosa-glicina

Los sorbatos tienen una participación importante en el desarrollo de alimentos estables de humedad alta o intermedia. La actividad acuosa de estos alimentos es lo suficientemente baja como para controlar el crecimiento bacteriano, pero no el de hongos y levaduras, por lo tanto el sorbato se usa como un agente antimicro-

tico muy efectivo (Ericksson, 1982). Se lo utiliza en una gran variedad de alimentos (quesos, vinos, jugos de fruta, mayonesa), en concentraciones de 0,02 a 0,3% de sorbato de potasio (Sofos y Busta, 1981).

Algunas publicaciones recientes, sugirieron que el ácido sórbico podría participar en las reacciones de pardeamiento no enzimático (Seow y Cheah, 1985; Vidyasagar y Arya, 1984), por lo tanto se encaró el estudio del efecto del agregado de sorbato de potasio sobre la velocidad de pardeamiento de soluciones de glucosaglicina tratadas a 55°C en el rango de altas  $a_w$ .

El ácido sórbico (trans-trans-2-4 hexadienoico) y su sal de potasio son las formas más utilizadas de los compuestos que reciben colectivamente el nombre de sorbatos. La baja solubilidad en agua es una desventaja del ácido sórbico. A 25°C la solubilidad del ácido en agua es 0,16% y la del sorbato de potasio es mayor del 50%, de ahí la mayor aplicabilidad de este último compuesto (Sofos y Busta, 1981).

A pesar de que la forma disociada (aniónica) del ácido sórbico presenta efecto antimicrobiano, (Eklund, 1983), la concentración de la forma no disociada es la que tiene mayor actividad inhibitoria (un orden mayor), y ésta depende fuertemente del pH. El ácido sórbico es más efectivo a valores de pH próximos a su constante de disociación ( $pK_a$ ), que es 4,75, y por lo tanto tiene mayor

actividad en alimentos de bajos pH , y el pH máximo en que puede actuar es alrededor de 6,0-6,5 (Sofos y Busta, 1981).

Las concentraciones de sorbato de potasio empleadas en este trabajo oscilaron entre 0,1 y 0,3% (p/vol), que corresponde a  $2,74 \times 10^{-2}$  y  $8,2 \times 10^{-2}$ %, respectivamente, de la forma no disociada del ácido, calculada a través de su constante de disociación, para pH = 5,0.

La Figura 38 muestra el efecto de la adición de diferentes cantidades de sorbato de potasio sobre el desarrollo de color en muestras de glucosa-glicina de pH = 5 tratadas a 55°C. El agregado de sorbato de potasio aumenta la velocidad de desarrollo de color y este efecto es particularmente importante en el nivel de 0,3% (p/v) de sorbato de potasio, que es cercano al límite superior de las concentraciones típicamente usadas en alimentos.

Se les dio el mismo tratamiento térmico a muestras del mismo pH que contenían sólo 0,3% de sorbato de potasio (sin glucosa ni glicina) pero no se observó pardeamiento luego de 500 h de calentamiento.

Sin embargo, si se agregaban glucosa o glicina (separadamente) se detectaba pardeamiento (Figura 38) pero sólo después de tiempos relativamente prolongados. El efecto acelerador del sorbato sobre la caramelización de glucosa podría explicarse por el efec-

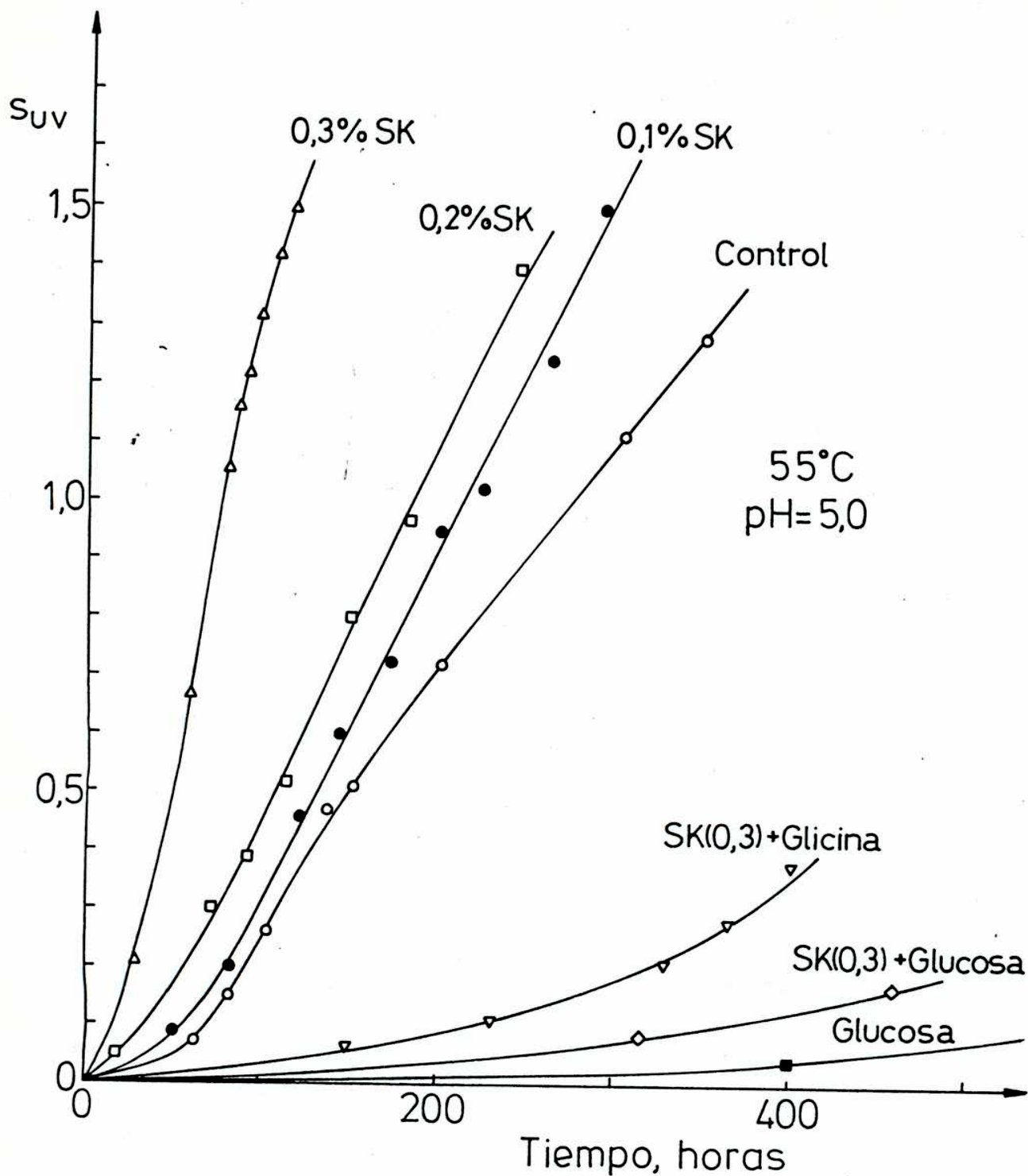


Figura 38: Efecto del sorbato de potasio (SK) sobre la velocidad de formación de color en un sistema glucosa-glicina de  $a_w = 0,90$

to catalítico que producen ciertos aniones en las reacciones de caramelización (Saunders y Jervis, 1966).

Por ser un ácido diinsaturado, el ácido sórbico puede degradarse por autooxidación para dar compuestos carbonílicos, como malonaldehído, que puede entrar en la reacción de Maillard (Arya, 1980; Seow y Cheah, 1985).

La determinación cuantitativa de ácido sórbico en sistemas modelo glucosa-glicina tratados a 55°C durante 140 h reveló que habían ocurrido importantes pérdidas.

Las muestras que contenían 0,3 y 0,1% de sorbato inicialmente, perdieron 47 y 35% de su contenido en ácido sórbico, respectivamente, lo que indica que paralelamente al desarrollo del color ocurre una notoria degradación de ácido sórbico, por lo que puede hacerse inefectivo a medida que progresa el tiempo de almacenamiento.

De acuerdo con el esquema de la reacción de Maillard, el efecto acelerador del sorbato sobre la reacción de pardeamiento de glucosa-glicina, puede deberse a la formación de compuestos carbonílicos que reaccionan con grupos amino. Sin embargo, esto no es suficiente para explicar el fuerte efecto acelerador del sorbato de potasio. Como se muestra en la Figura 38, la moderada intensidad de pardeamiento que se desarrolla en las soluciones de sorbato-glicina no justifica el efecto observado cuando el sorbato se



calienta junto con glucosa y glicina (muy notorio en la concentración de 0,3% de sorbato de potasio), lo que hace suponer un efecto acelerador intrínseco.

## 5. CONCLUSIONES

A partir del estudio cinético del pardeamiento (seguido por el aumento de saturación métrica ( $s_{uv}$ ) en sistemas líquidos de  $a_w = 0,90$  y bajo distintas condiciones de almacenamiento, en los que la formación de color se produjo a causa de dos tipos de reacciones complejas (caramelización y Maillard), se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- En la mayoría de los casos los datos experimentales se ajustaron a un modelo cinético de orden mixto, en el que se consideraron las contribuciones independientes de órdenes 0 y 1, y por lo tanto se obtuvieron dos constantes de velocidad para cada una de estas curvas. En los casos restantes se aplicó satisfactoriamente un modelo más sencillo de orden cero.
- Las soluciones de azúcares diluídos (5-10%) tratados a temperaturas que corresponden a condiciones de almacenamiento acelerado (45-65°C) se pardean significativamente, aún en ausencia de aminoácidos u otros portadores de grupos amino.  
En esas condiciones, fructosa y xilosa se pardean mucho más rápidamente que maltosa, glucosa o lactosa. Estas observaciones sugieren que la velocidad de desarrollo de color en estos siste-

mas está relacionada con la estabilidad estructural relativa de los azúcares, ya que la velocidad de las primeras etapas (mutarrotación, apertura del anillo hemiacetálico y enolización) son proporcionales a la velocidad con que se desarrolla el color.

- Sin embargo, para los sistemas azúcar-glicina la velocidad de formación de color no está directamente relacionada con la estabilidad estructural de los azúcares. Esto se debe a que los intermediarios reactivos que forman las aldosas alteran la secuencia de reacción acelerando mucho las primeras etapas, y esto determina su alta velocidad de pardeamiento. A pH menor que 5 la velocidad de formación de color es mayor para la fructosa que para la glucosa, probablemente debido a que está favorecida la formación de 5-hidroximetilfurfural a partir de la primera.
  
- La disminución de pH inhibe fuertemente el pardeamiento de azúcares reductores, tanto el debido a reacciones de caramelización, como el producido durante la reacción de Maillard, ya que la transformación del azúcar de la forma cíclica a la abierta (que es la reactiva) se incrementa a medida que aumenta el pH. El grado de disminución de la velocidad de pardeamiento al decrecer el pH fue mayor para las reacciones de caramelización.

///

- Durante ambos tipos de reacciones de pardeamiento estudiadas, se produjo la hidrólisis de sacarosa, que en los dos casos siguió una cinética de orden uno. Las constantes de hidrólisis aumentan a medida que el pH disminuye de 6 a 4, y por eso en los sistemas que contienen sacarosa la reducción de pH tiene dos efectos superpuestos: la generación de fructosa por hidrólisis facilita el desarrollo de color pero al mismo tiempo la disminución de pH inhibe fuertemente el pardeamiento.
- Como las reacciones que conducen a pardeamiento no enzimático requieren la presencia de grupos carbonilo libres en los azúcares, se considera que en ciertos casos es posible prevenir el pardeamiento de productos alimenticios usando sacarosa, en vez de azúcares reductores, siempre que las condiciones no favorezcan la inversión en el producto durante su almacenamiento (Hodge y Osman, 1976; Braverman, 1969). Según los resultados obtenidos en el presente trabajo, en ausencia de aminoácidos la sacarosa se muestra menos reactiva que el resto de los azúcares a partir de pH 6 en adelante, y en presencia de glicina a pH mayor que 4,5.
- A pH menor que 6 en ausencia de aminoácidos y menor que 4,5 en presencia de glicina, de los azúcares analizados la glucosa fue el que mostró menor velocidad de formación de color.

