Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Efecto de diversos humectantes en la cinética de pardeamiento no enzimático en soluciones de glucosa y lisina de alta actividad de agua

Petriella, Claudio

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. 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. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:
Petriella, Claudio. (1986). Efecto de diversos humectantes en la cinética de pardeamiento no enzimático en soluciones de glucosa y lisina de alta actividad de agua. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2002_Petriella.pdf

Cita tipo Chicago:
Petriella, Claudio. "Efecto de diversos humectantes en la cinética de pardeamiento no enzimático en soluciones de glucosa y lisina 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_2002_Petriella.pdf

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

DEPARTAMENTO DE INDUSTRIAS

"EFECTO DE DIVERSOS HUMECTANTES EN LA CINETICA DE PARDEAMIENTO NO ENZIMATICO EN SOLUCIONES DE GLUCOSA Y LISINA DE ALTA ACTIVIDAD DE AGUA"

TESIS presentada por

CLAUDIO PETRIELLA

para optar al título de

Doctor en Ciencias Químicas

Director: Dr. Jorge Chirife

- 1986 -

Tesis 2002
gj. 2

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) por permitirme la realización de esta tesis en su Departamento de Industrias.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por otorgarme una beca y a la Secretaría de Ciencia y Tecnología (SECYT) (Programa Nacional de Tecnología de Alimentos) por el apoyo financiero brindado para la realización de esta tesis.

Al Dr. Jorge Chirife por su dirección y apoyo incondicional.

A la Dra. Silvia L. Resnik por su valiosa colaboración y estímulo durante la realización de este trabajo.

Al Lic. Roberto D. Lozano por su consejo y guía en la medición del color.

A la División de Optica del Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI) por facilitar sus instalaciones para la medición de color.

A todos mis compañeros y personal del Departamento de Indus-

///

trias (F.C.E.yN.) y de la División de Optica (INTI).

A Merck Química Argentina por donar algunas drogas utilizadas en este trabajo.

INDICE

página

I. OBJETIVOS 1

II. INTRODUCCION 2

II.1. Alimentos de humedad intermedia y alta 2

II.1.1. Características 2

II.1.2. Actividad de agua 6

II.1.3. Humectantes 11

II.2. Evaluación cuantitativa del color de los alimentos 15

II.1.1. La percepción del color 17

II.2.2. Medida cuantitativa del color 20

II.2.3. Aplicaciones de la colorimetría tries-
tímulo en alimentos 29

II.3. Pardeamiento no enzimático de alimentos 31

II.3.1. Características del pardeamiento no en-
zimático de los alimentos 32

II.3.2. Caramelización de azúcares 34

II.3.3. Oxidación del ácido ascórbico 35

página

II.3.4. Reacción de Maillard 36

II.3.4.1. Factores que afectan su desarrollo 39

II.3.4.1a. Composición del sistema 39

II.3.4.1b. Humedad 40

II.3.5. Métodos de medición del pardeamiento no enzimático 44

II.3.5.1. Modificación del espectro visible 47

II.3.5.2. Modificación del espectro ultravioleta 51

III. PARTE EXPERIMENTAL 55

III.1. Sistemas modelo 55

III.1.1. Descripción y preparación 55

III.1.2. Reactivos 56

III.1.3. Cálculo y medición de la actividad de agua 56

III.1.4. Composición 59

III.2. Tratamiento térmico 60

III.3. Medición de viscosidad 67

III.4. Medición del color 67

página

III.4.1. El espectrofotómetro ZEISS DMC 25 67

III.4.2. Técnica de la medición del color 68

III.4.3. El error en la medición colorimétrica 70

III.5. Medición de la absorción ultravioleta 70

IV. RESULTADOS Y DISCUSION 72

IV.1. Color y cinética de las reacciones de pardeamiento no enzimático 72

IV.1.1. Color 72

IV.1.2. Cinética 77

IV.2. Comparación del pardeamiento no enzimático en sistemas modelo glucosa-lisina y fructosa-lisina 83

IV.2.1. Cinética 83

IV.2.2. Efecto de la concentración de reactivos 86

IV.3. Efecto de polioles sobre el pardeamiento no enzimático 95

IV.3.1. Cinética 95

IV.3.2. Efecto de la a_w 101

IV.3.3. Efecto del pH 104

IV.3.4. Energía de activación 109

página

IV.3.5. Comparación entre diversos polioles 120

IV.4. Efecto de diversas sales inorgánicas sobre el pardeamiento no enzimático 124

IV.4.1. Cinética 124

IV.4.2. Efecto de la a_w 129

IV.4.3. Efecto del pH y de la sal 130

IV.4.4. Energía de activación 136

IV.5. Comparación entre humectantes: glicerol y KCl 139

IV.6. Cambios en el espectro ultravioleta de sistemas pardeados 142

IV.6.1. Características del espectro ultravioleta 142

IV.6.2. Cinética 144

IV.7. Comparación entre los cambios de color y de absorción ultravioleta 147

V. CONCLUSIONES 160

VI. BIBLIOGRAFIA 167

VII. TABLA DE DATOS 189

I. OBJETIVOS

El objeto del presente trabajo es estudiar el efecto del agregado de humectantes y otros aspectos de la cinética de pardeamiento no enzimático entre glucosa y lisina en soluciones de alta actividad de agua (a_w). En particular se estudiarán los siguientes temas:

1) Influencia de varios humectantes usados en el ajuste de la a_w de soluciones glucosa-lisina en la cinética de reacción a distintos valores de pH y temperatura.

2) Comparación entre los cambios de color y absorción ultravioleta producidos en soluciones glucosa-lisina pardeadas.

3) Efecto de la concentración de reactivos en el pardeamiento de soluciones glucosa-lisina y fructosa-lisina.

II. INTRODUCCION

II.1. Alimentos de humedad intermedia y alta

II.1.1. Características

La reducción de la actividad de agua (a_w) de un alimento constituye un eficaz medio de inhibir la proliferación microbiana y lograr su preservación. Una buena estabilidad microbiológica se logra en los alimentos deshidratados, cuya a_w ha sido reducida a bajos niveles, aunque generalmente con un alto costo energético y pérdida de calidad organoléptica y nutricional.

Una estabilidad microbiológica satisfactoria también se alcanza mediante reducción moderada de la a_w, en los llamados alimentos de humedad intermedia. De acuerdo a la definición de Kaplow (1970), los alimentos de humedad intermedia son aquéllos que pueden ser consumidos sin previa rehidratación, y sin embargo, son estables al deterioro microbiano, aun sin haber sido sometidos a refrigeración o proceso térmico. Los principales factores de esta estabilidad son la reducción de a_w y agregado de aditivos antimicrobianos.

El contenido acuoso de los alimentos de humedad intermedia usualmente está comprendido entre 25-50% (base húmeda) mientras que la a_w está en el rango 0,70-0,90. Un gran número de autores recomien-

///

dan que el límite de humedad intermedia debe ser 0,86 (Ledward, 1982). Este valor es el mínimo al cual es posible el crecimiento aeróbico del Staphylococcus aureus. Otras bacterias patógenas solo crecen a actividades de agua más altas.

Alimentos de humedad intermedia tradicionales son muchos productos de panadería y confitería, embutidos y frutas desecadas. La reducción de a_w se logra mediante eliminación de agua y agregado de solutos como sal o azúcar, denominados humectantes. No obstante, las cantidades de humectante requeridas para reducir la a_w de un alimento por debajo del valor 0,86 son altas, por lo que a menudo se afectan negativamante las propiedades organolépticas y funcionales del mismo. Esto explica la dificultad de desarrollar nuevos alimentos de humedad intermedia para consumo humano. En este aspecto, solamente se ha alcanzado éxito comercial en la formulación de alimentos para animales domésticos (perros) o para aplicaciones muy especializadas (militares, vuelos espaciales) (Flink, 1978; Erickson, 1982).

Sin embargo, es posible lograr la estabilidad microbiológica de un alimento a actividades de agua más altas (0,90-0,95), mediante la adecuada combinación de reducción de a_w, agregado de aditivos antimicrobianos, tratamiento térmico moderado y correcto envasado (Leistner y col., 1981; Fox y Loncin, 1982). En esta forma se puede obtener un alimento estable con características de "flavor"

///

aceptables para su consumo.

Los alimentos de humedad intermedia están expuestos a deterioro por reacciones de diversa naturaleza, en las cuales la actividad de agua suele ser una variable de mucha importancia, según se ejemplifica, en el llamado "mapa de actividad de agua" (Fig. 1) (Labuza, 1970). Desde luego, esta figura representa valores promedio obtenidos de la literatura, estando en realidad cada reacción de deterioro condicionada a la composición particular de cada alimento, como ser, por ejemplo, presencia de antioxidantes y otros aditivos o pH. El pardeamiento no enzimático, la oxidación de lípidos y la destrucción de otros nutrientes (por ejemplo, vitaminas) son reacciones de deterioro particularmente importantes (Erickson, 1982).

Se ha realizado mucha investigación sobre la velocidad y extención del deterioro causado por dichas reacciones en alimentos y sistemas modelo de humedad intermedia. Por otra parte, han sido realizados pocos estudios en sistemas de más alta a_w (0,90-0,95), pudiendo citarse, degradación de vitamina B1 (Fox y col., 1982; Fernández y col., 1986), pardeamiento no enzimático (Cerrutti y col., 1985; Petriella y col., 1985) y degradación de nucleótidos (Fox y col., 1983).

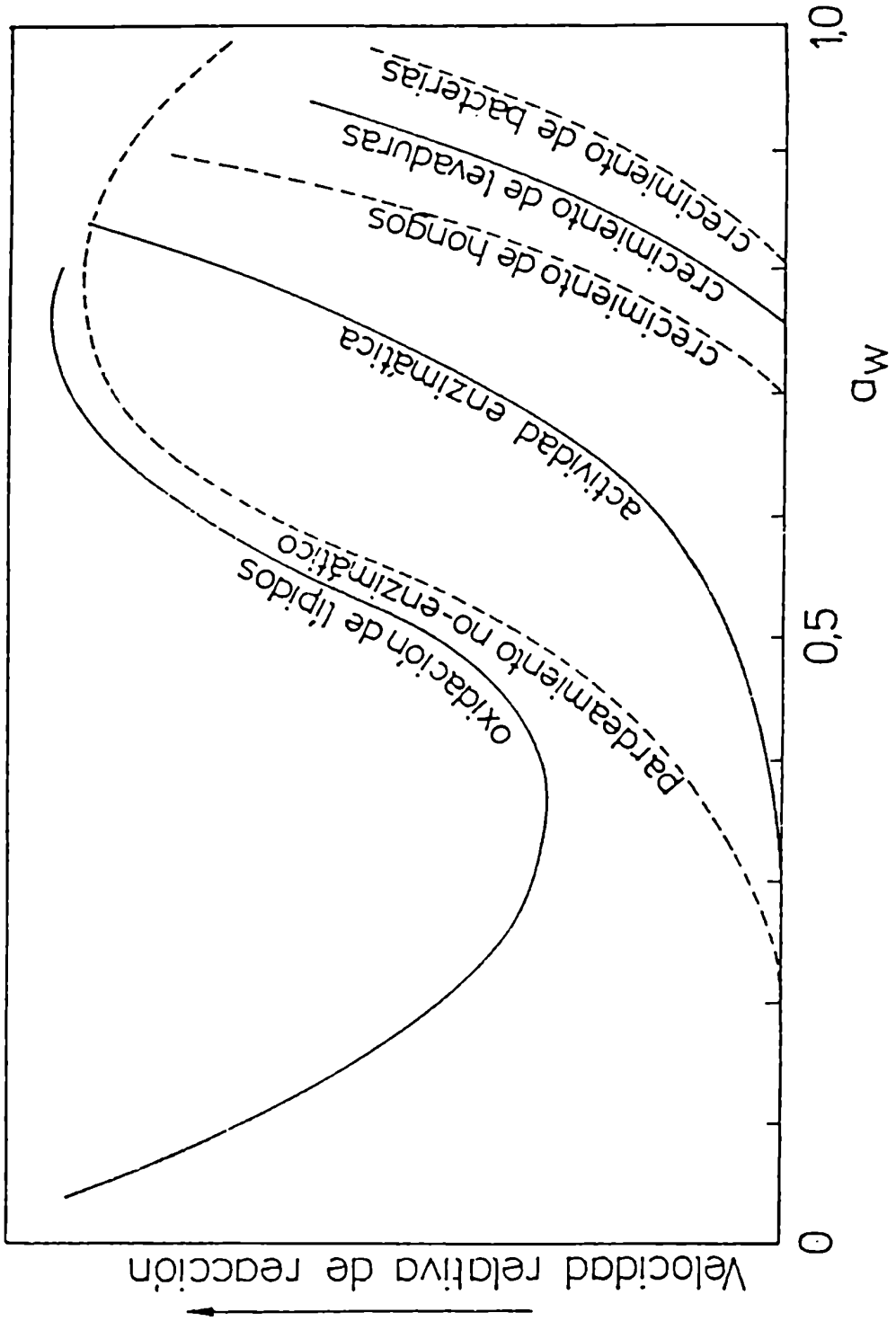


Fig. 1 - Mapa de estabilidad de los alimentos (Labuza y col.,1970)