- En los sistemas que contenían glicina la velocidad de hidrólisis de sacarosa fue mayor, probablemente debido al consumo de los productos de esta reacción en la reacción de Maillard y al efecto intrínseco del aminoácido sobre la hidrólisis.
- La temperatura tiene un efecto muy marcado en ambos tipos de pardeamiento estudiados, pero es más notorio aún en las reacciones de caramelización, debido a que los amino-compuestos pueden considerarse agentes catalíticos, por estabilizar la forma reactiva del azúcar. En el caso de fructosa esta acción catalítica es menos notoria (porque este azúcar de por sí tiene mayor concentración de forma reactiva (lo que favorece su caramelización), y además porque sus intermediarios aminados no son tan reactivos como los de las aldosas), y esto lleva a un cambio muy pequeño en la energía de activación cuando se agrega glicina.
- En el caso de las soluciones glucosa-péptidos las energías de activación para las constantes  $k_0$  fueron similares, aunque algo mayores que las correspondientes a glicina, pero para las constantes  $k_1$  fueron significativamente menores para los péptidos, sin embargo, pudo establecerse que la velocidad de desarrollo de color para el sistema glucosa-glicina fue algo más dependiente de la temperatura que los sistemas glucosa-péptidos.

- La contribución relativa de la caramelización al pardeamiento total en las soluciones azúcar-glicina depende del tipo de azúcar, del pH y de la temperatura. Para todos los azúcares esta contribución es mayor a pH = 6 que a pH = 4. Es importante sobre todo en las soluciones fructosa-glicina y también en las de sacarosa-glicina, pero puede despreciarse en el caso de las soluciones glucosa-glicina.

A temperaturas elevadas la contribución relativa de la caramelización está acentuada debido a que la dependencia con la temperatura es mayor para las soluciones de azúcares solos.

- En el caso del pardeamiento de las soluciones glucosa-péptidos, comparado con el de las soluciones glucosa-glicina, juegan un papel muy importante las constantes de disociación de los amino-compuestos que determinan la concentración de especie reactiva (aniónica). A pH menor que el punto isoeléctrico (que es cercano a seis tanto para el aminoácido como para los péptidos) las constantes de velocidad  $k_0$  y  $k_1$  para el pardeamiento de péptidos son mayores que las correspondientes a glicina y a pH mayor que 6 se observa el efecto opuesto. Por lo tanto, a los pH más normalmente hallados en alimentos (> 6), se podría decir que los péptidos son más reactivos que el aminoácido.

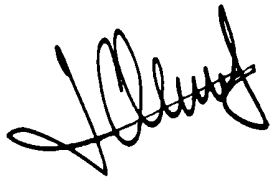
///

- A concentración de forma aniónica constante y pH constante las constantes de velocidad disminuyen al aumentar el número de unidades de glicina de la cadena peptídica, probablemente debido al efecto del tamaño de la molécula. Otro factor que influye en la mayor reactividad de los péptidos con respecto a glicina es la generación de grupos reactivos por la ruptura del enlace peptídico que ocurre durante el pardeamiento, como se determinó por cromatografía en capa delgada, lo que ocurre tanto a pH = 4 como a pH = 7,75.
- La adición de sorbato de potasio aumenta la velocidad de formación de color en el sistema glucosa-glicina, probablemente debido a la formación de compuestos carbonílicos, por degradación del ácido sórbico, que reaccionan con grupos amino. Este efecto acelerante es particularmente importante en el nivel de 0,3% de sorbato de potasio (que es cercano al nivel máximo de incorporación permitido en alimentos). Paralelamente a la formación de color hay importantes pérdidas de ácido sórbico (debidas a su degradación), que podrían determinar su ineffectividad como agente antimicrobiano a largos tiempos de almacenamiento.

La tendencia al pardeamiento es uno de los muchos aspectos a tener en cuenta en la selección del azúcar empleado en la formu-

lación de un alimento (además de otros como dulzura relativa, sabor específico, solubilidad, densidad de los jarabes, etc.). La calidad del producto final dependerá también en forma significativa de otras variables, como acidez del medio,  $a_w$ , presencia de otros componentes y temperaturas y tiempos a los que deba estar sometido.

Los resultados hallados permiten establecer ciertas pautas para seleccionar las condiciones operativas durante la formulación, procesamiento y almacenamiento de alimentos de altas actividades de agua con el fin de minimizar el pardeamiento no enzimático.



Dr. Jorge Chirife



Lic. María del Pilar Buera



6. BIBLIOGRAFIA

- AOAC Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists, Washington, 1980, 20.098:337.
- Arya, S.S., 1980. Stability of sorbic acid in aqueous solutions. J. Agric. Food Chem. 28: 1246.
- Ashoor, S.H. y Zent, J.B., 1984. Maillard Browning of Common aminoacids and sugars. J. Food Sci. 49: 1206.
- Beacham, H.H. y Dull, M.F., 1951. Food Research 16: 439. De Ellis, G.P., 1959: The Maillard reaction Adv. in Carbohyd. Chem. 14: 63.
- Benmergui, E.A.; Ferro Fontán, C. y Chirife, J., 1979. The prediction of water activity of aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. 1.  $a_w$  prediction in single aqueous strong electrolyte solutions. J. Food Technol. 14: 625.
- Bobbio, P.A.; Bobbio, F.O. y Trevisan, L.M., 1973. Estudos sobre a reacao de Maillard. I. Efeitos da temperatura e do pH. An. Acad. Brasil. Cienc. 45: 419.
- Braverman, J.B.S., 1969. Non-enzymatic browning. En: Introduction to the biochemistry of Foods Cap. 20.

- Brobst, K.M. y Lott, C.E., 1966. Determination of some components in corn syrup by gas-liquid chromatography of the trimethylsilyl derivatives. Cereal Chem. 43: 35.
- Buera, M.P.; Lozano, R.D. y Petriella, C., 1986. Definition of colour in the non-enzymatic process. Die Farbe (en prensa).
- Bunton, C.A.; Ley, J.B.; Rhind-Tutt, A.J. y Vernon, C.A., 1957. The  $H_0$  acidity function in aqueous dioxane and in methanol. J. Chem. Soc. 5: 2327.
- Burton, H.S. y Mc Weeny, D.J., 1963. Non-enzymatic browning reactions: consideration of sugar stability. Nature 197: 266.
- Burton, H.S.; Mc Weeny, D.J. y Biltcliffe, D.O., 1963. Non-enzymatic browning. Development of chromophores in the glucose-glycine and sucrose-glycine systems. J. Fd. Sci. 28: 631.
- Cantor, S.M. y Peniston, Q.P., 1940. The reduction of aldoses at the dropping mercury cathode: estimation of the aldehyde structure in aqueous solutions. J. Am. Chem. Soc. 62: 2113.
- Cerrutti, P.; Resnik, S.L.; Seldes, A. y Ferro Fontán, C., 1985. Kinetics of deteriorative reactions in model food systems of high water activity: glucose loss, 5-hydroxymethylfurfural accumulation and fluorescence development due to non-enzymatic browning. J.

Food Sci. 50: 627.

- Corry, J.E.L., 1971. The water relations and heat resistance of microorganisms. B.F.M.I.R.A. Scientifical and Technical Surveys N° 73.
- Chio, S. y Tappel, A.L., 1969. Synthesis and characterization of fluorescent products derived from malonaldehyde and aminoacids. Biochemistry 8: 2821.
- Chirife, J., 1978. Prediction of water activity in intermediate moisture foods. J. Food Technol. 13: 417.
- Chirife, J.; Favetto, G. y Scorza, O.L., 1984. Meat preservation by lowering of water activity. Internal report. Departamento de Industrias. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires, Argentina.
- Chirife, J.; Favetto, G.; Ferro Fontán, C. and Resnik, S.L., 1983. The water activity of standard saturated salt solutions in the range of intermediate moisture foods. Lebensmittel-wiss u. technol. 16: 36.
- Chirife, J. y Ferro Fontán, C., 1980. Prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. 5. Experimental investigations of the  $a_w$  lowering behavior

of sodium lactate and some related compounds. J. Food Sci. 45: 802.

- Chirife, J.; Ferro Fontán, C. y Benmergui, E.A., 1980. The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. 4.  $a_w$  prediction in aqueous non-electrolyte solutions. J. Food Technol. 15: 59.
- Chuyen, N.V.; Kurata, T. y Fujimaki, M., 1973. Studies on the reaction of dipeptides with glyoxal. Agric. Biol. Chem. 37: 327.
- Delahay, P. y Strassner, J.E., 1952. A polarographic study of the kinetics of the ring-aldehyde transformation for various aldoses. J. Am. Chem. Soc. 74: 893.
- Eichner, K. y Karel, M., 1972. The influence of water content and water activity on the sugar-amino browning reactions in model systems under various conditions. J. Agr. Food Chem. 20: 218.
- Eklund, T., 1983. The antimicrobial effect of dissociated and undissociated sorbic acid at different pH levels. J. of Applied Bacteriology, 54: 383.
- Ellis, G.P., 1959. The Maillard Reaction. Adv. Carbohydr. Chem. 14: 63.

- Engliş, D.T. y Dykins, F.A., 1931. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 3: 17. De: Ellis, G.P., 1959. The Maillard Reaction Adv. Carbohydr. Chem. 14: 63.
  
- Ericksson, L.E., 1982. Recent developments in intermediate moisture foods. J. Food Prot. 45: 484.
  
- Favetto, G.; Resnik, S.L.; Chirife, J. and Ferro Fontán, C., 1983. Statistical evaluation of water activity measurement obtained with the Vaisala Humicap humidity meter. J. Food Sci. 48: 534.
  
- Ferro Fontán, C.; Chirife, J. and Benmergui, E.A., 1979. The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. I.  $a_w$  prediction in single aqueous electrolyte solutions. J. Fd. Technol. 14: 625.
  
- Flink, J.M., 1978. Intermediate moisture food product in the American marketplace. J. of Food Process and Preserv. 2: 324.
  
- Fox, M. y Loncin, M., 1982. Investigation into the microbiological stability of water-rich foods processed by a combination of methods. Lebensm.-Wiss.u.-Technol. 15: 321.
  
- Frankel, M. y Katchalsky, A., 1937. The interaction of  $\alpha$ -amino-

acids and peptides with sugars in aqueous solutions. Biochem. J. 31: 1595.

- Frankel, M. y Katchalsky, A., 1938. The time factor in the interaction of amino-acids with sugars. Biochem. J. 32: 1904.
- Frankel, M. y Katchalsky, A., 1941 a. Interaction of aldoses with  $\alpha$ -amino-acids on peptides. 4. The percentage combination. Biochem. J. 35: 1028.
- Frankel, M. y Katchalsky, A., 1941 b. Interaction of aldoses with  $\alpha$ -amino-acids or peptides. 5. Continuous back titration of system to its initial pH. Biochem. J. 35: 1034.
- Gerschenson, L.N.; Alzamora, S.M. y Chirife, J., 1986. Stability of sorbic acid in model food systems of reduced water activity. I. Sugar solutions. J. Food Sci. En prensa.
- Hammnet, L.P. y Paul, M.A., 1934. Reaction between the rates of some acid catalyzed reactions and acidity function  $H_0$ . J. Am. Chem. Soc. 56: 830.
- Hashiba, H., 1975. A Glucose-Diglycine condensation product participating in oxygen-dependent browning. Agric. Food Chem. 23: 539.

///

- Hashiba, H., 1976. Participation of Amadori rearrangement products and carbonyl compounds in oxygen-dependent browning of soy sauce. *Agric. Food. Chem.* 24: 70.
- Hashiba, H., 1982. The browning reaction of Amadori compounds derived from various sugars. *Agric. Biol. Chem.* 46: 547.
- Haugaard, G. y Tumerman, L., 1956. Reaction of aldoses with amino-compounds. *Arch. Biochem. Biophys.* 65: 86.
- Haugaard, G.; Tumerman, L. y Silvestri, H., 1951. A study on the reaction of aldoses and aminoacids. *J. Am. Chem. Soc.* 73: 4594.
- Heatherbell, D.A., 1974. Rapid concurrent analysis of fruit sugars and acids by gas-liquid chromatography. *J. Sci. Fd. Agric.* 25: 1095.
- Heildebaugh, N. y Karel, M., 1975. Intermediate moisture food technology, en: "Freeze Drying and Advanced Food Technology". Ed. S.A. Goldblith, L. Rey y W.W. Rothmayr. Academic Press, p. 619.
- Heiss, R. y Eichner, K., 1984. Cap. II. Chemische Veränderungen von Lebensmitteln bei der Verarbeitung und Lagerung und deren Vermeidung. En: *Haltbarmarchen von Lebensmitteln.* Ed. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg- New York Tokyo.

- Hodge, J.E., 1953. Chemistry of browning reactions in model systems. J. Agr. Food Chem. 1: 928.
- Hodge, J.E. y Osman, E.M., 1976. Carbohydrates, en "Principles of food Science" O.R. Fennema ed. Cap. III.
- Hunt, R.W.G., 1977. The specification of colour appearance. I. Concepts and terms. Colour Research and Applications 2: 55.
- Isbell, H.S.; Frush, H.L.; Wade, W.R. y Hunter, C.E., 1969. Transformations of sugars in alkaline solution. Carbohyd. Res. 9: 163.
- Karplow, M., 1970. Commercial development of intermediate moisture foods. Food Technol. 24: 889.
- Katchalsky, A., 1941. Interaction of aldose with  $\alpha$ -aminoacids or peptides. Biochem. J. 35: 1024.
- Kalchalsky, A. y Sharon, N., 1953. Kinetics of aldose-aminoacid interaction. Biochem.Biophys. Acta 10: 290.
- Kato, H., Nakayama, T., Sujimoto, S. y Hayase, F., 1982. Volatile and non-volatile Maillard reaction products between L-Lysine and



D-Glucose. Agric. Biol. Chem. 46: 2599.

- Kato, H.; Yamamoto, M. y Fujimaki, M., 1969. Mechanisms of browning degradation of D-Fructose in special comparison with D-Glucose-Glycine reaction. Agr. Biol. Chem. 33: 939.
- Kito, Y.; Kawakishi, S. y Namiki, M., 1981. Active products of browning reaction formed in irradiated fructose solution. Nippon Nogekagaku Kaishi 55: 583.
- Kelly, K.L., 1943. Color designations for lights. J. Res. N.B.S. 31: 271.
- Kröner, W. y Kothe, H., 1939. Discoloration of dextrose solutions. Ind. Eng. Chem. 31: 248.
- Labuza, T.P., 1980. The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. Fd. Tech. 34: 36.
- Labuza, T.P. y Saltmarch, M., 1980. The non enzymatic browning reactions affected by water in foods. En: Properties of water related to food quality and stability. p. 605-650 (L. B. Rockland y G.F. Stewart eds.) Academic Press, San Francisco.
- Labuza, T.P., Warren, R. y Warmbier, J., 1977. The physical aspects with respect to water and non-enzymatic browning. Adv.

Exp. Med. Biol. 86B, 379.

- Lamble, A. y Mc Cullagh Lewis, W.C., 1915. Studies in catalysis. Part II. The inversion of sucrose. J. Chem. Soc. 4: 233.
- Ledl, F.; Fritsch, G.; Heibl, J. y Severin, Th., 1983. Formation of reductones and amino reductones from sugars. Z. Lebensm. Unters Forsch 176: 294.
- Ledward, D.A., 1982. Intermediate moisture meats. En: "Developments in Meat Science" Ed. R. Laurie p. 159. Applied Science Pub., Ltd., England.
- Lee, C.M.; Lee, T.C. y Chichester, C.O., 1979. Kinetics of the production of biologically active Maillard browned products in apricot and glucose-L-Tryptophan. J. Agric. Food Chem. 27: 478.
- Lehninger, A.L., 1972. Bioquímica. Cap. 5: Esqueleto covalente y secuencia aminoácida. Ed. Omega S.A. Barcelona.
- Leistner, L; Rodel, W. y Krispien, K., 1981. "Microbiology of meat and meat products in high and intermediate moisture ranges. In: "Water activity: Influence of Food Quality". Ed. L.B. Rockland and G.F. Stewart p. 855. Academic Press, London New York, San Francisco.

- Lingnert, H. y Ericksson, C.E., 1980. Antioxidative Maillard reaction products. I. Products from sugars and free aminoacids. J. Food Proc. Pres. 4: 161.
- Loncin, M.; Jackmain, D.; Tutundjian Provost, A.M.; Lenges, J. P. y Bimbenet, J.J., 1965. Influence de l'eau sur les réactions de Maillard. C.R. Acad. Sc. (Paris) 260: 3208.
- Lozano, R.D., 1978. El color y su medición. Editorial América Lee, Buenos Aires.
- Lozano, R.D., 1979. Diferencias de color. Investigación y Ciencia 39: 8.
- Mathews, J.A. y Jackson, R.F., 1933. The stability of levulose in aqueous solutions of varying pH. J. Res. Nat. Bur. Stds. 11: 619.
- Mauron, J., 1981. The Maillard reaction in Food: A critical review from the nutritional standpoint. En: Progress in Food and Nutrition Science. Maillard reactions in Foods. Ed. C. Erickson 5: 5 Pergamon Press, Oxford.
- Mc Ginnis, G.D.; Prince, S.E.; Biermann, C.J. y Lawrimore, J.T., 1984. Wet oxidation of model carbohydrate compounds. Carbohydr. Res. 128: 51.

- Mizrahi, S.; Labuza, T.P. y Karel, M., 1970. Computer aided predictions of extent of browning in dehydrated cabbage. J. Food Sci. 35: 799.
- Motai, H., 1973. Color tone of various melanoidins produced from model systems. Agric. Biol. Chem. 37(7): 1679.
- Okuhara, A.; Saito, N. y Yokotsuka, T., 1970. Color of soy sauce. V. Application of multiple correlation analysis to analysis of browning mechanism. J. Ferment Technol. 48: 228.
- Okuhara, A.; Saito, N. y Yokotsuka, T., 1971. The color of soy sauce. VI. The effect of peptides on browning. J. Ferment. Technol. 3: 272.
- Overend, W.G., 1952. En "The Carbohydrates". Ed. W. Pigman. Academic Press, New York, p. 437.
- Overend, W.G.; Peacocke, A.R. y Smith, J.B., 1961. Reactions at position 1 of carbohydrates. Part I. The polarographic reduction of carbohydrates. J. Chem. Soc. : 3487.
- Patton, C.R. and Chism, P., 1951. Quantitative paper chromatography of aminoacids. An evaluation of techniques. Analytical Chemistry 23: 1683.

- Paz, O.; Janes, H.W.; Prevost, B.A. and Frenkel, C., 1982. Enhancement of fruit sensory quality by harvest applications of acetaldehyde and ethanol. J. Food Sci. 47: 270.
- Petriella, C., 1983. Cinética de la formación de color producido por reacciones de pardeamiento no enzimático en sistemas modelo acuosos a alta actividad de agua. Tesis Magister Scientiae C.I.C.
- Petriella, C.; Resnik, S.; Lozano, R.D. y Chirife, J., 1985. Kinetics of deteriorative reactions in model food systems of high water activity: color changes due to nonenzymatic browning. J. Food Sci. 50: 622.
- Resnik, S.L., 1982. Estudios de pardeamiento no enzimático en sistemas modelo líquidos. Resúmenes Ier. Simposio sobre color en alimentos. Buenos Aires, agosto de 1982.
- Resnik, S.L. y Chirife, J., 1979. Effect of moisture content and temperature on some aspect of non-enzymatic browning in dehydrated apple. J. Food Sci. 44: 601.
- Reyes, F.G.R.; Poocharoln, B. y Wrolstad, R.E., 1982. Maillard browning reaction of sugar-glycine model systems: changes in sugar concentration, color and appearance. J. Food Sci. 47: 1376.

- Reynolds, T.M., 1963. Chemistry of nonenzymic browning. I. The reaction between aldoses and amines. Adv. in Food Research 12:1.
- Reynolds, T.M., 1969. Non-enzymatic browning. Sugar amine interactions. In "Carbohydrates and their roles" Cap. 12. AVI Pub. Co. Westport, Connecticut.
- Reynolds, T.M., 1970. Flavors from nonenzymic browning reactions. Food Technol. Australia :610.
- Rooney, L.W., Salem, A. y Johnson, J.A., 1967. Studies of the carbonyl compounds produced by sugar-amino acid reactions. I. Model Systems. Cereal Chem. 44: 539.
- Ross, K.D., 1975. Estimation of water activity in intermediate moisture foods. Food Technol. 29: 26.
- Saunders, J. y Jervis, F., 1966. The role of buffer salts in non-enzymatic browning. J. Sci. Fd. Agric. 17: 245.
- Scallet, B. y Gardner, J.H., 1945. Formation of 5-hydroxymethyl-furfural from D-glucose in aqueous solution. J. Am. Chem. Soc. 67: 1934.
- Schoebel, T.; Tannenbaum, S.R. y Labuza, T.P., 1969. Reaction limited water concentration. 1. Sucrose hydrolysis. J. Food Sci.

34: 324.

- Schroeder, L.J.; Iacobellis, M. Smith, A.H., 1955. The influence of water and pH on the reaction between amino compounds and carbohydrates. J. Biol. Chem. 212: 973.
- Schwimmer, S. y Olcott, H.S., 1953. Reaction between glycine and the hexose phosphates. J. Am. Chem. Soc. 75: 4835.
- Shallenberger, R.S. y Birch, G.G., 1975. Non enzymatic browning reactions (Chap. 7) En: "Sugar Chemistry". The AVI Publishing Company Westport, Connecticut.
- Shallenberger, R.S. y Mattick, L.R., 1983. Relative stability of glucose and fructose at different acid pH. Food Chem. 12: 159.
- Seow, C.C. y Cheah, P.B., 1985. Kinetics of degradation of sorbic acid in aqueous glycerol solutions. Food Chem. 17: 95.
- Shaw, P.E.; Tatum, J.H. y Berry, R.E., 1967. Acid-catalyzed degradation of D-Fructose. Carbohyd. Res. 5: 266.
- Singh, B.; Dean, G.R. y Cantor, S.M., 1948. The role of 5-hydroxy-methyl-furfural in the discoloration of sugar solutions. J. Am. Chem. Soc. 70: 517.
- Spark, A.A., 1969. Role of aminoacids in nonenzymic browning.

J. Sci. Food Agric. 20: 308.

- Sofos, J.N. y Busta, F.F., 1981. Antimicrobial activity of sorbate. J. Food Prot. 44: 614.
- Song, P.S.; Chichester, C.O. y Stadtman, F.H., 1966. Kinetic behavior of the reaction between D-glucose and glycine. J. Fd. Sci. 31: 906.
- Song, P.S. y Chichester, C.O., 1966. Kinetic behavior and mechanism, of inhibition in the Maillard reaction. II. Mechanistic considerations in the reaction between D-glucose and glycine. J. Food Sci. 31: 914.
- Stahl, E.I., 1965. Thin layer chromatography. A laboratory handbook, p. 402. Academic Press, New York.
- Stepanenko, B.N. y Serdyus, O.G., 1950. The content of acyclic forms of various sugars in aqueous solutions. Biokhimiya 15: 155 Ch. Abstr. 44: 6769.
- Stroz, R.J., 1979. Gas-liquid chromatographic assay of D-ribose and its per (trimethylsilyl) ated oxime. Carbohyd.Res. 72: 207.
- Sugisawa, H. y Edo, H., 1966. The thermal degradation of sugars. Thermal polymerization of glucose. J. Food Sci. 31: 561.



- Sweeley, C.C.; Bentley, R.; Makita, M. y Wells, W.W., 1963. Gas-liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of sugars and related substances. J. Amer. Chem. Soc. 85: 2497.
- Talley, E.A. y Eppley, G.H., 1985. The early stages on non-enzymatic browning. Lebensm. Wiss. u. Technol 18: 281.
- Theander, O., 1981. Novel developments in caramelization. Progr. Fd. Nutr. Sci. 5: 471.
- Traitteur, H., 1951. Brawissenschaft 9: 153. De: Ellis, G.P. (1959) The Maillard Reaction. Adv. Carbohydr. Chem. 14: 63.
- Troller, J.A. y Christian, J.H.B., 1978. "Water activity and Food". Academic Press, New York.
- Vidyasagar, K. y Arya, S.S., 1984. Degradation of sorbic acid in fruit squashes and fish paste. J. Food Technol. 19: 447.
- Vukov, K., 1965. Kinetic aspects of sucrose hydrolysis. Intern. sugar J. 67: 172.
- Warmbier, H.C.; Schnickles, R.A. y Labuza, T.P., 1976a. Effect of glycerol an nonenzymatic browning in a solid intermediate moisture model food system. J. Food Sci. 41: 528.
- Warmbier, H.C.; Schnickles, R.A. y Labuza, T.P., 1976b. Non-

enzymatic browning kinetics in an intermediate moisture model system: effect of glucose to lysine ratio. J. Food Sci. 41: 981.