II.1.2. Actividad de agua

El agua en un alimento no se encuentra en estado puro sino actuando como disolvente, atrapada en estructuras biológicas e interactuando con diversos tipos de macromoléculas. Sus propiedades físico-químicas no son, por consiguiente, las mismas que las del agua pura. Una buena medida del estado físico-químico del agua en los alimentos constituye la actividad de agua (a_w) (Troller y Christian, 1978). La a_w se define de la forma:

$$a_w = \frac{p}{p_o}$$

siendo

p = presión de vapor de agua en el alimento

p_o = presión de vapor de agua pura a la misma temperatura

La actividad de agua está relacionada con la humedad relativa de equilibrio (HRE) a través de la ecuación:

$$a_w = \frac{HRE}{100}$$

El agua pura o libre tiene una $a_w = 1$. Los diferentes fenó-

///

menos de asociación o combinación del agua disminuyen la cantidad de agua libre y por consiguiente, el valor de a_w. La disminución de la a_w puede analizarse considerando la contribución de tres factores principales:

- fenómenos de sorción
- fuerzas capilares
- disolución de solutos

A a_w alta e intermedia la contribución predominante es la disolución de solutos. En soluciones ideales, en las cuales se cumple la ley de Raoult, la a_w es igual a la fracción molar de agua. Para muchos solutos comunes en alimentos (azúcares, polioles) es frecuente la validez de esta ley hasta valores de a_w comprendidos entre 0,90-0,95, por ejemplo, sacarosa: según Raoult 0,960, experimental 0,951; glicerol: 0,909 (Raoult), 0,898 (experimental). A concentraciones mayores de soluto, dependiendo de cada humectante, se presentan desviaciones de la ley de Raoult, que hacen necesario aplicar un factor de corrección en el cálculo de la a_w. Un modelo simple y satisfactorio para soluciones de no electrólitos es el propuesto por Norrish (1966), en el cual:

$$a_w = X_1 \exp(-K X_2^2)$$

siendo

X_1 = fracción molar del agua

X_2 = fracción molar del soluto

K = constante característica de cada soluto

Chirife y col. (1980a, 1980b); Chirife y Ferro Fontán (1980a, 1980b); Alzamora y Chirife (1984), confirmaron en sus trabajos la validez de la ecuación de Norrish, así como calcularon el valor de la constante K para numerososos compuestos no electrólitos encontrados en alimentos.

La ley de Raoult puede aplicarse también a soluciones diluídas de electrólitos fuertes, en las cuales la disociación en iones puede considerarse total. Sin embargo, es frecuente que las soluciones de electrólitos presenten desviaciones a dicha ley causadas por disociación incompleta e interacciones entre sí de los iones y/o con las moléculas del solvente.

Un modelo adecuado para el cálculo de la a_w de la mayoría de los electrólitos encontrados en alimentos es el desarrollado por Pitzer (1973). Consiste en una modificación del modelo clásico de Debye-Hückel que reconoce la influencia de la fuerza iónica en las interacciones binarias. En este modelo el coeficiente osmótico, ϕ, está dado por la ecuación:

///

$$\phi - 1 = |Z_M\ Z_X| f + m\left(\frac{2\nu_M\nu_X}{\nu}\right) B_{MX} + m^2\ 2\left(\frac{\nu_M\ \nu_X}{\nu}\right)^{3/2} C_{MX}$$

siendo

ν_M y ν_X = número de iones de M y de X

Z_M y Z_X = cargas respectivas de los iones

$\nu = \nu_M + \nu_X$

m = molalidad

Además

$$f = - A \left[\frac{I^{\frac{1}{2}}}{1 + bI^{\frac{1}{2}}}\right]$$

$$B_{MX} = \beta^{(0)}_{MX} + \beta^{(1)}_{MX} \exp(- \alpha I^{\frac{1}{2}})$$

donde

A = 0,395 a 25°C (coeficiente de Debye-Hückel)

b = 1,2 (Pitzer y Mayorga, 1973)

α = 2 (Pitzer y Mayorga, 1973)

$I = \frac{1}{2} m_i Z_i^2$ = fuerza iónica

Los valores $\beta^{(0)}$, $\beta^{(1)}$ y C_{MX} fueron evaluados y tabulados por Pitzer y Mayorga (1973) a partir de datos de literatura para una gran variedad de electrólitos. Benmergui y col. (1979) utilizaron estos datos y la relación termodinámica que vincula a_w y ϕ de la forma:

///

$$a_w = \exp(-0{,}018\ m\ \phi\ \nu)$$

para el cálculo de la activiadad de agua de diversas sales de uso posible en alimentos. Es de notar que la gran mayoría de estas sales así como los no electrólitos más usados (azúcares, polioles) presentan desviaciones negativas a la ley de Raoult. Debe tenerse en cuenta que cuanto mayor es la desviación negativa causada por un soluto, menor será la cantidad del mismo a emplear para bajar la a_w, con el consiguiente beneficio en el mantenimiento del "flavor".

Hasta aquí se consideraron sistemas binarios constituídos por un soluto y agua. Un alimento es en realidad un sistema multicomponente, en el cual cada componente contribuye a la actividad de agua final del mismo. Para los sistemas multicomponentes, Ross (1975) desarrolló, a partir de la ecuación de Gibbs-Duhem, una ecuación muy simple para estimar la actividad de agua

$$n_i \quad d\ln(a_i) = 0$$

donde n_i es el número de moles del componente i y a_i la actividad del componente i. Suponiendo que no hay interacción entre los distintos solutos se llega a la expresión:

$$a_w = (a_{w_1}^{\circ})(a_{w_2}^{\circ})(a_{w_3}^{\circ}).....(a_{w_n}^{\circ})$$

La actividad de agua del sistema (a_w), es el producto de la actividad de agua de cada componente ($a_{w_1}°$, $a_{w_2}°$, etc.) considerando que está disuelto en toda el agua del sistema, independientemente de los otros. Esta ecuación se ha aplicado satisfactoriamente en alimentos de humedad intermedia (Vigo y col., 1979). Aplicada a sistemas modelo se cumple bien para no electrólitos, y no electrólitos y un electrólito fuerte. Para dos o más electrólitos fuertes pierde exactitud a valores de a_w inferiores a 0,95 (Ferro Fontán y col., 1980).

II.1.3. Humectantes

Troller (1983) enumera como características deseables de un humectante las siguientes: seguro (no tóxico), efectivo a concentración razonable, compatible con el carácter del alimento, organolépticamente neutro a la concentración de uso, incoloro y estar legalmente aprobada su utilización. Tres clases de compuestos químicos se utilizan en la actualidad como humectantes: azúcares, polioles y sales (Sloan y Labuza, 1975).

Los azúcares son humectantes tradicionales, en particular, la sacarosa, ha sido históricamente el azúcar más empleado. Otros azúcares o productos que los contienen de utilización posible son: glucosa, fructosa, azúcar invertido, miel, jarabe de maíz, melaza, maltosa y lactulosa (Chirife, 1982). También la lactosa y el suero

///

de quesería pueden usarse, con la limitación impuesta por la poca solubilidad de la lactosa (Miracco y col., 1981). Dos inconvenientes presenta el uso de azúcares como humectantes, su participación en reacciones de pardeamiento no enzimático y su sabor dulce, inadecuado para ciertos alimentos. Los azúcares reductores son particularmente reactivos en el pardeamiento no enzimático, no así la sacarosa, que debe hidrolizarse previamente.

Los polioles son alcoholes polihidroxilados con dos o más grupos hidroxilo en su molécula. Tienen más estabilidad química y térmica que los azúcares pero también mayor costo. En general, son solubles en agua, higroscópicos y dan soluciones acuosas de moderada viscosidad. Aunque muchos polioles se encuentran naturalmente en los alimentos y varios miembros de la familia han sido investigados como aditivos potenciales, solo cuatro tienen importancia comercial: propilenglicol, glicerol, sorbitol y manitol. Algunas de sus propiedades se listan en la Tabla 1. Como humectante el manitol es el menos útil dada su poca solubilidad. Otros polioles cuyo empleo ha sido propuesto en alimentos son: butilenglicoles (Alzamora y Chirife, 1984), polietilengligoles (Chirife y Ferro Fontán, 1980b), poliglicéroles (Cardello y col., 1984), xilitol (Voirol, 1985), Licasin (R) (jarabe de glucosa y dextrinas hidrogenado) (Whitmore, 1985).

Los polioles tienen múltiples funciones como aditivos alimentarios. Griffin y Lynch (1972) enumeran doce aspectos a conside-

///

Tabla 1 : Propiedades de polioles (Griffin y Lynch, 1972)

	Propilenglicol	Glicerol	Sorbitol	Manitol
Peso molecular	76	92	182	182
Punto de fusión (°C)	subenfría	18,6	93 (metaestable)	166
Punto ebullición (°C) 760 mm	187	290°C (descompone)	descompone	descompone
Densidad, 25°C	1,036	1,261	1,49	1,49
Viscosidad cp., 25°C	44,0	954	sólido	sólido
Viscosidad 70% solución 25°C	10	17	110	insoluble
Solvente (aceite)	bueno	poca	pobre	pobre
Solubilidad (agua, 25°C)	infinita	infinita	71%	22%
Estabilidad térmica	Estable, volátil	Estable, algo volátil	estable	estable
Sabor	amargo	dulce(leve)	dulce, frío	dulce

rar en lo referente al uso de polioles en alimentos: viscosidad, modificación de cristalización, sabor, acción humectante, acción solvente (aromas), acción rehidratante, acción quelante, acción antioxidante, acción antimicrobiana, acción plastizante, acción espesante, poder dietético. Es interesante notar que siendo menos fermentables que los azúcares se ha comprobado su utilidad en la prevención de caries dentales cuando reemplazan a estos últimos (Whitmore, 1985; Voirol, 1985). También es posible su utilización en alimentos para diabéticos, aunque en general, se prefiere la fructosa menos costosa y mejor tolerada por el organismo (Voirol, 1985). Tres factores contribuyen a la acción antimicrobiana de un humectante (Sinskey, 1976): descenso de la actividad de agua, disminución de la cantidad de agua disponible a una dada a_w y efecto específico antimicrobiano. Esto último se aplica en especial a los polioles y debe considerarse al igual que las otras propiedades, al efectuar la elección de los mismos.

Las dos sales comunes empleadas como humectantes son los cloruros se sodio (NaCl) y potasio (KCl). A éstas hay que añadir algunas sales de ácidos orgánicos (citratos, tartratos, etc.) o inorgánicos (fosfatos), de limitado poder humectante a las concentraciones de uso. El cloruro de sodio o sal común es con mucho la más usada desde época inmemorial. La principal limitación en la utilización del NaCl o KCl radica en el sabor salado del primero y amargo del segun-

///

do. Debe destacarse que actualmente se procura por razones dietéticas disminuir el contenido de sodio en muchos alimentos (Sebranek y col., 1983). Una de las formas de conseguirlo es el reemplazo parcial de NaCl por KCl (Marsh, 1983).

II.2. Evaluación cuantitativa del color de los alimentos

Los caracteres organolépticos de los alimentos pueden analizarse a través de las propiedades sensoriales de textura, apariencia y "flavor" (conjunción de sabor y aroma). El color es en los alimentos factor determinante de la apariencia.

Estos atributos sensoriales son los primeros en ser apreciados por el consumidor y ser considerados por éste al seleccionar productos competitivos. Indudablemente, este hecho no excluye la importancia de la calidad nutricional y microbiológica, pero cuya evaluación no es usualmente inmediata por el consumidor. El objetivo perseguido es, entonces, un alimento apto microbiológicamente, que posea al mismo tiempo la máxima calidad nutritiva y organoléptica posible.

El correcto diseño de equipamiento y procesos para la industria alimentaria requiere adecuada información cinética sobre el comportamiento de los parámetros que hacen a la calidad de los alimentos. Se han hecho extensivos estudios cinéticos sobre la estabilidad de muchos nutrientes. Esto se ha debido tanto a la importancia nutri-

cional como a la facilidad de su determinación analítica.