- Wolfrom, M.L.; Kashimura, N. y Horton, D., 1974. Factors affecting the Maillard browning reaction between sugars and amino acids. Studies on the nonenzymic browning of dehydrated orange juice. J. Agric. Food Chem. 22: 796.
- Wolfrom, M.L.; Kolb, D.K. y Langer, A.W., 1953. Chemical interactions of amino compounds and sugars. VII. pH dependency. J. Am. Chem. Soc. 75: 3471.
- Zhong, S.S.; Fan, L.T. y Wisecup, R.W., 1984. Kinetics of hydrolysis of sorghum molasses with dilute mineral acids and oxalic acid and melibiose with oxalic acid. J. Food Sci. 49: 1428.

7. TABLA DE DATOS

Carridas No. 1, 2, 3, 4. GLUCOSA

	tiempo(h)	$\lambda$	1	2	$\epsilon_{uv}$
1 pH=4 T=55°C	0.01	88.43	90.56	106.77	0.0010
	3096.00	87.40	89.94	102.60	0.0361
	4608.00	86.23	88.84	99.76	0.0536
	5520.00	85.01	87.81	95.24	0.0916
	7608.00	82.44	85.45	86.99	0.1592
	8280.00	79.90	82.92	81.27	0.1986
	10200.00	74.56	81.59	76.52	0.2413
	# 10872.00	74.43	77.38	68.25	0.3035
	11498.00	65.53	65.74	49.84	0.4453
2 pH=5 T=55°C	0.01	87.79	8.15	106.41	0.0010
	122.50	86.62	89.91	104.75	0.0267
	293.30	87.13	89.72	103.15	0.0297
	324.00	86.28	89.05	100.34	0.0517
	564.80	87.23	89.56	100.72	0.0556
	1296.00	87.04	89.43	100.64	0.0553
	2928.00	85.82	88.59	97.62	0.0771
	3534.00	84.29	87.27	92.33	0.1211
	6024.00	77.96	81.29	72.95	0.2886
	# 7186.50	72.91	76.10	60.51	0.4016
3 pH=6 T=50°C	0.01	88.26	90.43	106.22	0.0010
	19.17	87.34	90.12	104.61	0.0134
	28.92	86.73	89.38	99.99	0.0345
	36.92	85.55	88.50	95.22	0.0663
	44.00	84.89	87.37	88.73	0.1572
	52.25	83.11	86.62	85.65	0.1859
	64.33	75.10	79.24	58.78	0.4514
	71.66	73.67	77.90	52.97	0.5220
	84.25	73.05	77.62	50.60	0.5521
	100.25	66.26	69.84	51.91	0.7943
117.33	54.80	53.35	40.32	1.1483	
4 pH=6 T=55°C	0.01	88.23	90.09	105.92	0.0010
	11.50	88.22	90.03	105.64	0.0023
	29.00	87.93	89.84	104.55	0.0113
	34.00	87.98	89.95	104.35	0.0151
	50.25	87.22	89.37	101.95	0.0339
	73.00	86.52	89.31	99.74	0.0525
	80.75	86.50	88.44	97.02	0.0749
	100.42	84.17	86.88	93.79	0.0856
	120.40	84.46	87.03	90.02	0.1406
	179.17	82.90	85.84	83.31	0.1996
	180.67	80.33	83.42	81.53	0.1889
	189.43	81.35	84.14	81.24	0.2106
	# 226.00	77.36	82.54	73.03	0.2397
362.00	71.43	74.53	55.53	0.4505	
369.17	68.51	71.86	54.19	0.4607	

Carridas No. 5, 6, 7, GLUCOSA

	tiempo(h)	X	Y	Z	$\mu_{uv}$
4 (cont.)	505.30	67.51	69.56	49.65	0.4959
	527.50	65.87	68.30	43.70	0.5773
	728.00	58.97	60.45	31.76	0.7237
5 pH=6 T=65°C	0.01	87.07	89.34	106.08	0.0100
	20.83	86.34	88.74	100.77	0.0295
	24.17	85.40	87.90	98.33	0.0404
	26.33	85.30	87.86	98.75	0.0409
	29.33	85.27	87.83	97.03	0.0534
	43.66	83.86	86.75	93.50	0.1217
	49.66	81.44	84.40	84.36	0.1666
	57.83	80.08	83.12	80.52	0.1986
	69.75	76.93	80.07	71.57	0.2791
	75.75	75.78	79.08	67.70	0.3402
	85.00	71.24	75.26	59.36	0.4111
	# 96.50	68.52	71.53	49.49	0.5267
	167.50	59.49	61.40	31.79	0.7433
	216.00	49.99	50.06	17.65	0.9805
	240.25	47.91	47.78	15.41	1.0243
	285.42	43.17	42.02	11.07	1.1300
	369.17	34.04	31.07	4.90	1.3652
6 pH=7,75 T=55°C	0.01	87.58	89.77	105.62	0.0000
	23.17	86.67	88.92	103.66	0.0105
	69.83	82.62	85.42	89.27	0.1305
	91.33	79.70	82.69	81.40	0.1927
	147.50	75.95	79.04	70.88	0.2856
	115.33	79.14	82.12	79.68	0.2076
	140.33	76.56	79.62	72.63	0.2691
	186.17	71.10	74.22	57.79	0.4156
	207.67	69.69	72.76	54.13	0.4550
	7 pH=6 T=45°C	0.01	88.07	89.94	106.08
193.00		87.37	89.71	104.64	0.0159
360.25		87.34	89.62	104.76	0.0189
770.50		87.35	89.45	104.05	0.0158
842.50		87.34	89.12	104.01	0.0132
1197.00		83.06	89.12	104.00	0.0289
1798.00		87.19	89.07	102.78	0.0255
2214.00		87.05	89.00	101.22	0.0419
6144.00		85.89	88.60	97.88	0.0729
6800.00		84.65	87.34	94.99	0.0893
7584.00		83.93	86.96	90.81	0.1331
8536.00		83.42	86.36	89.60	0.1400
10920.00		81.99	85.41	83.91	0.1960
# 13520.00	80.12	83.21	81.33	0.2017	

Corridas No. 8, 9, 10. FRUCTOSA

8	tiempo(h)	X	Y	Z	$\sigma_{uv}$
	0.01	87.95	90.03	106.30	0.0000
pH=4	49.00	87.02	89.56	101.60	0.0449
T=55°C	73.75	87.03	89.32	99.69	0.0640
	121.13	85.22	88.57	92.67	0.1323
	141.00	82.84	86.44	87.33	0.1687
	165.75	82.53	87.17	89.51	0.1546
	213.10	81.36	85.40	79.70	0.2487
#	281.67	79.66	83.91	73.69	0.3064
	359.75	78.32	82.82	70.38	0.3366
	676.75	75.09	81.31	63.23	0.4155
	772.88	74.83	79.20	59.52	0.4454
	1172.58	71.35	75.42	50.48	0.5403

9	tiempo(h)	X	Y	Z	$\sigma_{uv}$
	0.00	88.00	90.17	106.32	0.0000
pH=5	23.33	85.69	88.62	96.65	0.0871
T=55°C	23.33	85.74	88.67	96.72	0.0870
	29.33	86.05	88.49	93.11	0.1742
	29.33	86.10	88.94	98.16	0.0740
	56.83	83.39	87.01	86.81	0.1817
	56.83	87.97	87.85	86.85	0.2254
	87.00	79.85	84.25	70.27	0.3533
	122.50	76.62	81.15	62.42	0.4190
	122.50	76.58	81.11	62.71	0.4201
	149.83	71.70	76.08	49.99	0.5643
	149.83	71.75	76.00	49.97	0.5649
#	191.41	67.23	72.00	37.23	0.7087
	191.41	67.33	71.28	37.85	0.7051
	197.83	68.07	72.15	39.40	0.6661
	197.83	68.08	72.16	39.43	0.6657
	243.29	63.12	66.29	30.34	0.8014
	293.29	63.00	66.31	30.54	0.7956
	323.29	60.11	62.58	24.69	0.8863
	323.29	60.20	62.66	24.72	0.8864

10	tiempo(h)	X	Y	Z	$\sigma_{uv}$
	0.10	88.25	90.05	106.02	0.0000
pH=6	11.50	87.22	89.40	101.39	0.0420
T=55°C	24.17	86.17	88.87	98.85	0.0597
	24.42	85.01	87.69	93.05	0.1143
	34.00	84.01	86.89	89.68	0.1435
	56.25	78.67	82.23	72.23	0.3036
	73.00	76.82	80.61	65.49	0.3750
#	120.00	70.46	73.21	45.37	0.6026
	187.82	59.47	61.62	27.90	0.8093
	179.17	63.87	66.55	31.58	0.7797
	248.25	48.71	48.41	12.99	0.8257
	221.00	53.00	53.74	17.56	0.7890
	226.00	51.64	51.91	16.91	0.9979

Corridos No. 11, 12, 13. FRUCTOSA

	tiempo(h)	X	Y	Z	$\theta_{uv}$
11					
pH=6	0.10	87.46	89.60	105.51	0.0000
T=45°C	24.25	87.47	89.70	105.57	0.0226
	29.42	87.33	89.66	102.51	0.0337
	43.75	87.14	89.05	100.46	0.0557
	71.92	86.04	89.55	98.56	0.0751
	96.00	85.45	88.63	93.87	0.1164
	119.62	82.85	86.18	87.17	0.1647
	140.42	80.44	84.26	78.21	0.2508
	170.17	79.07	82.98	74.13	0.2877
	189.75	77.86	81.87	69.94	0.3297
	214.00	76.65	79.70	63.47	0.3932
	215.50	74.83	78.77	61.90	0.4043
#	281.75	73.77	77.90	57.40	0.4591
	309.00	73.15	77.26	55.89	0.4750
	335.00	72.47	77.03	55.37	0.4801
	384.25	69.85	73.77	48.07	0.5583
	501.25	65.23	68.53	38.16	0.6765
	674.00	59.75	61.99	27.98	0.8131
	697.75	58.63	60.40	26.34	0.8361
	788.75	57.17	58.90	23.77	0.8791
12					
pH=6	0.01	87.85	89.97	106.12	0.0000
T=50°C	73.33	84.52	85.31	92.16	0.1172
	112.33	82.48	84.25	85.42	0.1878
	118.33	79.90	83.00	77.37	0.2505
	130.00	79.40	83.22	74.99	0.2815
	140.50	73.05	82.00	70.74	0.3225
#	160.33	71.53	81.62	68.31	0.3503
	183.67	77.00	81.34	65.83	0.3802
	191.67	75.56	79.71	62.94	0.4022
13					
pH=6	0.10	87.44	89.60	105.51	0.0000
T=65°C	9.75	83.36	84.25	86.33	0.1528
	20.83	81.76	82.24	82.95	0.2005
	21.17	79.37	82.89	79.15	0.2231
	24.17	80.54	84.25	78.78	0.2398
	28.00	75.15	79.54	59.96	0.4398
	33.00	71.03	75.57	47.34	0.5259
	48.75	66.24	70.50	34.05	0.7603
#	57.00	61.13	64.31	22.68	0.9326
	75.75	54.22	55.40	12.53	1.1199
	96.50	48.29	47.48	7.08	1.2058
	130.00	43.16	45.09	5.05	1.3033
	167.50	39.05	35.30	1.53	1.5197
	216.00	30.37	25.58	1.16	1.6622
	240.75	25.70	21.76	0.86	1.7202

Corridos No. 14, 15, 16, 17 . SACAROSA

	tiempo(h)	x	y	z	$\theta_{uv}$
14 pH=5 T=55°C	0.01	87.76	89.90	105.94	0.0100
	149.83	87.34	89.57	104.57	0.0125
	293.29	87.30	89.65	104.53	0.0225
	293.79	87.70	89.95	103.34	0.0291
	323.30	86.77	89.15	102.55	0.0272
	346.31	87.02	89.41	102.64	0.0295
	683.32	86.76	87.67	89.56	0.1747
	798.82	81.38	84.97	82.56	0.2064
	1017.07	79.89	83.56	77.18	0.2567
	1246.82	73.83	77.48	56.32	0.4742
	1263.80	70.58	73.97	53.31	0.4819
	1274.32	71.01	74.73	51.57	0.5156
	1294.45	68.81	72.22	47.72	0.5512
	1303.82	69.02	72.52	46.23	0.5752
	1350.25	63.51	66.31	35.33	0.7080
	1520.32	56.42	57.88	23.10	0.8889
# 1650.45	52.02	52.34	16.78	1.0082	
15 pH=6 T=45°C	0.01	87.66	89.76	106.48	0.0000
	794.50	87.55	89.73	106.38	0.0072
	4657.00	86.74	89.14	102.34	0.0370
	6136.00	85.99	88.62	98.82	0.0693
	10334.00	82.67	85.95	86.66	0.1766
	# 11557.00	82.00	85.25	84.40	0.1956
	13526.00	81.82	85.10	84.57	0.1915
	14942.00	79.76	83.39	76.61	0.2698
16 pH=6 T=55°C	0.10	87.67	89.79	105.88	0.0100
	56.25	87.24	89.64	106.00	0.0096
	148.50	87.05	89.69	105.79	0.0149
	340.50	86.97	89.59	99.36	0.0864
	412.50	86.81	87.99	99.32	0.0637
	369.25	86.62	87.94	100.26	0.0545
	530.25	84.24	87.46	88.48	0.1664
	574.00	81.74	84.87	84.54	0.1826
	591.25	81.35	85.42	84.83	0.1390
	604.50	80.25	83.57	78.15	0.2463
	750.25	76.32	79.84	64.45	0.3846
	# 822.25	72.46	75.74	58.14	0.4296
	960.50	74.18	77.68	58.64	0.4435
1315.16	72.47	74.56	50.46	0.5439	
1630.00	69.14	72.11	46.77	0.5691	
17 pH=6 T=65°C	0.10	87.89	90.03	106.06	0.0100
	28.00	86.82	89.17	102.68	0.0257
	48.75	85.50	88.11	97.52	0.0697
	75.75	82.75	85.75	88.02	0.1504
	96.50	77.04	80.55	71.26	0.2964
	130.00	73.24	76.63	61.44	0.3899
	167.50	69.91	72.94	53.63	0.4665
	216.00	63.93	66.47	40.89	0.6096
	# 240.25	59.75	61.67	32.90	0.7138
285.42	54.66	55.78	25.42	0.8197	

Corrida NO. 18: SACAROSA

	tiempo(h)	X	Y	Z	$\mu_{UV}$
17(cont.)	369.08	41.05	39.59	10.09	1.1417
18					
pH=4	0.01	89.42	91.77	107.74	0.0000
T=55°C	559.75	88.70	91.32	105.37	0.0196
	506.25	87.31	90.12	101.76	0.0436
	676.25	86.86	89.98	98.25	0.0803
	772.38	86.07	89.33	95.07	0.1011
	895.48	83.90	87.57	87.84	0.1697
	1251.30	80.05	83.93	74.73	0.2880
	1393.90	78.05	82.35	67.12	0.3690
	1413.40	76.07	80.30	61.84	0.4191
	1516.57	74.47	78.73	57.80	0.4595
	1544.07	73.70	77.89	55.90	0.4785
	1587.82	72.79	75.98	52.64	0.5168
#	1684.07	72.22	76.32	50.94	0.5302



Corridos No. 19, 20, 21, 22: MALTOSA

	tiempo(h)	x	y	z	s <sub>uv</sub>
<b>19</b>					
pH=5	0.01	84.52	87.25	94.37	0.01100
T=55°C	0.01	83.95	88.52	93.47	0.0467
	23.53	83.51	87.45	92.30	0.0384
	29.33	84.07	87.57	94.21	0.0162
	56.83	83.27	86.10	90.00	0.0369
	191.41	82.45	85.93	87.72	0.0616
	191.41	81.32	84.05	85.24	0.0698
	265.17	82.34	84.27	85.26	0.0620
	400.00	80.69	83.94	79.90	0.1330
	488.00	79.16	82.49	75.56	0.1709
#	638.00	77.03	81.51	64.77	0.2473
<b>20</b>					
pH=6	0.10	86.51	88.69	99.71	0.01100
T=55°C	24.17	80.28	83.21	81.74	0.0732
	24.42	84.04	86.48	99.65	0.0297
	43.75	79.45	82.45	78.05	0.1107
	75.07	74.82	81.91	74.67	0.1479
	80.75	78.93	81.42	70.87	0.1473
#	180.95	76.23	78.42	69.95	0.2454
	400.17	69.94	72.41	52.94	0.4228
	450.74	68.72	71.50	49.69	0.4620
	525.74	66.27	68.74	46.06	0.4930
	1906.42	57.45	58.44	23.30	0.8434
<b>21</b>					
pH=6	0.01	84.20	87.59	97.44	0.01100
T=45°C	50.00	84.18	87.51	94.52	0.0338
	95.62	84.18	87.45	94.25	0.0368
	165.75	83.86	86.49	93.10	0.0478
	193.00	83.72	86.36	92.69	0.0503
	257.75	83.53	86.19	92.06	0.0550
	363.00	80.63	83.36	76.67	0.2102
	1086.00	75.94	79.30	61.46	0.3624
#	1286.45	70.89	73.33	54.56	0.4046
	1680.87	69.67	72.61	50.03	0.4624
<b>22</b>					
pH=6	0.01	85.65	88.71	93.33	0.01100
T=65°C	5.00	84.32	87.22	92.24	0.0357
	10.00	84.34	86.21	93.30	0.0383
	19.33	77.47	80.50	72.47	0.1604
	24.25	74.90	77.89	64.34	0.2421
	26.17	74.24	77.00	65.32	0.2903
	32.00	69.26	72.21	51.66	0.4342
	28.50	70.42	73.26	56.99	0.2963
	56.00	63.71	66.10	39.41	0.5827
	40.50	61.94	63.80	37.75	0.5226
#	47.50	60.58	62.22	35.64	0.5479
	43.75	58.06	59.65	28.45	0.7285
	57.00	53.56	54.32	22.10	0.8371
	75.75	48.26	47.89	14.62	0.9919
	96.50	38.54	35.47	5.92	0.0000

Corridos No. 23, 24, 25, 26 LACTOSA

	tiempo (h)	X	Y	Z	$s_{uv}$
23	0.00	87.35	89.77	104.88	0.0000
pH=5	197.83	86.78	89.37	102.76	0.0172
T=55°C	293.29	86.47	89.06	101.36	0.0263
	323.29	85.81	88.90	99.41	0.0440
	441.91	85.47	88.18	96.20	0.0537
	683.75	85.76	86.85	92.16	0.1022
	799.25	85.12	85.88	90.07	0.1184
	1017.50	81.21	84.11	84.55	0.1670
	1156.50	78.52	81.52	75.37	0.2497
	1298.80	77.48	80.45	72.89	0.2698
	1328.80	77.48	80.45	72.89	0.2698
#	1447.50	75.30	78.60	66.91	0.3277
	1989.25	67.78	70.29	49.21	0.5026
	2323.00	65.79	68.05	44.65	0.5559
24	0.01	87.34	89.72	102.61	0.0000
pH=6	300.25	86.74	89.04	102.00	0.0072
T=45°C	650.00	87.13	89.00	102.00	0.0136
	794.50	86.26	88.77	99.35	0.0241
	866.50	85.62	88.11	98.60	0.0242
	1150.00	84.42	87.08	94.29	0.0603
	1512.50	84.00	87.05	91.34	0.0935
	1774.00	82.47	85.32	85.21	0.1466
	2133.75	79.41	82.34	77.27	0.2099
#	2265.75	77.90	80.65	75.61	0.2116
	2489.75	78.04	80.30	73.46	0.2398
	2918.00	72.30	74.29	60.11	0.3607
	3410.00	67.04	69.31	47.85	0.4907
	3785.00	65.85	68.15	43.34	0.5345
	4214.00	65.53	65.13	39.68	0.5909
25	0.10	87.19	89.46	104.62	0.0000
pH=6	11.50	87.20	89.16	103.60	0.0130
T=55°C	34.00	87.05	89.04	102.91	0.0177
	56.25	87.00	88.93	102.77	0.0189
	80.75	86.95	88.90	102.73	0.0186
	148.50	86.18	88.33	98.55	0.0554
	179.17	85.19	87.47	95.25	0.0817
	193.15	85.70	86.38	92.49	0.0979
	203.17	81.56	82.85	85.89	0.1458
	250.00	79.24	81.54	80.25	0.1902
	276.00	78.03	81.16	75.87	0.2645
	359.50	72.55	75.19	58.52	0.4129
#	419.25	69.15	71.77	53.34	0.4523
	496.67	53.74	55.96	22.29	0.8810
	582.50	45.80	44.84	14.33	1.0300
	651.40	44.41	43.07	11.91	1.0988
26	0.10	87.35	89.77	104.88	0.0000
pH=6	28.00	85.11	85.88	90.16	0.1185
T=65°C	33.00	79.69	82.69	79.16	0.2143
	48.75	74.39	77.57	64.01	0.3566
	57.00	71.77	75.00	56.84	0.4316
	67.33	67.05	70.44	45.87	0.5579
	75.75	64.30	66.87	39.10	0.6390
	96.50	55.94	57.11	23.34	0.8723
	167.50	38.56	35.80	5.52	1.3277
	216.00	30.56	28.45	2.23	1.5475
	240.25	27.66	23.25	1.71	1.6231

Corridas No. 27, 28, 29, 30 XILOSA

	tiempo(h)	X	Y	Z		
27	0.00	84.56	87.19	95.94	0.0000	
pH=5	0.00	84.61	87.26	96.05	0.0035	
	23.33	82.21	85.11	87.81	0.0697	
T=55°C	29.33	83.12	86.15	88.55	0.0734	
	29.33	83.09	86.09	88.46	0.0738	
	56.75	82.31	85.42	87.90	0.0709	
	56.75	82.41	85.43	88.00	0.0710	
	87.17	81.33	83.55	78.25	0.1687	
	122.50	78.30	82.01	71.68	0.2340	
	122.50	78.18	81.88	71.58	0.2338	
	149.83	77.76	81.60	69.44	0.2587	
	149.83	77.80	81.64	69.49	0.2585	
	191.41	74.91	78.88	60.32	0.3539	
	191.41	74.84	78.83	60.24	0.3534	
	275.30	71.15	74.87	50.06	0.4651	
	364.33	67.40	70.85	40.60	0.5799	
	#	514.92	58.39	60.07	23.74	0.8174
		575.00	53.81	54.47	16.21	0.9600
		700.33	50.71	50.66	13.07	1.0262
28						
pH=6	0.10	82.87	85.75	88.63	0.0000	
	95.62	81.13	84.88	81.83	0.0663	
T=45°C	165.75	78.47	82.00	71.19	0.1721	
	190.00	77.56	81.49	69.07	0.1951	
	193.00	76.73	80.81	66.35	0.2229	
	257.76	76.01	80.21	63.44	0.2559	
	360.25	72.05	76.24	52.22	0.3759	
	449.25	67.75	71.48	41.77	0.4965	
	#	473.50	66.44	69.96	36.75	0.5697
	29					
	pH=6	0.10	83.02	85.64	87.67	0.0000
11.50		83.02	85.61	87.06	0.0074	
T=55°C	24.42	82.40	87.27	84.06	0.0788	
	29.00	81.81	84.78	81.89	0.0593	
	34.00	80.77	83.92	78.06	0.0966	
	43.17	79.05	82.56	72.17	0.1557	
	56.25	77.61	81.12	68.35	0.1900	
	70.09	75.09	79.37	62.17	0.2535	
	#	80.75	73.81	77.88	56.36	0.3209
		100.42	66.17	58.03	29.71	0.4513
		140.25	61.77	60.93	27.46	0.7105
		203.74	56.17	58.03	19.71	0.8071
		393.75	48.05	26.98	8.87	2.6024
30						
pH=6	0.10	82.87	85.75	88.63	0.0000	
	21.17	72.45	76.16	53.57	0.3569	
T=65°C	28.00	67.24	71.37	39.04	0.5394	
	33.00	63.30	67.01	29.10	0.6614	
	48.75	53.97	58.94	16.31	0.9030	
	#	57.00	52.62	54.44	9.34	1.0586
		75.75	43.75	43.94	4.26	1.2309
	96.50	37.30	33.41	1.43	1.4214	