El estudio de los atributos sensoriales puede ser abordado de dos formas, mediante análisis sensorial o empleo de métodos instrumentales que puedan ser correlacionados con aquéllos. El análisis sensorial mediante paneles entrenados califica a los alimentos con una escala numérica, a la que usualmente se corresponde un juicio de calidad, tal como, "aceptable", "bueno" o "excelente". Este tipo de información no es la más apta para ser usada en el diseño ingenieril, por lo que los métodos de prueba y error siempre fueron los más usados a la hora de optimizar un atributo de calidad de naturaleza sensorial (Lund, 1982). Intentos favorables en este sentido son los realizados por Hayakawa y col. (1977) y Olhsson (1980) que lograron derivar información cinética (parámetros Z, D) correspondientes a la variación de diversos atributos de calidad en varios alimentos (carne, pescado, verduras) evaluados mediante análisis sensorial.

Sin embargo, es de esperar que la medición instrumental de las características organolépticas proporcione información útil y cuantitativa para la calificación de calidad y permita el diseño de procesos más objetivamente, con datos reproducibles y de sencilla obtención. En este aspecto se encuadra el uso de la determinación espectrofotométrica del color como técnica de análisis cuantitativo de la apariencia.

///

II.2.1. La percepción del color

El color es un importante atributo sensorial y factor principal en la apariencia de los alimentos. Su percepción suele constituir el primer paso en la evaluación de la calidad de los mismos (Durán, 1971).

El ojo humano es sensible a la radiación electromagnética en el ámbito de 380 a 770 mm, la cual es comúnmente llamada "luz". Asimismo el sistema visual tiene capacidad de discriminar entre radiación de distinta longitud de onda determinando su "color" a través de un complejo mecanismo trivariante.

Los principios fundamentales de la colorimetría están dados por las tres leyes de Grassman, la principal de las cuales establece que cualquier color puede ser igualado por la suma de tres colores primarios en cantidades convenientes. Estos colores primarios deben ser elegidos de tal forma que sean independientes entre sí, vale decir, ninguno puede ser obtenido por alguna combinación de los otros dos. En la práctica, los colores primarios utilizables en forma aditiva son tres: rojo, verde y azul. La suma de todos ellos produce la sensación de luz blanca o acromática.

Los objetos son coloreados porque absorben selectivamente determinada radiación electromagnética de la luz, usualmente blanca, incidente sobre ellos. Por otra parte, la percepción del color no es

///

un fenómeno simple e intervienen varios factores, a saber (Francis y Clydesdale, 1975):

a) La distribución de la energía espectral del iluminante, es decir, la clase de luz que ilumina al objeto: solar, lámpara de tungsteno o mercurio, etc.
b) Las características espectrales del objeto con respecto a la absorción, reflexión y transmisión de la luz.
c) Las condiciones bajo las cuales el color es visto, tales como el ángulo de visión, el color del contorno y el nivel de iluminación.
d) La sensibilidad del observador.

Por otra parte, se puede clasificar la apariencia de los objetos según sean los denominados atributos geométricos de los mismos, en:

a) Opacos: si absorben y/o reflejan toda la luz.
b) Transparentes: la mayor parte de la luz se transmite sin reflejarse ni difundirse.
c) Translúcidos: parte de la luz es reflejada y parte transmitida, dando lugar a una importante componente difusa tanto transmitida como reflejada.

///

Si los objetos absorben toda la luz incidente sobre ellos, su color será negro. Si absorben selectivamente en el espectro, serán coloreados. A su vez, los atributos geométricos también determinan que la reflexión sea especular, cuando el ángulo de la luz incidente es igual al de la luz reflejada, o difusa, cuando el rayo incidente se refleja en otras direcciones distintas de la especular. Diferentes combinaciones de los casos anteriores dan origen a fenómenos de la apariencia tales como el brillo y el lustre.

De todo lo dicho se puede apreciar la dificultad de reemplazar a la observación visual por una medida instrumental y cuantitativa. La descripción cualitativa de un color puede darse en los términos de los llamados atributos del color, siendo éstos, la claridad, el tono y la saturación (Durán, 1971; Lozano, 1978).

La claridad, luminosidad o visibilidad es el atributo que hace corresponder a cada color una equivalencia con respecto a una escala de grises. El tono o tipo de color es el atributo que adjudica al color una cualidad que se define como rojo, naranja, amarillo, verde, azul, púrpura o cualquier combinación de ellos. La saturación o pureza es el atributo que, fijado el tono, describe el color por su similitud con un color espectral puro; cuanto más parecido a éste, tanto más saturado.

El mecanismo psicofísico de visión del color da al observador humano la capacidad de apreciar estos tres atributos o caracte-

rísticas sensoriales del color. El observador no puede, en cambio, decir nada de la composición espectral del estímulo.

II.2.2. Medida cuantitativa del color

La medida objetiva del color de un material puede obtenerse del análisis de su espectro visible (transmisión o reflexión) obtenida con un espectrofotómetro. No obstante una especificación más completa de la apariencia de un objeto puede requerir de medidas complementarias que consideren la influencia de los atributos geométricos, tales como medición de brillo o turbidez.

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

Como se dijo anteriormente, el observador puede igualar el color de un objeto mediante la suma de cantidades adecuadas de las radiaciones correspondientes a tres colores primarios. El flujo radiante que recibe el observador dependerá de la fracción de la luz incidente sobre el objeto que es transmitida o reflejada por el mismo en su dirección. Por consiguiente, en la especificación de un color es necesario considerar el factor de transmitancia o reflectan-

///

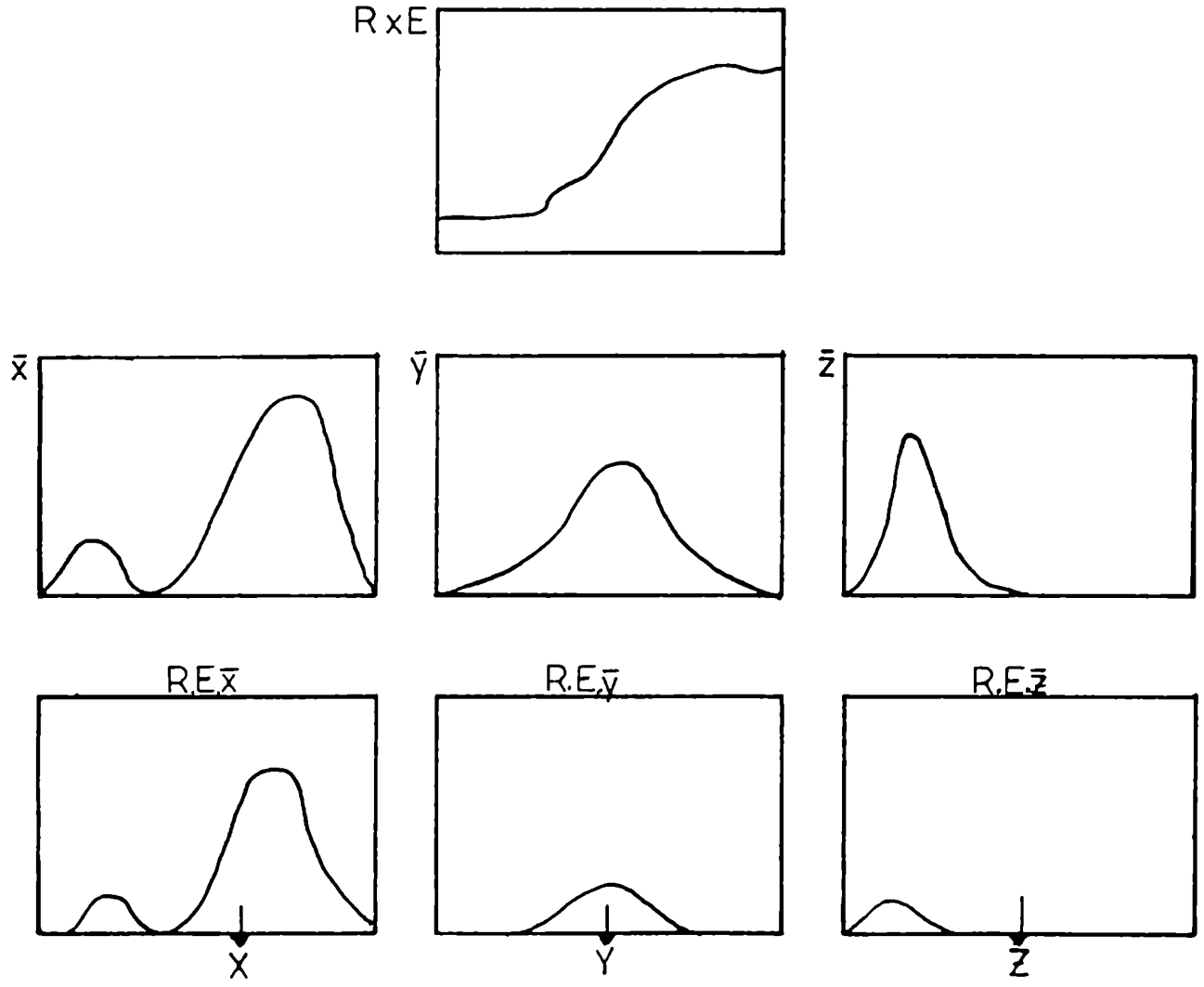
cia espectral, la distribución energética de la luz incidente o iluminante y el análisis por el sistema visual de acuerdo a los tres primarios elegidos.

El factor de transmitancia o reflectancia espectral se obtiene mediante un espectrofotómetro. La distribución energética de diversos iluminantes es conocida. Por ejemplo, el llamado iluminante C (CIE) tiene una distribución energética similar a la luz blanca solar, con una temperatura de color correlacionada de 6800°K. 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. Además, uno de ellos, Y, se ha definido de forma tal de representar toda la luminosidad del color.

El cálculo necesario para obtener los valores triestímulo CIE se esquematiza en la Fig. 2. Como allí se observa, 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 es hecho automáticamente por un sistema de computación acoplado al instrumento.

De esta manera el color queda determinado por un punto en un

///



R: FACTOR DE TRANSMITANCIA O REFLECTANCIA ESPECTRAL
E: DISTRIBUCION ENERGETICA DEL ILUMINANTE
$\bar{x}\,\bar{y}\,\bar{z}$: FUNCIONES DE DISTRIBUCION DE LOS TRES PRIMARIOS CIE

Fig. 2 - Representación esquemática del cálculo de los valores triestímulos CIE a partir del espectro de transmisión o reflexión

espacio tridimensional de coordenadas X, Y, Z. Sin embargo, la forma habitual de representación es calcular las llamadas coordenadas cromáticas x, y, definidas:

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

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

El color se acostumbra indicar en el plano "x,y" (Fig. 3) y eventualmente la luminosidad Y se utiliza como tercera coordenada. El plano "x,y" está delimitado por una línea, en forma de herradura, sobre la cual se encuentran los puntos correspondientes a los colores espectrales puros. En este diagrama, la intersección de la prolongación del segmento que une el punto que representa el color con el correspondiente al iluminante, y esta última línea, es la llamada longitud de onda dominante correspondiente al color en cuestión. La pureza es la relación entre la longitud de ese primer segmento mencionado y la distancia del iluminante a la periferia.

La diferencia entre dos colores viene dada por la distancia entre dos puntos del espacio. La diferencia de color así calculada no suele ser una buena medida de la diferencia entre dos colores, debido a que el espacio CIE no es homogéneo. Es decir, de acuerdo a los

///

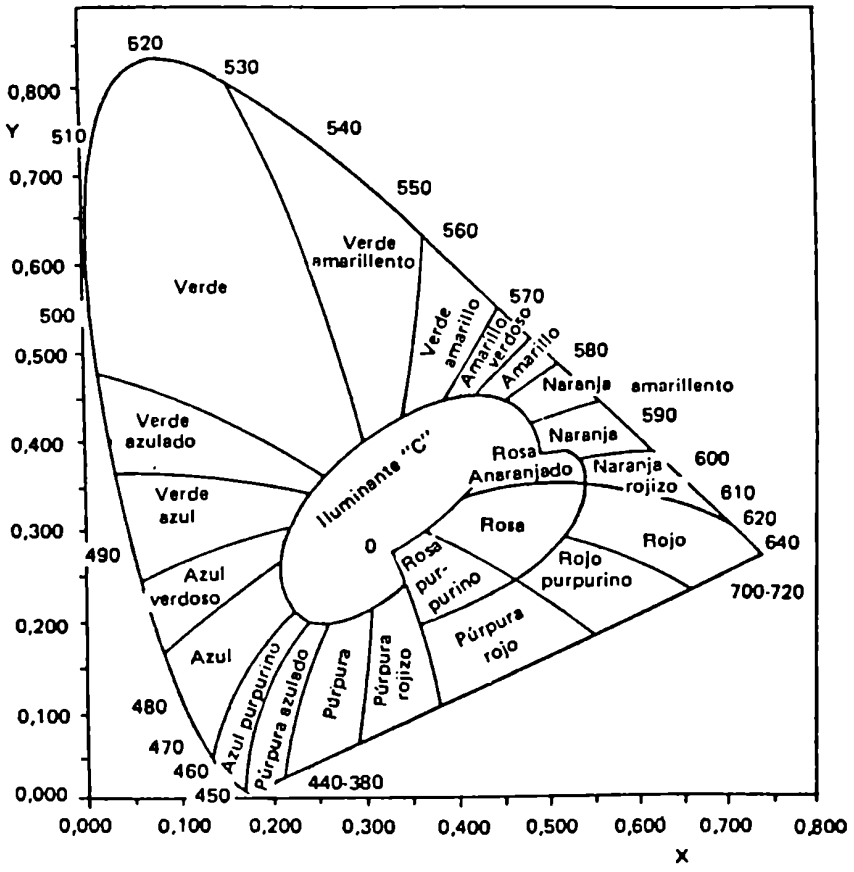


Fig. 3 - Diagrama de cromaticidad CIE (Lozano, 1978)

colores, distancias iguales no representan 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 las diferencias de color.