Corridos No. 31, 32, 33, 34 GLUCOSA + GLICINA

	tiempo (h)	x	y	z	$\sigma_{uv}$
<b>31</b>	0.01	88.10	90.28	106.17	0.0000
<b>pH=2,85</b>	351.17	87.41	89.92	103.08	0.0275
<b>T=55°C</b>	472.25	86.48	89.05	94.69	0.0665
	659.17	84.33	87.25	91.63	0.1238
	718.17	83.05	86.17	87.26	0.1625
	956.00	78.98	82.28	74.47	0.2755
	1056.50	75.04	78.31	64.59	0.3633
#	1285.25	70.04	73.10	49.85	0.5265
	1341.83	69.47	72.44	47.75	0.5534
	1786.00	60.45	62.33	27.22	0.8345
	1500.00	62.27	64.30	33.72	0.7229
	1658.50	62.27	64.33	33.72	0.7229
<b>32</b>	0.01	87.65	89.79	105.49	0.0001
<b>pH=4,0</b>	49.00	87.39	89.66	105.01	0.0045
<b>T=55°C</b>	145.10	87.06	89.51	101.90	0.0354
	189.55	86.80	89.69	95.95	0.1036
	237.20	85.34	86.59	90.45	0.1507
	311.77	81.80	85.04	78.37	0.2572
	360.55	77.30	80.45	69.93	0.3137
	385.75	75.94	79.23	63.66	0.3858
	410.00	72.31	77.57	55.93	0.4721
#	506.25	67.77	70.37	42.53	0.6202
	582.25	65.44	67.86	36.72	0.6982
	676.25	62.92	64.78	32.77	0.7467
<b>33</b>	0.01	87.79	90.15	106.41	0.0001
<b>pH=5,0</b>	56.83	85.37	88.16	96.67	0.0826
<b>T=55°C</b>	56.83	86.04	88.65	97.44	0.0806
	80.00	85.27	88.41	90.36	0.1511
	100.00	81.13	84.25	76.39	0.2802
	122.50	78.50	81.38	68.34	0.3009
	122.50	78.29	81.48	69.28	0.2985
	130.00	75.80	79.47	57.90	0.4755
	149.83	73.01	76.97	53.13	0.5176
#	149.83	73.25	75.85	52.25	0.5283
	191.41	67.25	70.83	36.32	0.7316
	197.83	64.50	67.52	30.64	0.8088
	293.30	54.77	55.33	11.92	1.1513
	323.00	44.85	42.42	5.37	1.3501
	346.75	43.26	40.39	4.50	1.3898
	441.90	31.28	26.36	1.43	1.6548
	466.25	28.60	23.43	1.03	1.7320
<b>34</b>	0.01	90.16	92.51	107.04	0.0001
<b>pH=6,0</b>	74.75	87.99	90.77	100.95	0.0439
<b>T=45°C</b>	171.00	80.99	85.37	74.37	0.2910
	215.42	72.23	76.97	44.47	0.6236
#	247.00	66.30	70.26	29.27	0.8262
	341.25	49.29	47.36	5.48	1.3210
	365.25	45.62	42.51	3.75	1.4019
	412.67	32.80	26.68	0.70	1.7511
	437.67	29.21	22.82	0.39	1.8644

Corridos No. 35, 36, 37, 38 GLUCOSA + GLICINA

	tiempo(h)	X	Y	Z	$\epsilon_{uv}$
34 (cont.)	227.00	70.53	75.50	39.56	0.6877
	297.00	62.27	65.31	18.70	1.0028
	389.50	40.68	36.80	1.74	1.5071
35 pH=6,0 T=50°C	0.01	90.16	92.51	107.04	0.0000
	22.63	84.61	87.38	93.16	0.1090
	42.33	76.25	79.85	65.14	0.3723
	73.33	67.18	70.75	35.56	0.7342
	# 96.13	62.44	65.28	26.66	0.8625
	125.00	59.18	61.01	18.61	1.0074
	112.33	63.01	60.60	26.42	0.8763
	113.33	61.41	63.93	22.18	0.9452
	140.50	55.13	55.66	11.60	1.1556
	160.83	49.50	48.05	6.11	1.3102
	167.00	47.39	45.88	5.99	1.3212
	183.67	44.81	47.00	5.04	1.3482
36 pH=6,0 T=55°C	0.01	88.28	90.09	105.90	0.0100
	5.00	88.28	90.03	105.64	0.0030
	10.00	88.22	89.87	104.12	0.0188
	23.75	85.89	88.68	96.85	0.0816
	29.42	83.36	86.01	87.80	0.1539
	32.50	81.55	84.50	80.64	0.2225
	39.00	78.53	81.63	70.20	0.3009
	48.75	75.39	79.53	59.62	0.4423
	50.00	73.94	77.24	57.33	0.4538
	55.00	69.37	73.48	43.28	0.6286
	60.00	66.79	69.21	34.74	0.7456
	# 66.25	62.94	65.14	26.61	0.8651
	74.75	60.00	61.94	19.29	0.9963
	77.50	57.35	56.92	19.03	0.9967
	83.00	50.21	47.74	6.26	1.3250
	94.75	46.80	42.92	3.82	1.4563
	99.00	65.35	67.68	31.39	0.7940
	101.08	46.81	43.99	4.04	1.3967
125.25	38.05	32.48	1.10	1.6431	
132.00	30.01	26.39	1.09	1.5754	
139.30	26.28	19.03	0.84	2.0486	
37 pH=6,0 T=60°C	0.01	87.15	89.30	105.18	0.0000
	18.75	77.72	81.77	67.25	0.3649
	24.00	69.13	73.22	39.37	0.6943
	8.00	85.22	87.90	95.51	0.0898
	10.00	84.64	87.40	94.53	0.0946
	23.17	69.54	73.50	41.15	0.6685
	# 26.67	64.78	68.06	28.72	0.8437
	31.00	53.91	53.47	10.62	1.1877
38 pH=6,0 T=65°C	0.01	87.98	90.05	106.27	0.0001
	7.67	85.51	88.26	95.71	0.0938
	9.83	79.54	83.07	73.08	0.3059
	13.75	74.72	77.08	52.45	0.5383
	16.98	68.42	71.56	37.24	0.7238

Corrida No. 39 GLUCOSA + GLICINA

	tiempo (h)	X	Y	Z	$\epsilon_{uv}$
38 (cont.)	# 20.42	63.40	65.71	25.08	0.9055
	26.00	47.04	43.48	3.61	1.4411
	29.92	43.74	39.13	2.07	1.5369
	33.92	35.72	28.83	0.62	1.7932
	37.17	33.90	27.38	0.62	1.7899
	39.92	29.20	22.14	0.33	1.9639
	47.25	19.08	12.42	0.15	2.4599
	52.92	10.68	10.64	0.14	2.5337
39	0.01	88.43	90.63	106.74	0.0001
pH=7,75 T=55°C	12.50	76.21	74.35	66.36	0.3531
	24.17	68.93	72.90	47.36	0.5607
	35.00	56.94	57.63	17.70	1.0206
	44.67	47.15	46.62	5.79	1.3401
	47.67	43.10	39.12	3.30	1.4669
	# 50.17	42.41	37.20	2.76	1.5411
	53.17	41.15	36.59	2.66	1.5185
	56.92	37.76	32.32	1.61	1.6234
	62.17	35.61	29.55	1.20	1.7021
	66.50	32.71	26.11	0.89	1.8074
	71.17	32.09	25.10	0.67	1.8642
	74.17	30.80	23.96	0.68	1.8761
	93.25	17.04	10.87	0.20	2.5203
	97.50	15.61	9.72	0.25	2.6107

Corridos No. 40, 41, 42, 43 SACAROSA + GLICINA

	tiempo (h)	x	y	z	$\theta_{uv}$	
40	0.10	89.46	91.46	107.52	0.0000	
pH=4,0 T=55°C	121.13	85.02	88.24	87.07	0.1885	
	141.00	83.12	86.54	82.55	0.2248	
	165.75	76.29	79.55	63.24	0.3955	
	192.00	69.81	73.12	49.07	0.5361	
	213.10	71.24	76.67	48.02	0.5812	
	250.35	65.76	68.24	35.52	0.7265	
	281.67	60.01	61.71	27.26	0.8286	
	# 302.83	56.15	56.81	19.89	0.9396	
	312.00	56.08	53.75	19.48	1.0021	
	359.75	54.85	52.86	17.26	1.0421	
	384.75	51.74	51.73	15.73	1.0316	
	41	0.01	87.76	89.90	105.94	0.0000
	pH=5,0 T=55°C	122.33	85.75	88.53	98.14	0.0656
149.83		85.15	87.93	95.41	0.0915	
191.41		84.27	87.55	91.26	0.1316	
197.83		83.75	86.92	89.47	0.1475	
293.40		81.27	84.90	79.58	0.2449	
323.30		79.12	82.95	72.46	0.3102	
415.10		76.25	80.77	63.27	0.4073	
441.89		75.03	78.96	58.48	0.4573	
511.41		72.83	76.76	51.18	0.5423	
# 592.50		65.79	68.85	34.02	0.7549	
661.92		64.30	67.38	31.11	0.7949	
42		0.01	89.51	90.49	106.22	0.0000
pH=6,0 T=55°C		56.25	89.19	90.25	106.18	0.0040
	100.00	88.53	90.13	102.67	0.0345	
	148.50	88.01	90.01	99.42	0.0682	
	179.17	87.18	89.86	96.39	0.1014	
	201.17	86.79	89.70	93.92	0.1262	
	338.50	82.04	85.55	78.88	0.2550	
	410.50	79.96	83.70	71.35	0.3263	
	# 419.47	77.00	80.95	65.67	0.3711	
	540.00	74.27	75.49	59.43	0.4102	
	672.00	69.77	73.55	42.48	0.6391	
	730.80	66.68	69.69	38.27	0.6766	
	795.30	63.15	65.91	27.99	0.8329	
	814.00	56.91	57.53	17.34	1.0149	
1029.50	47.79	45.89	8.05	1.2387		
43	0.01	90.32	92.48	108.68	0.0000	
pH=6,0 T=65°C	29.92	87.22	91.35	103.24	0.0615	
	33.92	87.42	91.53	100.76	0.0761	
	50.25	83.84	87.51	83.22	0.2230	
	54.92	81.14	84.53	80.29	0.2265	
	# 76.92	75.56	79.27	61.80	0.4107	
	103.92	70.43	73.66	43.50	0.6364	
	128.34	61.58	63.51	27.74	0.8329	
	133.09	60.59	62.50	26.72	0.8451	
	205.09	34.41	29.98	2.75	1.5252	
	180.25	45.46	46.83	8.35	1.1800	

Corridos No. 44, 45 SACAROSA + GLICINA

	tiempo (h)	X	Y	Z	$\sigma_{UV}$
44	0.01	87.42	89.63	104.64	0.0001
pH=6,0	560.25	86.12	88.75	99.95	0.0393
T=45°C	672.45	85.83	88.75	96.67	0.0766
	773.45	85.41	88.36	95.33	0.0864
	1098.35	84.53	87.45	89.63	0.1470
	1438.35	81.57	85.32	80.33	0.2271
	1699.60	79.89	83.92	73.29	0.2994
	1944.10	77.93	82.17	64.32	0.3984
#	2402.60	73.24	77.39	51.28	0.5356
45	0.01	88.39	90.38	107.00	0.0010
pH=6,0	116.00	87.48	89.86	102.85	0.0381
T=50°C	132.00	86.60	89.27	99.62	0.0661
	310.50	85.59	88.32	94.90	0.1096
	340.00	84.85	88.02	91.81	0.1386
	432.75	83.51	86.91	87.37	0.1770
	548.33	82.44	86.05	82.71	0.2224
	643.75	81.67	85.49	78.43	0.2676
	727.33	80.63	84.62	74.90	0.3024
#	836.00	78.71	82.84	67.81	0.3745