De esta forma surgen los espacios de color 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. De este modo, las ecuaciones de transformación de coordenadas CIE a CIELUV son (CIE, 1976)

$$L^* = 116(Y/Y_n)^{1/3} - 16$$

$$u^* = 13\ L^*(u' - u_o)$$

$$V^* = 13\ L^*(V^* - V_o)$$

siendo

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

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

$$Y/Y_n > 0,01$$

Como valores de referencia se utilizan los correspondientes al iluminante. Para el caso del iluminante C(CIE) son:

$$u_o = 0,2009 \qquad X_n = 98,041$$

$$V_o = 0,4610 \qquad Y_n = 100,00$$

$$Z_n = 118,03$$

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). Así se pueden calcular en el espacio CIELUV las funciones S_{uv} (saturación), H_{uv} (ángulo de tono) y C_{uv} (croma) (Fig. 4) definidas de la forma:

$$S_{uv} = 13[(u' - u_o)^2 + (v' - v_o)^2]^{\frac{1}{2}}$$

$$H_{uv} = \tan^{-1}(v^*/u^*)$$

$$C_{uv} = S_{uv}\, L^* = (u^{*2} + v^{*2})^{\frac{1}{2}}$$

El sistema CIE y sus transformaciones CIELAB y CIELUV son de uso relativamente reciente en la determinación del color de los ali-

///

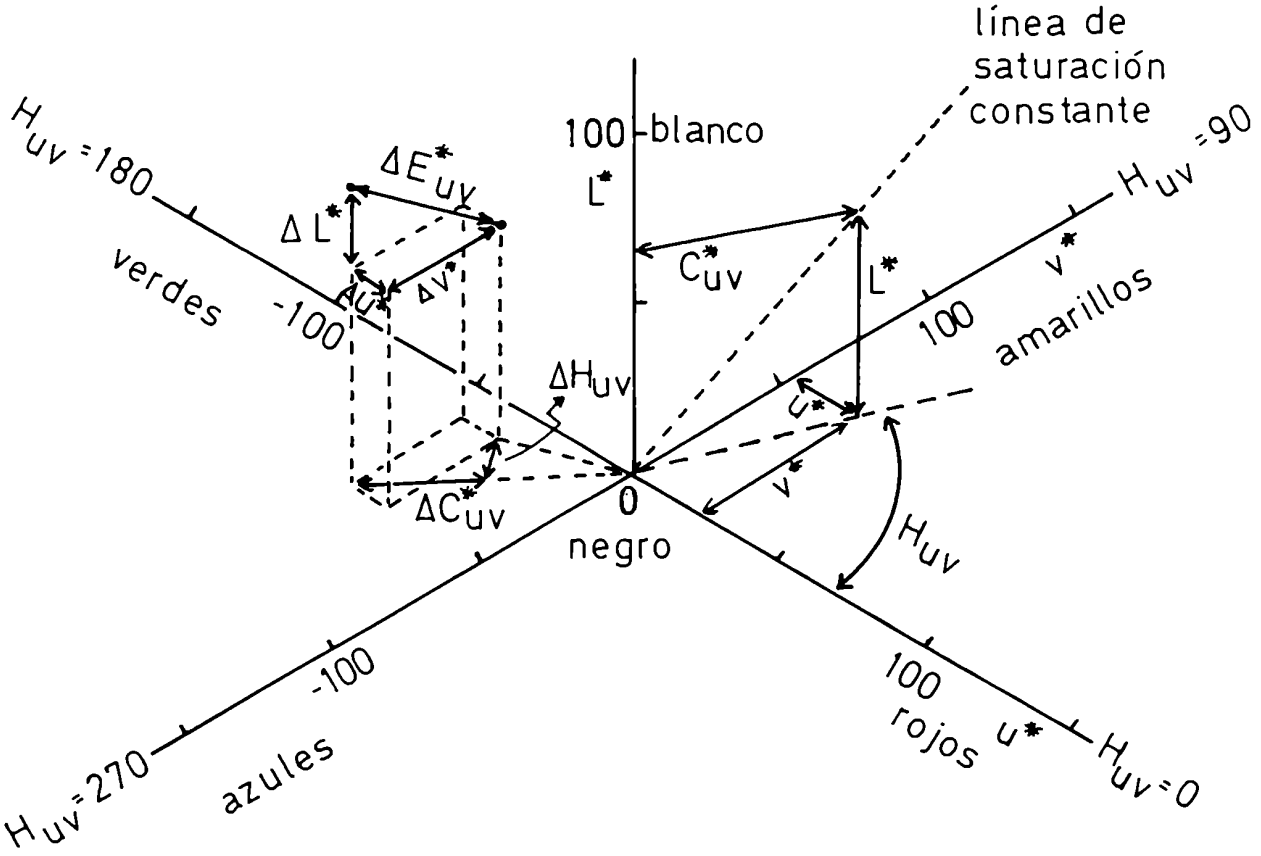


Fig. 4 - Espacio de color CIELUV (Hunt, 1977)

mentos. Mucho más difundido ha sido el empleo de colorímetros triestímulos del tipo Hunter y similares (Francis y Clydesdele, 1975).

Los colorímetros triestímulos trabajan con sistemas de filtros que reproducen más o menos bien un sistema de visión triestímulo. Son menos sensibles que un espectrofotómetro pero más sencillos y económicos. En el colorímetro Hunter, un dispositivo electrónico convierte las mediciones al espacio L,a,b. En este espacio, L representa la luminosidad; +b, amarillo; -b, azul; +a, rojo; - a, verde.

En esta forma, una representación triestímulo del color se obtiene rápidamente, lo cual resulta sumamente útil en ausencia de un sistema de computación que efectue el cálculo esquematizado en la Fig. 2. Este hecho, junto a la fácil interpretación del espacio, L,a,b difundieron mucho el uso del colorímetro Hunter en la determinación del color de los alimentos. Actualmente está disponible una nueva generación de espectrofotómetros que permiten la obtención de las curvas espectrofotométricas y derivan de ellas en forma automática los valores triestímulos CIE. No obstante,debido a la tradición que tiene el uso del espacio Hunter, continua aún siendo bastante empleado (Skrede, 1985).

II.2.3. Aplicaciones de la colorimetría triestímulo en alimentos

En los alimentos en que el color se utiliza como criterio para evaluar la calidad del producto, se ha buscado correlacionar la evaluación visual con los valores obtenidos en la medida instrumental. Ejemplo de ello son los trabajos en tomate, en que el índice de calidad del jugo (TCI = "tomato color index") puede ser hallado con la siguiente ecuación, resultado de una medición de color (Hunter y Yeatman, 1961)

$$TCI = \frac{21,6}{(Y)^{\frac{1}{2}}} - \frac{3,0}{(Y)^{\frac{1}{2}}}\left(\frac{Y - Z}{X - Y}\right)$$

En jugo de naranja, el grado de color rojo (CR = "citrus redness") puede expresarse como (Hunter, 1967)

$$CR = 200\ \frac{1,2777\ X - 0,213\ Z}{Y - 1}$$

y el grado de color amarillo (CY = "citrus yellowness")

$$CY = 100\ \frac{1 - 0,847\ Z}{Y}$$

luego, la graduación de calidad (ECS = "equivalent orange juice co-

///

lor scale") se expresa como

$$ECS = 22.51 + 0,165\ CR + 0,111\ CY$$

El principal inconveniente en desarrollar este tipo de ecuaciones estriba en la dificultad de correlacionar con una evaluación visual, subjetiva, que forzosamente considera el aspecto global del alimento. Esta clase de estudios también ha conducido al desarrollo de colorímetros triestímulos especialmente adaptados para determinado producto.

Otro enfoque utilizado trata de correlacionar el color con el contenido de pigmentos. De esta forma, la pérdida de clorofila en arvejas procesadas térmicamente se puede expresar por la siguiente ecuación (Gold y Weckel, 1959)

$$-a/b = 0,931 - 0,00747\ (\%\ \text{de pérdida de clorofila})$$

La utilidad de emplear espacios de color más homogéneos y funciones de color se manifiesta en la correlación hallada para hojas de perejil deshidratadas, por Berset y Caniaux (1983) entre el ángulo de tono H_{ab} (CIELAB) y clorofila residual ($r = 0,973$) o califiación visual ($r = 0,979$).

Los problemas que se presentan en general derivan en que el

///

color no suele ser una función simple del contenido de pigmentos. Esto puede deberse ya sea a una compleja composición de pigmentos, al diferente estado físico que pueden tener los pigmentos en el producto o a las propias características del color en estudio. Por otra parte, el análisis químico de los pigmentos necesario para poder establecer la correlación, no deja de ser una dificultad muchas veces insuperable.

Debe tenerse en cuenta que no existe una relación simple, del tipo de ley de Beer, entre el color y la concentración o cantidad de un pigmento puro. Las escalas habituales pueden no representar adecuadamente la concentración de un determinado pigmento (Eagerman y col., 1973a). No obstante en algunos casos pueden desarrollarse nuevas escalas o funciones de color a partir de las anteriores, que si sean representativas de la concentración del mismo (Eagerman y col., 1973b).

A veces puede correlacionarse el color con factores no directamente involucrados en el mismo. Así, Bookwalter y Kwolek (1981) hallaron en un alimento infantil a base de maíz y soja una relación lineal entre la disminución de L (Hunter) y la pérdida de valor biológico de sus proteínas. Ambos parámetros son afectados por reacciones de pardeamiento no enzimático durante la preparación del alimento.

Una nueva aplicación de la medición de color en alimentos

///

constituye la realización de estudios cinéticos sobre las variaciones de color (Skrede, 1985; Petriella y col., 1985). Así, Skrede (1985) halló una cinética aparente de orden 1 para la disminución de la variable a (Hunter) en el deterioro de jugo de moras almacenado. Luego, se obtiene una variable objetiva apta para el diseño ingenieril como medida de un carácter sensorial.

II.3. Pardeamiento no enzimático de alimentos

II.3.1. Características del pardeamiento no enzimático de los alimentos

Las reacciones de pardeamiento no enzimático que ocurren durante el procesamiento y almacenamiento de numerosos alimentos, llevan a la formación de pigmentos pardos y diversos compuestos intermedios, que ocasionan notables alteraciones en sus características nutricionales, organolépticas y funcionales.

Una gran variedad de alimentos son deterioradas por reacciones de pardeamiento no enzimático: jugos de fruta (Stadman, 1948), alimentos deshidratados (huevos, lácteos, carnes, frutas y vegetales) (Lea, 1958; Stadman, 1948; Patton, 1955) y en general alimentos de humedad intermedia (Erickson, 1982).

Hay tres rutas principales por las cuales puede ocurrir la

///

reacción de pardeamiento no enzimático (Braverman, 1963): caramelización de azúcares, oxidación del ácido ascórbico y la reacción de Maillard. La composición y el pH del alimento junto a la temperatura a la que es sometido determinarán el tipo de reacción predominante.

Los efectos del pardeamiento no enzimático sobre los alimentos son múltiples. Entre ellos podemos nombrar:

- cambios de color debidos a la producción de sustancias parduzcas y destrucción de pigmentos del alimento (Meschter, 1953).
- producción de aromas y sabores (Pokorny, 1980)
- pérdida de solubilidad de proteínas con los consiguientes cambios en la textura y alteración en el poder de reconstitución de los alimentos deshidratados (Labuza y col., 1977)
- pérdida del valor nutritivo al dañarse aminoácidos esenciales como la L-lisina (Mauron, 1981) o vitaminas como el ácido ascórbico (Clegg, 1964)
- producción de metabolitos de potencial acción tóxica (Powrie y col., 1981)
- liberación de CO_2 (Cole, 1967).

- disminución del pH (Ellis, 1959).

En la mayoría de los casos estos efectos resultan perjudiciales, particularmente en el procesamiento y almacenamiento de alimentos deshidratados (Lea, 1958) y de humedad intermedia (Erikson, 1982).

Sin embargo, en algunos casos las reacciones de pardeamiento no enzimático resultan beneficiosas, como en la cocción de la carne y el pan, o en la fabricación de caramelo, dulce de leche y productos relacionados.

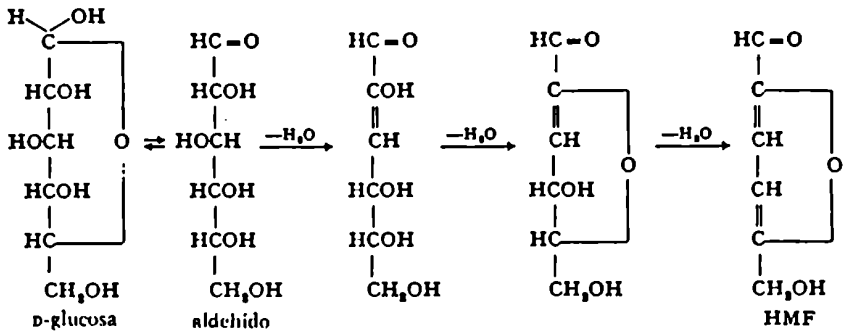
Dos propiedades novedosas y beneficiosas de la mezcla de compuestos producida en las reacciones de pardeamiento no enzimático, son su acción antioxidante sobre los lípidos de ciertos alimentos (Lingnert y Eriksson,1981) y su eventual acción antimicrobiana (Lara y Gilliland, 1985).

II.3.2. Caramelización de azúcares

Cuando se calientan azúcares en forma anhidra o en solución, éstos se descomponen formando un pigmento pardo, de naturaleza polimérica, conocido como "caramelo". Esta descomposición es catalizada por ácidos y bases. Los azúcares experimentan hidrólisis, enolización, isomerización, deshidratación, fragmentación y oxidación. De

///

este modo se forman compuestos carbonílicos altamente reactivos que reaccionan entre sí dando polímeros insaturados de color pardo (Hodge y Osman, 1976). En medio ácido predomina la deshidratación y los principales intermediarios son derivados del furfural. A partir de pentosas se forma furfural mientras que la descomposición de hexosas produce 5-hidroximetilfurfural (HMF) según se indica en la siguiente secuencia de reacciones:



(Braverman, 1963)

En medio alcalino las reacciones de enolización ocurren rápidamente, abundan los productos de fragmentación y oxidación, y como resultado el pardeamiento es muy rápido.

II.3.3. Oxidación del ácido ascórbico

El ácido ascórbico se degrada mediante similares mecanismos

///

que los carbohidratos. Por lo tanto, su estabilidad decrece rápidamente a pH extremos y temperaturas elevadas. La degradación puede ser anaerobia,o en presencia de oxígeno (oxidativa). En medio ácido el furfural y sus productos de polimerización son importantes productos finales. Se produce pardeamiento acompañado de la pérdida de valor nutritivo fundamentalmente al destruirse la actividad de vitamina C (Braverman, 1963; Clegg, 1964).

II.3.4. Reacción de Maillard

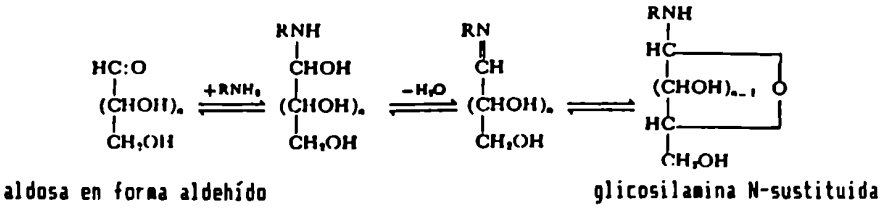
Es la más frecuente causa del pardeamiento no enzimático en alimentos y se origina en la condensación de un grupo carbonilo reactivo, usualmente de un azúcar reductor, y un grupo amino proveniente, por ejemplo, de un aminoácido o proteína. Se ha demostrado su especial importancia en el pardeamiento no enzimático de alimentos deshidratados y alimentos de humedad intermedia.

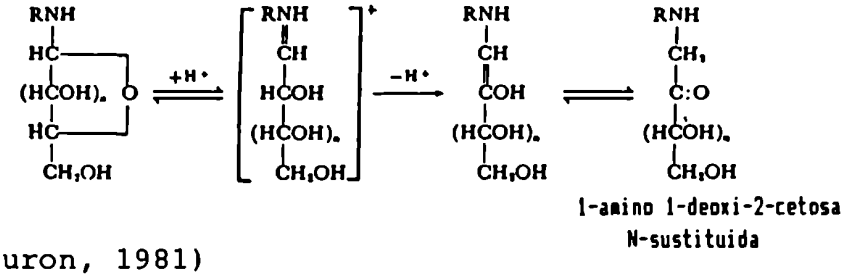
La reacción es muy compleja y su secuencia se puede esquematizar en la siguiente forma (Hodge, 1953; Hodge y Osman, 1976):

1) Etapa inicial (productos incoloros sin absorción en el UV cercano)

   a) condensación azúcar-amino
   b) reordenamiento de Amadori

La secuencia de reacciones de esta etapa es:





(Mauron, 1981)

O sea, partiendo de glucosa a través del reordenamiento de Amadori se forma una fructosamina, la cual a su vez, puede reaccionar con una segunda molécula de glucosa para dar una difructosamina (Baltes, 1982). Por otra parte, la fructosa experimenta el reordenamiento de Amadori, llamado en este caso de Heyns, formándose la correspondiente glucosamina N-sustituída.

2) Etapa intermedia (productos incoloros o amarillo pálido con fuerte absorción en el UV)

c) deshidratación de azúcares

d) fragmentación de azúcares

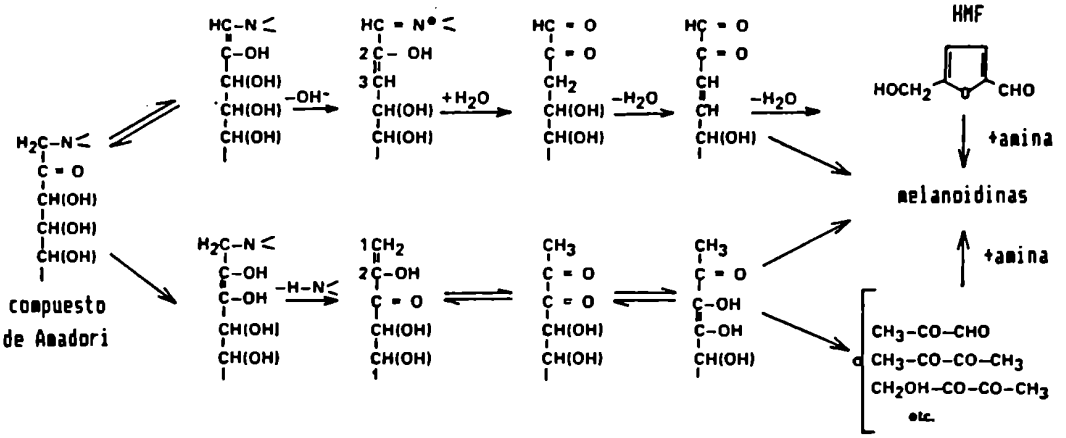
e) degradación de aminoácidos

3) Etapa final (productos coloreados)

f) condensación aldólica

g) polimerización aldehído-amina con formación de compuestos heterocíclicos conteniendo nitrógeno.

Un esquema simplificado de estas dos últimas etapas se muestra en la siguiente secuencia de reacciones:



(Hodge y Osman, 1976)

Se debe destacar que también como consecuencia de la reacción de Maillard se forma 5-hidroximetilfurfural (HMF).

Durante la reacción se desprende CO_2 y en condiciones aero-

///

bias puede consumirse O_2, aunque éste no es un componente indispensable para que ocurra la misma. Aunque la reacción es muy compleja, puede considerarse en cierta forma como una descomposición de azúcares catalizada por aminoácidos, aunque estos últimos se degradan en la misma. Por otra parte, otros componentes de los alimentos pueden participar, como bases nitrogenadas (tiamina, etanolamina, etc.) y compuestos carbonílicos provenientes de la oxidación de lípidos (Suyama y Adachi, 1979; Doyon y Smyrl, 1983).

Los pigmentos pardos obtenidos en la etapa final de la reacción se denominan melanoidinas. Son polímeros insaturados y contienen nitrógeno. Algunas melanoidinas son solubles en agua y soluciones alcohólicas, otras en cambio son insolubles. Su composición y peso molecular depende de las sustancias reactivas y condiciones de la reacción. La estructura química de las melanoidinas permanece oscura, aunque se han hecho numerosos, y a menudo contradictorios hallazgos parciales. Se ha identificado en sistemas modelo diversas estructuras heterocíclicas y grupos funcionales, pero no ha sido encontrada una secuencia homóloga (Kato y Tsuchida, 1981; Baltes, 1982).

II.3.4.1. Factores que afectan su desarrollo

II.3.4.1a. Composición del sistema

Las aldopentosas son más reactivas que las aldohexosas

///

y los disacáridos reductores son aún menos reactivos que estos últimos (Spark, 1969). Los disacáridos no reductores como la sacarosa deben hidrolizarse previamente para participar en la reacción. Tal es el caso de los sistemas proteína-sacarosa, en los cuales se produce pardeamiento cuando existen condiciones que favorecen la hidrólisis (bajo pH y alta humedad) (Hurrel y Carpenter, 1977).

La L-lisina en los sistemas estudiados ha resultado el más reactivo de los aminoácidos comúnmente presentes en los alimentos. El grupo amino situado en posición ε es más reactivo que el grupo amino en posición α (Dworschák, 1980).

Se ha comprobado que la presencia de oxoaniones incrementa la velocidad de pardeamiento en sistemas modelos. Por consiguiente, la presencia de soluciones tampón (por ejemplo, fosfatos) modifica la velocidad de reacción mediante dos mecanismos: efecto catalítico y mantenimiento constante del pH (Saunders y Jervis, 1966).

Los metales pesados pueden formar complejos con los aminoácidos y azúcares e influir en la velocidad de reacción en forma positiva o negativa. Se ha descripto catálisis por parte de hierro y cobre (Dworschák, 1980; Kato y col., 1981) e inhibición por parte del estaño y el manganeso (Dworschák, 1980).

II.3.4.1b. Humedad

El agua proporciona un medio para la reacción y al mismo

///

tiempo es un producto de la misma. En un alimento sólido, deshidratado a muy bajo contenido acuoso, los reactivos interaccionan dificílmente entre ellos y la reacción es muy lenta. A medida que aumenta la humedad, y por consiguiente la a_w del sistema, ocurren dos fenómenos: disminución de la viscosidad de la fase acuosa y disolución de los reactivos en esa fase. 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 incremento sostenido de la velocidad de reacción al aumentar la a_w.

Eventualmente, 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 ulterior aumento del contenido acuoso sólo provoca su dilución. Este último efecto, sumado al hecho de que el agua por ser un producto de la reacción tiene un efecto inhibitorio sobre la misma, ocasiona una disminución de la velocidad de reacción que no es compensada por la disminución de la viscosidad. Por consiguiente, se observa un máximo en la velocidad de pardeamiento para cierta a_w del sistema, según se representa en la Fig. 5. Dependiente del tipo de alimento, el máximo suele ubicarse en el rango de a_w comprendido entre 0,60 y 0,80, coincidente con la a_w de los alimentos de humedad intermedia (Labuza y Saltmarch, 1981).