Corridos No. 46, 47, 48,49 FRUCTOSA + GLICINA

	tiempo(h)	X	Y	Z	$\sigma_{uv}$
<b>46</b>					
pH=4,0 T=55°C	0.10	90.18	92.56	108.71	0.00001
	22.90	87.10	89.52	101.88	0.0377
	49.00	84.23	87.07	91.35	0.1265
	73.75	82.62	86.12	78.16	0.2735
	121.13	69.21	72.14	42.55	0.6377
	141.00	66.83	69.74	35.70	0.7327
	165.75	66.81	69.02	32.16	0.7966
	192.60	61.46	62.97	25.29	0.8649
	213.10	60.14	61.50	22.93	0.9253
	281.67	52.70	52.53	14.63	1.0742
	302.83	52.05	51.41	13.68	1.0980
	312.00	46.34	44.70	9.77	1.1899
	# 100.75	75.82	79.07	58.30	0.4633
	180.75	64.67	66.58	27.75	0.8618
	<b>47</b>				
pH=5,0 T=55°C	0.01	88.00	90.17	106.38	0.00001
	23.33	83.48	86.40	88.47	0.1551
	23.33	83.49	86.45	88.59	0.1542
	29.33	80.80	84.01	74.57	0.2474
	29.33	80.82	84.50	76.34	0.2545
	# 41.00	74.25	80.19	70.25	0.3106
	56.83	71.85	77.92	65.27	0.3513
	72.33	68.56	75.05	60.05	0.3933
	72.33	68.06	73.85	53.23	0.4032
	122.50	64.70	67.06	32.29	0.7779
	122.50	64.75	67.08	32.30	0.7782
	149.83	59.01	60.15	21.67	0.9460
	149.83	59.07	60.19	21.69	0.9462
	191.41	54.30	54.10	14.44	1.0912
	191.41	54.38	54.20	14.48	1.0905
197.83	52.15	51.95	11.97	1.1426	
197.83	52.11	51.31	11.90	1.1511	
293.40	45.36	42.78	6.46	1.3165	
293.40	45.28	42.70	6.45	1.3166	
362.80	38.62	34.66	3.45	1.4658	
6.75	87.15	89.48	102.93	0.0267	
<b>48</b>					
pH=6,0 T=45°C	0.01	87.93	90.15	105.25	0.00001
	23.75	87.41	90.03	99.21	0.0644
	48.75	83.98	86.86	90.19	0.1284
	74.75	80.06	83.16	82.90	0.1704
	101.08	81.72	85.00	81.99	0.2040
	171.00	77.98	81.66	70.16	0.3156
	247.00	72.39	75.79	55.92	0.4319
	# 341.00	70.40	73.37	45.42	0.5935
	437.67	65.44	68.41	30.56	0.8048
	560.67	51.94	51.06	10.43	1.1793
<b>49</b>					
pH=6,0 T=50°C	0.01	87.41	89.79	102.89	0.0010
	8.58	86.36	88.92	98.99	0.0324
	19.17	84.60	87.38	93.61	0.0742
	28.92	83.31	86.31	87.61	0.1374
	36.92	80.76	83.94	80.34	0.1974

Corridos No. 50, 51 FRUCTOSA + GLICINA

	tiempo (h)	X	Y	Z	$\epsilon_{uv}$
49	44.00	80.05	83.33	76.75	0.2296
(cont.)	# 52.25	78.60	81.96	71.76	0.2784
	64.33	75.29	78.73	61.60	0.3809
	71.66	73.21	76.54	55.77	0.4424
	117.33	65.94	68.68	35.97	0.6896
50					
pH=6,0	0.01	88.25	90.05	100.02	0.0001
	5.00	87.06	89.39	102.05	0.0350
T=55°C	5.50	86.77	89.15	101.85	0.0343
	9.00	86.37	88.62	97.90	0.0712
	11.50	85.24	87.64	94.32	0.0996
	23.75	81.55	84.76	81.71	0.2134
	24.42	81.29	84.10	79.46	0.2350
	28.73	79.87	82.74	75.47	0.2697
	34.00	78.07	81.11	69.32	0.3314
	40.00	74.89	79.20	61.54	0.4129
	48.75	75.03	78.55	60.52	0.4227
	50.00	72.47	75.38	52.87	0.5047
	56.25	69.75	72.48	44.53	0.6031
	63.50	67.21	70.03	40.39	0.6521
	73.00	65.25	67.43	33.98	0.7466
	# 74.75	66.69	69.01	37.35	0.7004
	80.75	61.61	63.10	26.83	0.8525
	100.00	55.84	55.48	15.89	1.0815
	101.17	59.49	60.84	21.74	0.9419
	124.30	52.34	49.46	9.34	1.2533
51					
pH=6,0	0.01	88.13	90.26	106.41	0.0001
	3.42	87.16	89.55	102.49	0.0334
T=65°C	7.67	84.81	87.62	93.23	0.1133
	9.90	82.50	85.68	84.31	0.1949
	15.25	77.25	79.95	63.27	0.4794
	20.42	72.83	76.38	51.74	0.5422
	# 25.17	67.27	71.04	35.57	0.7426
	29.92	62.18	64.30	24.34	0.9103
	33.92	57.32	58.17	15.74	1.0643
	38.00	51.19	50.16	8.51	1.2416
	40.00	50.91	49.77	8.38	1.2400
	59.92	33.39	27.54	0.89	1.7275

Carridas No. 52, 53 XILOSA + GLICINA

	tiempo (h)	X	Y	Z	$\sigma_{uv}$	
52	0.00	82.72	85.61	88.19	0.00000	
pH=5,0	6.75	81.31	84.66	81.63	0.06880	
	6.75	81.29	84.50	81.62	0.06885	
T=55°C	10.17	75.99	78.54	62.57	1.25559	
	13.05	71.53	75.52	52.24	0.3594	
	23.33	55.58	55.54	9.38	1.0794	
	# 23.33	55.60	55.58	9.40	1.0787	
	30.10	45.42	48.98	2.22	1.3925	
	35.17	37.36	32.18	1.24	1.4942	
	46.66	27.97	21.10	0.43	1.8615	
	56.59	21.05	14.24	0.31	2.2157	
	56.59	21.02	14.21	0.36	2.2155	
	122.50	4.02	2.08	0.23	3.2476	
	149.83	1.59	0.83	0.23	3.0107	
	149.83	1.58	0.82	0.23	3.0352	
	191.41	0.52	0.33	0.23	1.7577	
	191.41	0.48	0.28	0.11	2.3752	
	53	0.10	63.02	65.63	67.63	0.00000
		2.50	60.37	63.39	76.74	0.1073
pH=6,0	3.83	74.83	79.94	57.87	0.3187	
	5.00	70.04	72.34	44.37	0.4612	
T=55°C	7.00	60.25	61.23	26.32	0.7025	
	# 9.00	68.25	44.11	3.28	1.3243	
	11.50	43.60	37.13	1.26	1.5196	
	24.42	19.55	12.13	0.22	2.5365	
	27.00	17.76	10.64	0.20	2.6800	
	28.83	15.55	9.04	0.20	2.8046	
	32.00	15.09	8.58	0.20	2.9011	
	34.00	13.91	7.77	0.19	2.9798	

Corridos No. 54, 55 LACTOSA + GLICINA

	tiempo (h)	X	Y	Z	$\mu_{uv}$
54 pH=5,0 T=55°C	0.00	87.55	89.77	104.88	0.0000
	23.53	86.78	89.26	103.29	0.0109
	56.83	83.65	86.32	95.93	0.0554
	122.50	81.27	84.78	81.08	0.2134
	149.83	78.17	82.02	70.13	0.3211
	191.41	73.76	77.57	58.22	0.4373
	197.83	73.61	77.44	56.68	0.4585
	# 245.00	68.45	61.32	40.27	0.7666
	293.40	63.49	66.14	33.11	0.7610
	323.30	60.06	61.92	25.29	0.8651
	346.50	56.88	57.97	21.62	0.9202
	420.00	47.56	46.89	10.25	1.1594
	473.88	46.92	45.44	9.58	1.1907
	497.10	46.05	44.33	8.54	1.2229
55 pH=6,0 T=55°C	0.10	87.19	89.46	103.62	0.0000
	11.50	87.19	89.25	102.08	0.0173
	24.42	85.32	87.83	94.11	0.0477
	28.83	83.82	86.62	86.19	0.1404
	34.00	81.34	84.59	78.58	0.2331
	40.00	79.33	82.78	69.97	0.3232
	45.00	77.31	80.93	64.28	0.4188
	50.00	75.29	79.08	57.18	0.4586
	# 56.25	74.08	78.06	52.64	0.5140
	63.50	68.24	74.28	43.28	0.6156
	73.00	65.86	68.93	30.28	0.9067
	100.00	57.96	65.29	29.29	0.7769
	124.50	49.35	51.47	15.86	0.9781
	148.50	41.35	36.79	2.10	1.5225

Corridos No. 56, 57 MALTOSA + GLICINA

	tiempo (h)	x	y	z	$a_{uv}$	
56	0.01	86.32	88.69	99.70	0.0000	
pH=6,0 T=55°C	10.00	86.29	88.56	98.47	0.0136	
	24.42	84.08	86.09	90.14	0.0853	
	34.00	81.24	84.20	80.73	0.1686	
	50.00	78.01	81.33	68.41	0.2942	
	56.25	76.25	79.64	62.38	0.3583	
	65.00	73.48	76.49	53.28	0.4597	
	# 73.00	71.56	74.83	48.04	0.5216	
	100.00	60.36	63.18	27.28	0.7804	
	124.00	58.24	60.43	20.18	0.9132	
	148.00	56.11	56.82	16.39	0.9979	
	57					
	pH=5,0 T=55°C	0.00	83.97	86.79	93.46	0.0000
		0.00	83.99	87.03	93.25	0.0072
23.33		83.97	86.84	91.41	0.0248	
23.33		83.72	85.92	90.95	0.0295	
29.33		83.80	86.71	90.70	0.0315	
29.33		83.64	86.54	90.52	0.0315	
56.83		83.31	86.37	88.67	0.0509	
56.83		82.97	86.42	87.56	0.0640	
110.88		81.98	84.87	81.92	0.1167	
191.41		80.06	83.80	75.49	0.1814	
191.41		80.09	84.62	76.56	0.1763	
197.83		80.43	84.47	77.84	0.1587	
265.16		79.62	83.49	73.83	0.1988	
481.83		73.69	77.81	54.03	0.4100	
550.00		76.57	74.97	46.25	0.5724	
# 632.47		68.12	71.64	38.97	0.5917	
840.25		67.92	69.55	36.59	0.6320	
1220.33	67.25	67.77	30.27	0.7467		
1517.83	61.18	63.10	24.60	0.7944		

Corridos No. 58, 59, 60, 61 GLUCOSA + DIGLICINA

	tiempo(h)	X	Y	Z	$\epsilon_{uv}$
58 pH=2,85 T=55°C	0.01	88.25	90.41	106.74	0.0000
	134.90	87.34	89.86	102.32	0.0411
	187.15	85.23	88.24	94.28	0.1106
	240.65	79.68	83.45	74.36	0.2941
	331.15	74.65	78.52	54.60	0.4536
	355.15	72.53	76.08	52.12	0.5243
	# 382.45	71.63	75.34	50.34	0.5461
	413.17	66.80	69.96	39.74	0.6833
	473.20	63.94	65.67	31.23	0.7426
	503.45	52.16	52.00	15.74	1.0438
59 pH=4,0 T=55°C	0.01	87.79	90.05	105.21	0.0000
	158.06	83.09	86.40	87.26	0.1576
	198.42	79.43	83.09	73.96	0.2430
	247.25	75.07	79.88	60.47	0.4137
	268.42	71.55	76.27	49.25	0.5470
	300.92	66.70	69.62	39.61	0.6543
	313.08	66.98	69.75	37.68	0.6909
	# 342.25	63.63	65.75	32.30	0.7546
	385.05	59.39	60.29	23.26	0.9056
	389.25	56.35	59.56	21.74	0.9649
457.38	51.35	50.76	12.29	1.1272	
531.25	43.30	41.16	7.21	1.2765	
60 pH=5,0 T=55°C	0.01	87.56	89.52	104.82	0.0000
	24.50	86.03	89.59	98.59	0.0506
	78.03	85.37	87.92	93.64	0.0816
	34.04	82.50	85.40	84.80	0.1780
	49.42	79.87	83.17	74.93	0.2744
	53.42	78.03	81.47	68.34	0.3414
	72.00	68.41	71.38	39.51	0.6743
	# 79.67	67.52	70.44	35.92	0.7283
	101.58	57.93	58.62	16.46	1.0473
	103.91	59.06	60.15	17.93	1.0138
167.75	36.54	31.22	1.73	1.6089	
191.92	27.79	21.27	0.66	1.9056	
135.46	47.07	48.32	6.09	1.2513	
61 pH=6,0 T=45°C	0.01	87.57	90.32	105.34	0.0000
	34.17	85.77	87.34	97.19	0.0703
	49.17	84.65	87.21	91.54	0.1220
	79.42	79.65	83.61	73.51	0.2850
	# 101.33	77.14	77.52	65.35	0.5461
	107.50	57.43	57.55	14.70	1.0949
	192.37	51.55	50.11	6.16	1.2647
	221.33	44.96	40.88	3.71	1.4525
	247.00	40.70	35.12	1.26	1.5977
	253.17	40.52	34.52	1.85	1.6167
340.67	29.09	21.93	0.55	1.9760	
363.43	23.00	20.54	0.34	2.0576	
365.00	23.53	21.00	0.55	2.0647	
135.06	65.32	67.26	30.67	0.7467	

Corridos No. 62, 63, 64 GLUCOSA + DIGLICINA						
	tiempo (h)	X	Y	Z	$\delta_{UV}$	
62 pH=6,0 T=55°C	0.01	87.53	90.32	105.38	0.0000	
	8.83	87.53	89.41	103.79	0.0197	
	24.50	82.48	85.57	83.71	0.1922	
	26.42	81.24	84.39	79.79	0.2270	
	34.42	78.63	82.15	64.73	0.3430	
	49.42	69.06	72.06	38.67	0.6959	
	53.42	66.67	69.26	31.47	0.7938	
	# 57.42	52.10	65.44	21.36	0.9570	
	72.00	54.34	53.69	9.76	1.2264	
	77.07	53.63	52.41	8.76	1.2454	
	79.67	52.43	51.09	6.75	1.3171	
	101.58	40.20	33.88	1.30	1.6714	
	103.41	39.30	33.11	1.00	1.6947	
	107.25	21.41	14.47	0.39	2.3936	
63 pH=6,0 T=65°C	0.01	87.56	90.32	105.38	0.0000	
	4.67	87.50	89.99	102.52	0.0308	
	6.17	87.15	90.17	100.52	0.0512	
	7.67	82.11	86.33	93.63	0.0655	
	8.67	81.20	84.95	84.33	0.1732	
	9.67	79.80	83.23	79.83	0.2104	
	10.42	73.43	82.05	69.43	0.3350	
	11.42	77.07	80.43	65.05	0.3749	
	12.92	75.21	78.85	58.05	0.4551	
	14.42	69.50	72.65	40.45	0.5375	
	15.83	67.00	69.87	31.52	0.6034	
	# 18.00	65.78	68.01	23.13	0.6334	
	64 pH=7,75 T=55°C	0.01	88.43	90.63	106.74	0.0000
		24.17	83.79	86.98	87.72	0.1682
44.67		71.47	75.39	45.93	0.6097	
50.17		67.06	70.40	33.26	0.7797	
56.42		62.61	64.82	22.88	0.9421	
# 66.50		57.15	57.05	12.39	1.1557	
73.17		55.58	55.23	10.25	1.2041	
76.17		48.79	45.60	4.69	1.3673	
82.17		47.84	44.14	3.78	1.4393	
93.25		33.53	25.97	0.80	1.6842	

Corridas No. 64, 65, 66, 67 GLUCOSA + TRIGLICINA

	tiempo (h)	X	Y	Z	$\epsilon_{uv}$
64	0.01	87.86	90.03	105.68	0.0000
pH=2,85	134.90	86.71	89.35	100.30	0.0499
T=55°C	187.15	84.65	87.41	91.61	0.1288
	272.65	76.02	79.48	61.23	0.4226
	331.15	72.44	76.48	52.54	0.5186
	355.15	66.42	70.03	37.98	0.6906
	367.15	65.15	65.56	30.01	0.8004
#	413.17	60.84	62.80	24.77	0.8660
	473.20	55.57	58.20	17.55	1.0155
	503.45	45.44	47.09	4.47	1.1903
65	0.01	87.87	90.04	106.63	0.0000
pH=4,0	158.05	85.69	88.90	77.43	0.1455
T=55°C	240.42	76.98	80.78	63.46	0.4132
	268.42	74.07	77.84	55.97	0.4686
	288.08	67.90	71.11	41.56	0.6492
	340.97	62.74	64.96	28.77	0.8320
#	325.03	63.73	66.17	30.88	0.8000
	369.25	55.97	56.53	18.33	1.0059
	457.30	49.05	47.77	11.31	1.1612
	531.25	39.45	35.95	4.60	1.4047
66	0.01	87.57	90.04	106.63	0.0000
pH=5,0	24.50	86.70	89.20	96.85	0.0656
T=55°C	26.42	84.66	87.31	93.52	0.1125
	34.42	80.53	83.50	81.67	0.2072
	49.42	77.65	80.97	84.00	0.4102
	53.42	75.85	79.42	60.27	0.4443
	57.42	72.64	76.04	49.96	0.5623
	72.00	67.41	70.30	35.17	0.7551
#	77.67	64.95	67.48	27.06	0.8837
	101.58	55.55	55.26	11.15	1.1868
	103.92	58.18	58.80	15.92	1.1267
	167.65	33.41	27.14	0.79	1.7685
	191.92	23.95	17.48	0.30	2.0767
67	0.01	87.47	90.04	106.63	0.0000
pH=6,0	34.17	85.67	88.25	96.92	0.0846
T=45°C	49.17	84.16	87.08	90.51	0.1425
	80.52	83.98	83.98	76.39	0.3116
#	101.33	76.16	79.85	61.84	0.4261
	167.50	64.52	66.59	32.63	0.7745
	221.73	60.74	62.98	18.45	1.0276
	260.42	50.99	49.04	6.24	1.3291
	316.67	35.65	28.85	0.82	1.7827



Corridas No. 68, 69, 70 GLUCOSA + TRIGLICINA

68	tiempo (h)	X	Y	Z	$a_{uv}$
	0.01	87.87	90.04	106.63	0.0000
pH=6,0	8.92	86.21	88.51	101.08	0.0415
T=55°C	24.50	82.55	85.69	86.65	0.1721
	28.42	81.50	84.67	79.90	0.2446
	34.42	78.66	82.36	70.84	0.3310
	49.42	68.68	71.87	38.83	0.7036
#	53.42	67.24	70.27	33.86	0.7770
	57.92	65.34	67.03	27.09	0.8872
	72.00	58.36	58.95	14.73	1.1062
	79.67	54.93	53.85	8.69	1.2586
	103.91	48.05	44.23	3.54	1.4571

69	0.01	87.87	90.04	106.63	0.0000
	4.67	86.65	89.14	101.08	0.0490
pH=6,0	6.17	86.25	88.98	98.14	0.0795
T=65°C	7.67	85.02	88.28	90.34	0.1594
	8.67	83.99	87.09	87.01	0.1650
	9.67	83.14	86.54	83.55	0.2193
	10.92	81.93	83.58	73.59	0.3231
	12.92	74.29	78.15	53.59	0.5267
#	14.42	73.64	77.59	50.93	0.5605

70	0.01	88.90	91.09	107.77	0.0000
	24.17	84.03	87.49	88.33	0.1730
pH=7,75	44.67	72.06	76.38	45.72	0.6259
T=55°C	50.17	68.23	72.00	33.99	0.7832
#	56.92	64.72	67.69	24.76	0.9223
	62.17	61.37	63.19	18.23	1.0378
	66.50	58.97	59.83	13.86	1.1262
	73.17	55.35	54.60	9.34	1.2358
	93.25	34.41	26.69	0.71	1.6906
	97.50	33.36	25.42	0.68	1.9383

Corridas No. 71, 72, 73, 74, 75 GLUCOSA + GLICINA (G),  
A<sup>-</sup> cte. DIGLICINA (D) O TRIGLICINA (T)

	tiempo (h)	x	y	z	S <sub>uv</sub>
71	0.01	88.11	90.29	105.80	0.0000
pH=5,0	6.92	87.40	89.69	103.65	0.0157
T=55°C	10.92	86.75	89.34	98.97	0.0652
G	22.50	71.37	74.95	46.61	0.5904
	25.92	68.32	71.67	37.58	0.7045
	28.92	65.58	68.63	30.34	0.8132
	30.00	66.00	68.94	32.38	0.7802
#	43.25	41.81	37.04	2.05	1.5440
	47.00	41.08	36.20	1.90	1.5577
72	0.01	87.55	90.03	105.12	0.0000
pH=5,0	22.50	85.67	88.42	96.97	0.0702
T=55°C	29.42	85.00	87.86	93.83	0.0942
D	47.00	80.45	83.94	75.91	0.2687
	70.17	73.45	77.25	52.04	0.5258
#	93.83	66.14	69.27	30.44	0.8148
	118.67	58.36	59.25	15.40	1.0742
	126.00	55.23	55.30	11.93	1.1475
	150.63	50.08	47.82	6.58	1.3107
	172.08	45.93	42.87	4.39	1.3922
	191.75	39.07	34.23	1.98	1.5617
	225.75	34.50	28.83	1.09	1.6860
73	0.01	87.58	89.78	105.28	0.0000
pH=5,0	24.08	85.70	88.22	98.27	0.0570
T=55°C	47.33	82.99	86.13	86.95	0.1625
T	70.83	78.43	82.26	68.64	0.3468
	96.25	71.62	70.98	47.41	0.5830
#	118.67	67.23	70.98	35.60	0.7358
74	0.01	87.55	89.92	104.71	0.0000
pH=6,0	23.83	86.32	88.64	94.69	0.0406
T=55°C	47.67	84.66	87.30	93.75	0.0904
D	70.83	78.05	81.07	73.83	0.2600
	96.25	77.49	80.81	69.80	0.3096
	144.00	73.45	76.84	57.60	0.4363
	118.67	70.47	73.55	53.84	0.4571
#	150.83	66.70	69.49	43.65	0.5803
	173.00	60.33	62.28	31.68	0.7326
	191.50	66.94	69.75	41.35	0.6232
	215.70	59.80	61.55	30.23	0.7566
	237.20	63.80	60.11	35.75	0.6902
75	0.01	87.58	89.78	105.28	0.0000
pH=6,0	22.50	86.43	88.90	101.31	0.0310
T=55°C	47.00	85.01	87.64	95.82	0.0780
	70.17	83.90	86.80	90.99	0.1232
	141.50	77.92	81.34	71.39	0.3014
T	93.93	80.01	83.29	77.75	0.2419
	126.00	78.87	82.30	73.77	0.2812
	195.00	76.19	79.65	65.87	0.3568

7.

75	214.50	73.51	76.67	58.04	0.4274
(cont.)	238.67	71.97	72.26	54.60	0.4671
	260.00	71.56	74.81	53.76	0.4794
#	286.17	69.13	72.16	47.90	0.5446
	352.17	64.99	67.53	36.65	0.6569

#: último punto considerado en el ajuste

Corridas No. 76, 77, 78	GLUCOSA	+	GLICINA	+	SORBATO DE POTASIO (SK)
tiempo(h)	X		Y		Z
					$\sigma_{uv}$
76	0,01	88,18	90,33	106,14	0,0000
pH=5,0	49,25	85,64	83,23	95,93	0,0865
T=55°C	74,83	82,59	85,89	84,18	0,1949
0,1% SK	122,83	75,48	79,65	57,36	0,4765
	141,50	72,16	76,28	46,77	0,6013
	168,50	68,71	72,54	36,66	0,7297
	192,50	61,55	63,57	21,70	0,9562
	218,50	60,30	61,84	18,62	1,0150
	261,00	51,65	50,44	6,79	1,2912
77	0,01	86,21	88,26	103,61	0,0000
pH=5,0	23,17	86,04	88,21	100,23	0,0373
T=55°C	69,83	78,98	82,29	71,81	0,3060
0,2% SK	91,33	76,81	80,52	64,38	0,3873
	115,33	73,83	77,75	53,27	0,5164
	140,33	66,09	69,38	31,23	0,6361
	147,50	61,51	63,74	21,39	0,8039
	186,17	59,67	51,31	16,95	0,9610
78	0,01	88,14	90,35	106,34	0,0000
pH=5,0	31,33	82,91	85,57	83,31	0,2148
T=55°C	55,33	71,61	75,68	42,37	0,6666
0,3% SK	76,16	61,67	63,44	16,28	1,0753
	81,66	58,94	59,82	11,61	1,1722
	84,66	57,11	57,38	9,77	1,2154
	93,66	52,74	50,93	5,65	1,3406
	98,00	52,21	50,25	4,96	1,3622
	104,66	49,31	46,12	3,60	1,4297
	113,00	47,09	42,87	2,34	1,5044
	137,00	31,79	24,29	0,60	1,9290

Corridas No. 79, 80		SORBATO DE POTASIO (0,3%)			
	tiempo (h)	X	Y	Z	$a_{uv}$
79	0.00	88.14	90.35	106.34	0.0000
	148.91	84.90	86.51	97.29	0.0591
pH=5,0	218.65	84.58	86.21	93.38	0.1007
T=55°C	318.10	80.83	82.43	81.54	0.1985
(+ GLICINA)	368.00	77.75	79.33	72.50	0.2793
	375.00	76.22	77.80	67.02	0.3358
	386.60	74.71	76.10	63.44	0.3694
80	0.00	88.14	90.35	106.34	0.0000
	148.91	85.36	87.74	99.28	0.0451
pH=5,0	218.65	83.24	86.10	90.20	0.1395
T=55°C	318.10	83.12	85.71	93.31	0.1045
(+ GLUCOSA)	469.00	85.98	85.49	85.48	0.1643
	636.00	78.68	81.92	77.00	0.2112
	711.00	77.54	80.86	72.77	0.2467