La importancia de los efectos viscosos en los alimentos

///

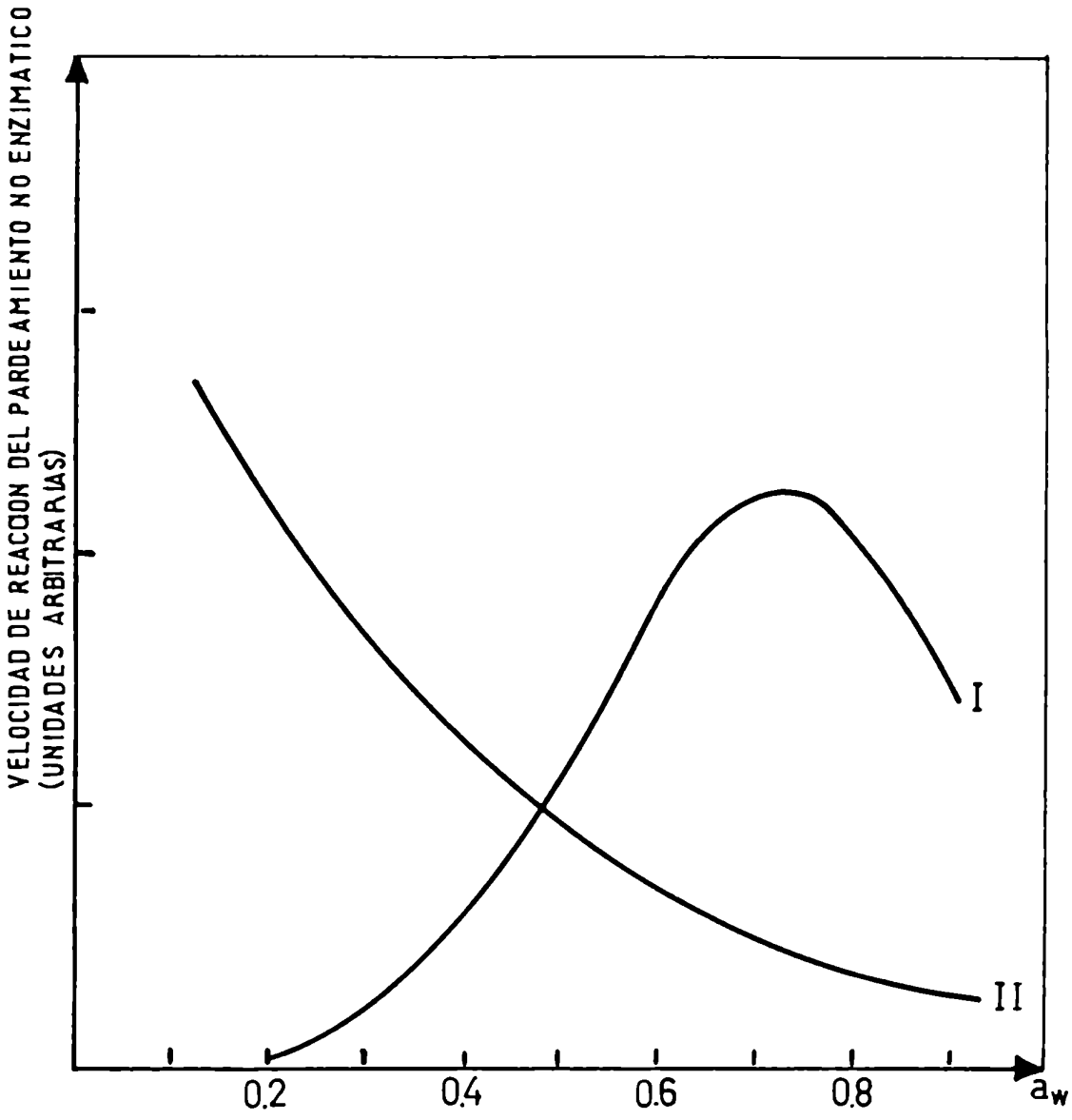


Fig. 5 - Dependencia de la velocidad de pardeamiento no enzimático en función de la a_w.

I. Alimentos y sistemas sólidos (Labuza y Saltmarch, 1981)

II. Alimentos y sistemas líquidos (Loncin y col., 1965)

sólidos de humedad intermedia se pone de manifiesto en sistemas modelos cuya a_w se ha controlado mediante el agregado de polioles. Se ha observado que el agregado de polioles líquidos, como glicerol, propilenglicol y 1,3-butilenglicol desplaza el máximo de pardeamiento hacia zonas de menor a_w. Esto se puede explicar suponiendo un reemplazo parcial del agua por el humectante, ya sea como solvente de las sustancias reactivas o provocando una disminución de la viscosidad de la fase acuosa (efecto plastizante)a bajos contenidos de agua. En cambio el sorbitol, poliol sólido, agregado como humectante en sistemas modelo sólidos de a_w inferior a 0,85 provoca una notable inhibición del pardeamiento a medida que ésta disminuye. Se atribuye este efecto al característico aumento de viscosidad originado por la disolución del sorbitol (Warmbier y col., 1976; Labuza, 1980).

El proceso de concentrar jugos de fruta en el rango de aplicación comercial (hasta 60-70° Brix) aumenta la tendencia a experimentar el pardeamiento no enzimático. No sólo se produce una eliminación de agua sino que se concentran las sustancias reactivas. El aumento de viscosidad no es suficiente para compensar estos factores y la velocidad de reacción se incrementa con el grado de concentración (Saguy y col., 1978; Toribio y Lozano, 1984). Sin embargo,al concentrar aún más jugo de manzana Toribio y col.(1984) han encontrado la presencia de un máximo de pardeamiento en jugo concentrado a a_w entre 0,53 y 0,55 (aproximadamente 81-83° Brix) con poca disminu-

///

ción del mismo a mayor concentración. En forma coincidente, esta a_w marca el inicio de drásticos incrementos en la viscosidad del jugo (10^5-10^6 cp) al aumentarse más su concentración.

En algunos sistemas modelo líquido binarios formulados con agua y otro solvente, en los cuales los reactivos están disueltos en concentración constante, se ha encontrado una gradual disminución de la velocidad de reacción al aumentar la proporción de agua, atribuible a la inhibición por producto causada por ésta. Por consiguiente, no se observa un máximo de pardeamiento en zonas de humedad intermedia (Fig. 5) (Loncin y col., 1965; Eichner y Karel, 1972).

II.3.5. Métodos de medición del pardeamiento no enzimático

Una de las consecuencias resultante de la complejidad de las reacciones de pardeamiento no enzimático y de la multiplicidad de sus efectos sobre los alimentos es la diversidad de medios que han sido utilizados para estudiar su progreso.

Los métodos espectrofotométricos han sido extensamente empleados. Así, mientras que los cambios en el espectro visible son representativos de la formación de pigmentos, aquéllos en la región ultravioleta se corresponden con la formación de furfurales y otros compuestos carbonílicos capaces de absorber en dicha zona. Ambos cambios serán discutidos en detalle más adelante. Más limitado es el

///

empleo de espectrofluorometría, aunque las sustancias fluorógenas responsables de la fluorescencia no han sido aún mayormente identificadas, es una técnica de gran sensibilidad capaz de brindar valiosa información (Adhikari y Tappel, 1983; Cerrutti y col., 1985).

También el avance del pardeamiento no enzimático ha sido seguido midiendo la liberación de CO_2 (Cole, 1967), descenso del pH (Resnik y col., 1981), formación y descomposición de compuestos de Amadori (Lee y col., 1984), evolución de acción antioxidante (Park y Kim, 1983) y disminución de la concentración de azúcares (Cerrutti y col., 1985).

Los aminoácidos se destruyen en la reacción de Maillard, por lo tanto la pérdida de nitrógeno amídico y la disminución de su concentración fueron muy utilizadas para seguir esta descomposición (Ellis, 1959). Actualmente se prefiere determinar la disponibilidad de aminoácidos esenciales (en especial lisina), en forma química o biológica, y conocer así la pérdida de valor nutritivo experimentado por el alimento (Mauron, 1981).

Otro enfoque, más reciente, propone la utilización de ciertos compuestos químicos formados durante el pardeamiento como indicativos de los cambios sufridos por el alimento. Estos compuestos deben ser de fácil análisis y relativamente estables una vez formados. Luego, su concentración puede eventualmente correlacionarse con el deterioro experimentado por el alimento, y por consiguiente su cali-

///

dad, o con otros parámetros útiles. En esta forma, el nivel observado de 5-hidroximetilfurfural (HMF) durante el deshidratado de manzanas, se correlaciona bien con la densidad, desintegración, rehidratación y color, pudiendo ser utilizado en predecir las condiciones de operación óptimas (Sullivan, 1981). El mismo compuesto ha sido relacionado con el contenido de triptófano (Trp) en un alimento infantil almacenado: Trp = - 0,59 log(HMF) + 0,46 (Dworschák, 1980).

Otros compuestos "indicadores" propuestos son: furfural, en jugo de naranjas (Nagy y Randall, 1973); furosina y piridosina en productos lácteos (Burton, 1984) e isovaleraldehído, en tomates y zanahorias deshidratadas (Eichner y Ciner-Doruk, 1981).

Estos compuestos no pueden considerarse como productos finales de la reacción, sino más bien intermediarios. No obstante, en determinados sistemas y alimentos resultan los suficientemente estables o su acumulación lo bastante significativa, para poder ser empleados con aquel fin.

II.3.5.1. Modificación del espectro visible

Los pigmentos pardos producidos por las reacciones de pardeamiento no enzimático se caracterizan por absorber radiación electromagnética en la zona visible del espectro, sin presentar máximos

///

ni mínimos característicos, sino un gradual aumento de la absorbancia a medida que disminuye la longitud de onda (Clark y Tannenbaum, 1970). Luego, en alimentos que han experimentado estas reacciones su presencia altera las características espectrales, y por consiguiente, el color natural de los mismos.

El método más usado para estudiar la coloración resultante de las reacciones de pardeamiento no enzimático ha sido la aislación de los pigmentos y su posterior análisis colorimétrico.

Los métodos habituales utilizados en la separación de los pigmentos constan de tres etapas principales (Meydav y col., 1977):

1) Extracción de las sustancias coloreadas solubles en los alimentos sólidos.

2) Clarificación del extracto resultante. Los alimentos líquidos se clarifican directamente.

3) Colorimetría del extracto clarificado.

El análisis colorimétrico suele consistir en medir la absorbancia a una longitud de onda determinada, usualmente entre 400-500 nm. Tomando la precaución de trabajar en un rango de dilución adecuado se puede considerar la existencia de una relación lineal en-

///

tre la absorbancia y la cantidad de pigmento en acuerdo a la ley de Beer (Maier y Schiller, 1959).

Debe tenerse en cuenta que esto implica considerar que el pigmento formado en todo el transcurso de la reacción es el mismo, o al menos sus características espectrales. Esto no es necesariamente cierto en las reacciones de pardeamiento donde el pigmento se forma en múltiples reacciones de adición, eliminación y deshidratación, altamente dependientes de las condiciones de reacción. Este problema se agrava en alimentos por ser sistemas muy complejos.

Otra fuente de error puede provenir de insuficiente extracción o extracción de otros pigmentos. Por este motivo, los resultados son altamente dependientes de la técnica y solventes usados.

Por otra parte, la absorbancia del extracto no proporciona una idea correcta del aspecto visual del alimento pardeado, como la da, en cambio, la medida de su color. Por ejemplo, muestras con la misma absorbancia a 450 nm tienen diferente grado visual de pardeamiento, según se observa en la comparación de sistemas sulfitados con respecto a los no inhibidos. El SO_2 produce una modificación del espectro no detectable a 450 nm (Spark, 1969). No obstante en algunos casos se puede establecer una correlación entre la absorbancia del extracto y el color del alimento, según se ha comprobado en jugo de naranja reconstituído (Robertson y Reeves, 1981).

De lo dicho se infiere que la simple medición de la absor-

///

bancia de un extracto a una única longitud de onda dista de ser una técnica perfecta. En consecuencia es de esperar que arroje utilidad el estudio, por un lado, de las características espectrales de los pigmentos extraídos, y por otro, de la colorimetría directa del alimento pardeado.

En este aspecto, Clark y Tannembaum (1970) purificaron los pigmentos provenientes de la reacción glucosa-caseína y de la polimerización de furfural. Examinando sus espectros visibles encontraron una relación lineal entre el logaritmo de la absorbancia y el logaritmo de la longitud de onda correspondiente. Las rectas obtenidas con ambos pigmentos tuvieron la misma pendiente.

Motai (1973), con el objeto de caracterizar las melanoidinas obtenidas en sistemas modelo xilosa-glicina, introduce el valor ΔA, variación en el logaritmo de la absorbancia por 100 nm, en el tramo del espectro visible, que aproxima por medio de una recta, comprendida entre 450 y 650 nm.

Recientemente, Buera y col. (1986) analizaron las características cromáticas de una diversidad de sistemas modelo acuosos azúcar-aminoácido con diferente grado de pardeamiento, en términos de su longitud de onda dominante, pureza y luminosidad. De esta forma, hallaron una curva en el espacio x,y con puntos de longitud de onda dominante entre 573 y 580 nm y pureza entre 0,1 y 0,9.

Por otra parte, la colorimetría directa en alimentos par-

///

deados se inicia con las determinaciones efectuadas mediante comparación visual con patrones adecuados (Nichols y col., 1938), utilización de discos Munsell (Moore y col., 1944) y tintómetro Lovibond (Joslyn y Marsh, 1935). Posteriormente se emplearon métodos de colorimetría triestímulo (Francis y Clydesdale, 1975). El propósito principal de estos estudios ha sido establecer correlaciones entre el color y la aceptabilidad, durabilidad y calidad del alimento.

El color resultante del alimento es frecuentemente producto no sólo del pardeamiento, sino de la degradación de otros pigmentos eventualmente presentes (clorofila, carotenoides, etc.). La medición exclusiva del pardeamiento debe entonces involucrar la utilización de una selección o transformación adecuada de las variables de color. En esta forma, Ramakrishnan y Francis (1970) estudiaron el color del pimentón tratado térmicamente, el cual es resultado de dos contribuciones: degradación de carotenoides y pardeamiento no enzimático. De este modo hallaron que mientras que la concentración de carotenoides es proporcional al parámetro a (Hunter), el logaritmo de la absorbancia (450 nm) de un extracto de los pigmentos pardos decrece linealmente con el aumento de L (Hunter).

En su trabajo sobre diferentes métodos de evaluar el pardeamiento de dátiles, Maier y Schiller (1959) prepararon mezclas con diferentes proporciones de tejido de dátil muy pardeado y sin pardear. La absorbancia (400 nm) del extracto de estas mezclas es linealmente

///

proporcional a la cantidad de dátil pardeado empleado. En cambio, la luminosidad (fotómetro Photovolt) del puré preparado con las mismas mezclas aproxima a una relación logarítmica. Es de notar la gran sensibilidad del valor de luminosidad para variaciones en mezclas que contienen poco dátil pardeado.

Otros trabajos en que se han usado variables de color para seguir el pardeamiento no enzimático son: L (Hunter) en jugo de pera concentrado (Cornwell y Wrolstad, 1981); reflectancia(colorímetro Agtron F) en manzana deshidratada (Singh y col., 1983); ΔE (Hunter) en queso fundido (Bley y col., 1985).

Por último, el uso de la colorimetría triestímulo en el espacio CIE (Resnik y col., 1981) y en los espacios CIELAB y CIELUV (Petriella, 1983; Petriella y col., 1985) fue aplicada al estudio del pardeamiento no enzimático en sistemas modelo acuosos azúcar-aminoácido. En estos trabajos se demostró la factibilidad de usar funciones de color derivadas de los valores triestímulos CIE como parámetros cinéticos indicativos del pardeamiento.

II.3.5.2. Modificación del espectro ultravioleta

La mezcla de productos resultantes de las reacciones de pardeamiento no enzimático se caracteriza por presentar fuerte absorción en la zona ultravioleta del espectro de radiación electromagné-

///

tica. Es característica la existencia de un máximo de absorbancia en el rango 280-300 nm, tanto en alimentos (Hass y col., 1948; Clegg, 1964) como en sistemas modelo (Friedman y Kline, 1950). Aunque menos empleada que la medición en el espectro visible, la absorbancia a una longitud de onda dada en ese rango del espectro ultravioleta ha sido considerada indicativa de la reacción de pardeamiento no enzimático en sistemas modelo y alimentos, por ejemplo: A_{300}, sistemas modelo alanina-glucosa (Loncin y col., 1965); A_{285}, sistemas modelo azúcar-glicina (Burton y col., 1963); A_{282}, manzana deshidratada (Resnik y Chirife, 1979); A_{280}, sacarosa liofilizada (Flink, 1983).

Los pigmentos y melanoidinas absorben en el ultravioleta sin rasgos notables (Clark y Tannenbaum, 1970; Feather y Nelson, 1984), atribuyéndose la existencia del máximo de absorbancia a la presencia de furfurales, en particular en sistemas que contienen hexosas, del 5-hidroximetilfurfural (HMF) (Wolfrom y col., 1948; Hodge, 1953; Hodge y Osman, 1976; Resnik y Chirife, 1979;Feather y Nelson, 1984).

Se caracteriza el espectro de absorción ultravioleta del HMF en solución acuosa por poseer un máximo a 285 nm con coeficiente de extinción molar ε = 16500 y un segundo máximo de menor importancia a 228 nm, ε = 3620, situándose el mínimo de absorbancia a 245 nm (Wolfrom y col., 1948).

En la Fig. 6 se ilustra el espectro de absorción ultravio-

///

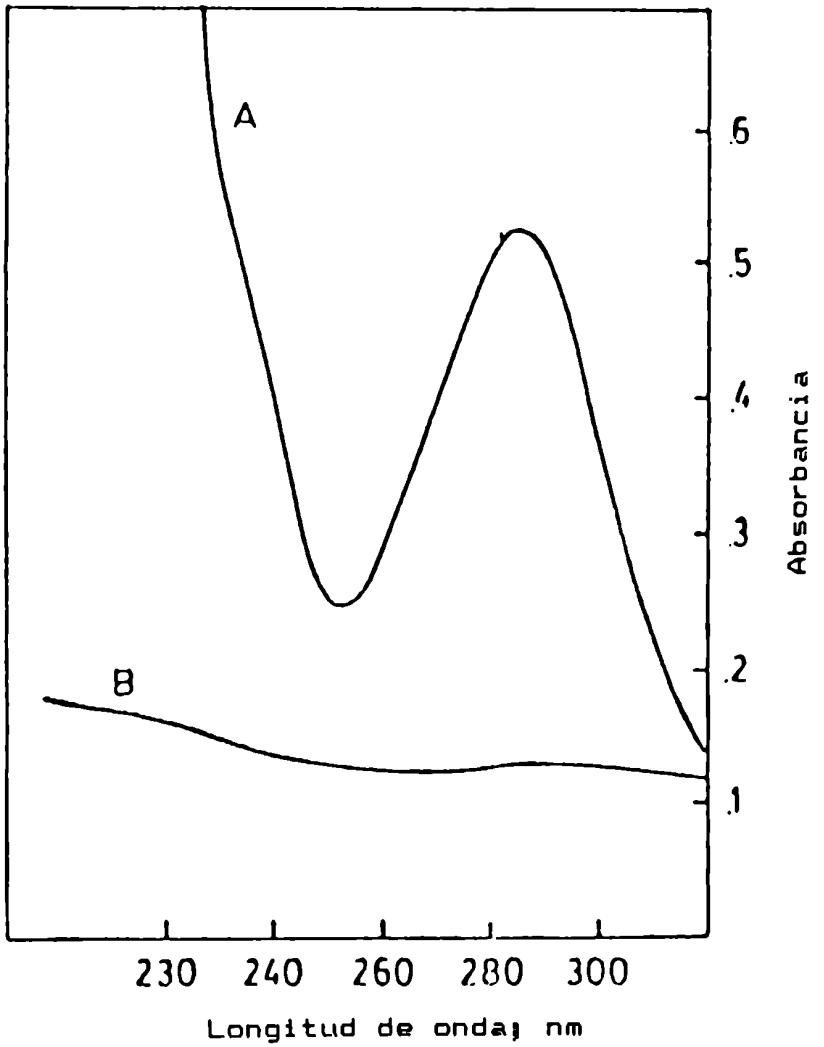


Fig. 6 - Espectro de absorción ultravioleta de los productos de reacción (A) de glucosa y glicina en solución acuosa (dilución 1:2000) y de un pigmento polimérico (B) producido en las mismas condiciones (Feather y Nelson, 1984)

leta obtenido por Feather y Nelson (1984) de los productos de reacción de un sistema modelo glucosa-glicina pardeado, antes y después de someter el mismo a diálisis exhaustiva. Es notable la disminución de la absorbancia y la desaparición del máximo al eliminarse los compuestos de bajo peso molecular (donde se incluye el HMF) y quedar solamente los pigmentos poliméricos.

///

III. PARTE EXPERIMENTAL

III.1. Sistemas modelo

III.1.1. Descripción y preparación

Los sistemas modelo fueron soluciones acuosas de un azúcar reductor, D-glucosa o D-fructosa, y un aminoácido, L-lisina, con a_w ajustada mediante el agregado de un humectante y pH controlado a través de una mezcla de sales de fosfato.

Los humectantes empleados fueron polioles: glicerol, sorbitol, propilenglicol, polietilenglicol (PEG) 200, polietilenglicol (PEG) 400 y 1,3-butilenglicol; o sales: KCl, NaCl y Na_2SO_4.

Las reacciones de pardeamiento no enzimático producen descenso del pH, debido a la formación de ácidos y consumo de bases (grupos amino). A fin de mantener constante el pH se utilizó una solución reguladora de sales de fosfato en alta concentración (0,35M en fosfato), próxima al límite de solubilidad en los sistemas modelo. De esta forma la disminución de pH que acompaña al pardeamiento se redujo al mínimo (< 0,1). En la preparación de las soluciones se utilizaron KH_2PO_4 y $Na_2HPO_4.2H_2O$ cuyas proporciones relativas debieron determinarse experimentalmente para cada pH y humectante. El ajuste final del pH se realizó con solución concentrada de HCl o HONa, según corres-

///

pondiera. La medición del pH ($\pm$ 0,02) se efectuó con un pHmetro Metrhom, modelo E 632 y el electrodo de vidrio EA 120.

Las soluciones fueron preparadas disolviendo todos los reactivos en agua destilada y llevando a volumen en matraz aforado. Luego se midió y ajustó el pH en la forma ya descripta. Finalmente, cada solución se envasó en envases de polietileno de alta densidad (capacidad nominal 20 cm^3) provistos de tapa a rosca del mismo material, a razón de 18 ml por frasco.

III.1.2. Reactivos

Se utilizó D-glucosa, D-fructosa, glicerol, propilenglicol, sorbitol,polietilenglicol 400 (PEG 400), Na_2SO_4 y CsCl marca Mallinckrodt (St. Louis, MO, USA). El NaCl, KCl, LiCl, $NO_2HPO_4.2H_20$, HONa y HCl (c) fueron de Merck (Darmstadt, Alemania R.F.). Los restantes reactivos se adquirieron: 1,3-butilenglicol a BDH (Poole, Gran Bretaña), polietilenglicol 200 (PEG 200) a FLUKA (Buchs, Suiza) y L-lisina a SIGMA (St. Louis, MO, USA).

III.1.3. Cálculo y medición de la actividad de agua

Como primer paso en la formulación de los sistemas modelo fue necesario determinar las cantidades de humectante, poliol o sal,

///

requeridas para lograr los niveles de a_w deseados. Esto se efectuó mediante el procedimiento que se describe a continuación. Para cada humectante se prepararon soluciones conteniendo diferentes cantidades, calculadas aproximadamente según los métodos descriptos en la sección II.1.3. Conocida por gravimetría la cantidad de reactivos y de agua de cada solución, se pudo calcular la correspondiente a_w. Como la ley de Raoult presenta desviaciones en soluciones de los humectantes usados por debajo de a_w 0,95 se aplicó la ecuación de Norrish (1966) para los polioles o el modelo de Pitzer (1973) para las sales y la ecuación de Ross (1975). Para ello se utilizaron los datos de bibliografía que se detallan en la Tabla 2. Luego se midió, según se describe más adelante, la a_w de cada solución. De este modo se obtuvieron curvas de concentración de humectante versus a_w calculada y de a_w calculada versus a_w medida, de las cuales fue posible interpolar la cantidad de cada humectante requerido para cada nivel de a_w estudiado.

La a_w de las diferentes soluciones (excepto aquellas que contienen propilenglicol o 1,3-butilenglicol) fue medida usando el higrómetro eléctrico VAISALA HMI 33, (Vaisala, Finlandia) con la modificación de Driesden y Kern (Tangstadt, Alemania R.F.), de acuerdo al procedimiento descripto por Favetto y col.(1983). Para ello se calibró el higrómetro a 25°C, utilizando soluciones salinas saturadas de a_w conocida $(NH_4)_2SO_4$: 0,802; KCl: 0,843; $BaCl_2$: 0,902; KNO_3:

///

Tabla 2 - Constantes de Norrish (1966) y parámetros del modelo de Pitzer (1973)

Compuesto	K(Norrish)
Glucosa[a]	2.25
Glicerol[a]	1,16
Propilenglicol[a]	1,0
Sorbitol[a]	1,65
1,3-butilenglicol[b]	3,47
PEG 200[c]	6,10
PEG 400[c]	26,6
L-lisina[d]	9,3

[a] Chirife y col. (1980a)

[b] Alzamora y Chirife (1984)

[c] Chirife y Ferro Fontán (1980b)

[d] Chirife y col. (1980b)

Compuesto	$\beta_{MX}^{(0)}$	$\beta_{MX}^{(1)}$	C_{MX}
KCl	0,04835	0,2122	-0,00084
NaCl	0,0765	0,2664	0,00127
Na_2SO_4	0,0196	1,113	0,00497
K_2HPO_4	-0,0678	-0,1042	
NaH_2PO_4	-0,0583	1,466	0,0294

Pitzer y Mayorga (1973)

0,926; K_2SO_4: 0,974). Se obtuvo una recta de calibración por cuadrados mínimos con la cual se conviertieron los datos leídos en la a_w de las muestras medidas. La a_w de las muestras que contienen propilenglicol o 1,3-butilenglicol no fue medida con el higrómetro ya que se sabe que dichos polioles pueden contaminar el sensor dando origen a resultados erróneos (Favetto y col., 1984).Dada la buena concordancia observada entre a_w calculada y a_w medida en las soluciones de los otros polioles no se consideró indispensable la medición de la a_w de los sistemas modelo conteniendo propilenglicol o 1,3-butilenglicol.

Por otra parte, la variación de las cantidades relativas de KH_2PO_4 y $Na_2HPO_4.2H_2O$ entre los distintos niveles de pH estudiados no modifica significativamente la a_w de las soluciones. Luego, se uso la misma cantidad de humectante en los tres niveles de pH estudiados.

Aplicando estos procedimientos se prepararon soluciones de tres niveles de a_w: 0,900; 0,925; 0,950, habiéndose hallado su exactitud en el rango $\pm$0,005 (en la mayoría de los casos)-0,01.

III.1.4. Composición

El estudio comparativo de la cinética de pardeamiento no enzimático en sistemas modelo glucosa-lisina y fructosa-lisina se realizó utilizando concentraciones de hexosa comprendidas entre 0,0684-

///

0,410M y de lisina 0,0343-0,205M. Estos sistemas modelo se ajustaron a pH = 6. Asimismo se agregó a todas las soluciones 50,00 g/l de NaCl de forma tal de obtener a_w = 0,95. La composición de estos sistemas modelo se indica en las Tablas 3 y 4.

El efecto específico de los humectantes se estudió en sistemas modelo con concentración inicial de glucosa 0,274M y lisina 0,00684M (0,1%). El glicerol y el KCl fueron los humectantes más estudiados. La composición de estos sistemas modelo se indica en la Tabla 5.

III.2. Tratamiento térmico

Se almacenaron las soluciones envasadas a cuatro niveles de temperatura (45, 55, 60 y 65°C) durante distintos períodos de tiempo. Para evitar gradientes de temperatura se utilizaron estufas de circulación forzada. Los estudios a 45, 60 y 65°C se realizaron en estufas LONGHI, con control de temperatura $\pm$0,5°C. Una estufa LAB-LINE, modelos Imperial III (Melrose Park, Ill., USA) capaz de controlar la temperatura con una variación no mayor de $\pm$0,2°C, se empleó en el almacenamiento de las muestras a 55°C.

Hasta el momento del tratamiento térmico y luego del mismo hasta que su color fuese medido, las soluciones se mantuvieron congeladas a -30°C. De este modo se inhibe fuertemente el avance de las

///

Tabla 3 - Composición de sistemas modelo glucosa-lisina y fructosa-lisina con concentración incicial de glucosa o fructosa 0,274M y NaCl 50,00 g/l.

[LISINA]	GLUCOSA-LISINA		FRUCTOSA-LISINA	
	KH_2PO_4	$Na_2HPO_4.2H_2O$	KH_2PO_4	$Na_2HPO_4.2H_2O$
moles/litro	g/l	g/l	g/l	g/l
0,0343	32,00	20,44	35,45	15.90
0,0514	34,36	17,36	37,50	13,30
0,0684	34,36	17,36	38,38	12,10
0,103	36,58	14,44	41,15	8,50
0,154	38,40	12,08	44,20	4,50
0,205	38,40	12,08		

Tabla 4 - Composición de sistemas modelo glucosa-lisina y fructosa-lisina con concentración inicial de lisina 0,0684 M y a_w ajustada con 50,00 g/l de NaCl

[GLUCOSA] o [FRUCTOSA]	GLUCOSA-LISINA		FRUCTOSA-LISINA	
	KH_2PO_4	$Na_2HPO_4.2H_2O$	KH_2PO_4	$Na_2HPO_4.2H_2O$
moles/litro	g/l	g/l	g/l	g/l
0,0684	34,36	17,36	37,50	13,30
0,137	34,36	17,36	37,50	13,30
0,205	34,36	17,36	37,48	13,28
0,274	34,36	17,36	38,38	12,10
0,342	34,36	17,36		
0,410	34,36	17,36	35,45	15,90

Tabla 5 - Composición de sistemas modelo glucosa (0,274M)-lisina (0,00684M)

Humectante	g/l	pH	KH_2PO_4 g/l	$Na_2HPO_4.2H_2O$ g/l	Densidad (25°C) g/ml	a_w de referencia	a_w calculada
	289,0	6	39,14	11,10	1,116		0,902
	288,8	5	47,34	0,362	1,115	0,900	0,903
	289,2	4	47,64	------	1,114		0,903
	220,4	6	39,14	11,10	1,101		0,925
Glicerol	220,5	5	47,34	0,362	1,099	0,925	0,926
	220,4	4	47,64	------	1,098		0,926
	133,1	6	39,92	10,10	1,080		0,951
	133,1	5	47,34	0,362	1,078	0,950	0,952
	133,1	4	47,64		1,078		0,952

Tabla 5 (Continuación)

	468,5	6	32,02	20,42	1,208		0,902
	393,8	6	33,42	18,58	1,183		0,920
Sorbitol	393,8	5	45,65	2,60	1,178	0,925	0,921
	393,8	4	47,65	-----	1,176		0,921
	268,4	6	35,70	15,62	1,141	0,950	0,951
	110,0	6	41,60	7,88	1,058	0,950	0,951
	176,0	6	41,84	7,58	1,062		0,928
Propilen-	176,1	5	47,63		1,059	0,925	0,928
glicol	176,2	4	47,63		1,059		0,928
	236,0	6	42,58	6,60	1,067	0,900	0,903
1,3-butilen glicol	190,0	6	42,30	6,98	1,054	0,925	0,926
PEG 200	340,4	6	44,20	4,48	1,102	0,925	0,923
PEG 400	400,1	6	44,20	4,48	1,103	0,925	0,925

Tabla 5 (continuación)

	180,0	6	31,74	20,78	1,153		0,894
	180,0	5	45,34	2,99	1,151	0,900	0,895
	180,0	4	47,64	-----	1,152		0,896
	150,0	6	32,72	19,5	1,136		0,915
KCl	150,0	5	45,34	2,99	1,135	0,925	0,916
	150,0	4	47,64	-----	1,136		0,917
	84,0	6	33,90	17,96	1,099		0,943
	84,0	5	45,34	2,99	1,096	0,950	0,944
	84,0	4	47,64	-----	1,098		0,945
	248,0	6	32,24	20,12	1,243	0,925	0,919
	248,0	5	44,49	1,65	1,241	0,925	0,920
Na_2SO_4	248,0	4	47,63	----	1,239		0,920
	152,0	6	33,90	17,96	1,172	0,950	0,944

Tabla 5 (Continuación)

	85,00	6	26,28	27,94	1,107		0,929
NaCl	85,00	5	44,20	4,48	1,109	0,925	0,931
	85,00	4	47,64	-----	1,104		0,931
	50,00	6	32,00	20,44	1,086	0,950	0,950
		6	41,16	8,48	1,049		0,983
Sin humectante		5	47,65	----	1,047		0,984
		4	47,65	----	1,047		0,984

reacciones de pardeamiento no enzimático.

III.3. Medición de viscosidad

La viscosidad de soluciones preparadas con los diferentes humectantes a pH = 6 y a_w = 0,925 fue medida a 55°C utilizando un viscosímetro capilar de vidrio tipo Ubbelohde. El viscosímetro fue inmerso en un baño de agua a temperatura constante ($55 \pm 0,1$°C) y fueron registrados los tiempos de escurrimiento de las diferentes soluciones (rango 3-13 minutos).

La densidad de las soluciones fue medida por picnometría y calculadas las viscosidades relativas al agua destilada (μ/μ_{H_2O}).

III.4. Medición del color

III.4.1. El espectrofotómetro ZEISS DMC 25

El espectrofotómetro ZEISS DMC 25, utilizado en la medición del color, está provisto 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. 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.

El instrumento puede adaptarse a diferentes tipos de muestra y permite mediciones por transmisión o reflexión (con o sin componente especular).

En el presente trabajo se midió el factor de transmitancia espectral (espectro de transmitancia) de las soluciones en el rango visible utilizando iluminación monocromática. A partir del espectro un sistema acoplado de integración triestímulo DAVIDSON y HEMMENDIGER (Tatamy, PA., USA) calcula los valores triestímulos X, Y, Z para distintos iluminantes CIE por el método de las ordenadas seleccionadas (Lozano, 1978).

III.4.2. Técnica de la medición del color

Las soluciones se colocaron con la ayuda de una jeringa en una cubeta especialmente diseñada para muestras líquidas viscosas, fabricada con cuerpo de acrílico y ventanas de vidrio de calidad óptica (Fig. 7). Una cubeta similar que contenía agua destilada se utilizó como referencia. Ambas cubetas se dispusieron dentro del aparato de forma tal que el haz de luz monocromática las atravesase antes de penetrar en la esfera integradora.

El 100% de transmitancia se adjudicó a ambas cubetas llenas con agua destilada y la calibración se hizo en todo el rango del es-

///

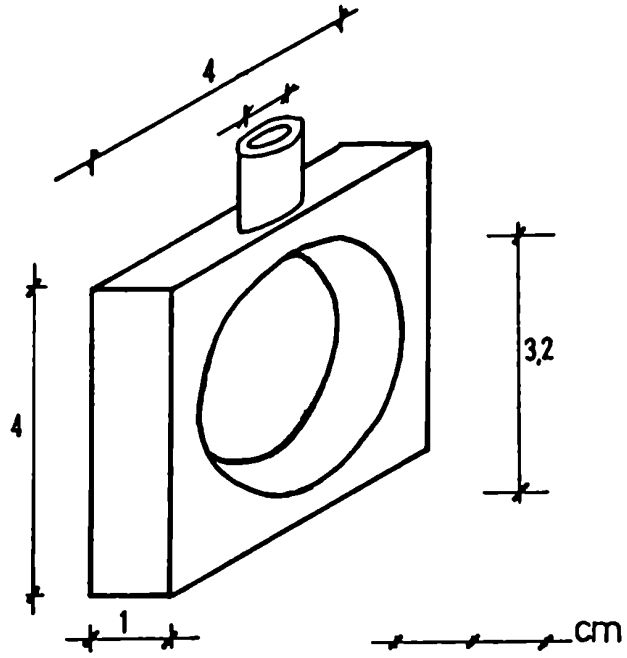


Fig. 7 - Cubeta empleada en la medición de la transmitancia de muestras líquidas viscosas

pectro visible (380-730 nm) mediante el ajuste de 30 potenciómetros.

El monocromador se ajustó en un ancho de banda de 10 nm y las muestras fueron iluminadas con un haz de diámetro 1,5 cm. El espectro fue registrado en papel en la escala 10 nm/cm a una velocidad de barrido de 3,5 nm/seg.

Finalizado el barrido del espectro los valores X, Y, Z, iluminante C (CIE), fueron leídos en la pantalla digital del integrador triestímulo.

III.4.3. El error en la medición colorimétrica

Una vez calibrado el espectrofotómetro ZEISS DMC 25 la repetibilidad para mediciones sucesivas de la misma muestra es muy buena, obteniéndose diferencias despreciables en los valores triestímulos (< 0,1%).

En cambio, mediciones de la misma muestra efectuados luego de distintas calibraciones permiten la estimación del error en alrededor del 1% de los valores triestímulos.

III.5. Medición de la absorción ultravioleta

La transmitancia de las soluciones en el rango de 220-330 nm fue medida con un espectrofotómetro Spectronic 21 (Bausch & Lomb).

///

La absorbancia de las muestras fue calculada referida a la correspondiente solución sin tratamiento térmico. Tanto las muestras calentadas como las soluciones de referencia fueron diluídas con agua destilada en forma tal de obtener valores de absorbancia comprendidos entre 0,1-0,9. Las lecturas de transmitancia se efectuaron en forma regular cada 10 nm, excepto en aquellas zonas del espectro con máximos o mínimos, donde la lectura fue hecha cada 2 nm. Todas las medidas se realizaron en celdas de quarzo Beckman de 10 mm de espesor.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

IV.1. Color y cinética de las reacciones de pardeamiento no enzimático

La primera etapa en el estudio emprendido sobre el pardeamiento no enzimático en sistemas modelo azúcar-aminoácido de alta a_w, consistió en un análisis de las características cromáticas del color formado en los mismos dirigido a la búsqueda de un modelo cinético apto a representar los datos espectrofotométricos obtenidos.

IV.1.1. Color

En la Fig. 8 se observan los espectros de transmitancia en la zona visible (380-730 nm) correspondientes a soluciones glucosa (0,274M)-lisina (0,00684M), pH = 6 y a_w = 0,950, ajustada con NaCl, almacenadas a 55°C durante diferentes períodos de tiempo. Las curvas espectrales no presentan máximos ni mínimos siendo su característica más notable el rápido descenso de la transmitancia en la zona de menor longitud de onda. Esta disminución de la transmitancia está acompañada de un cambio en la forma de las curvas espectrales en el intervalo 380-500 nm, precisamente el más empleado en el seguimiento del pardeamiento a través de la medición espectrofotométrica a una

///

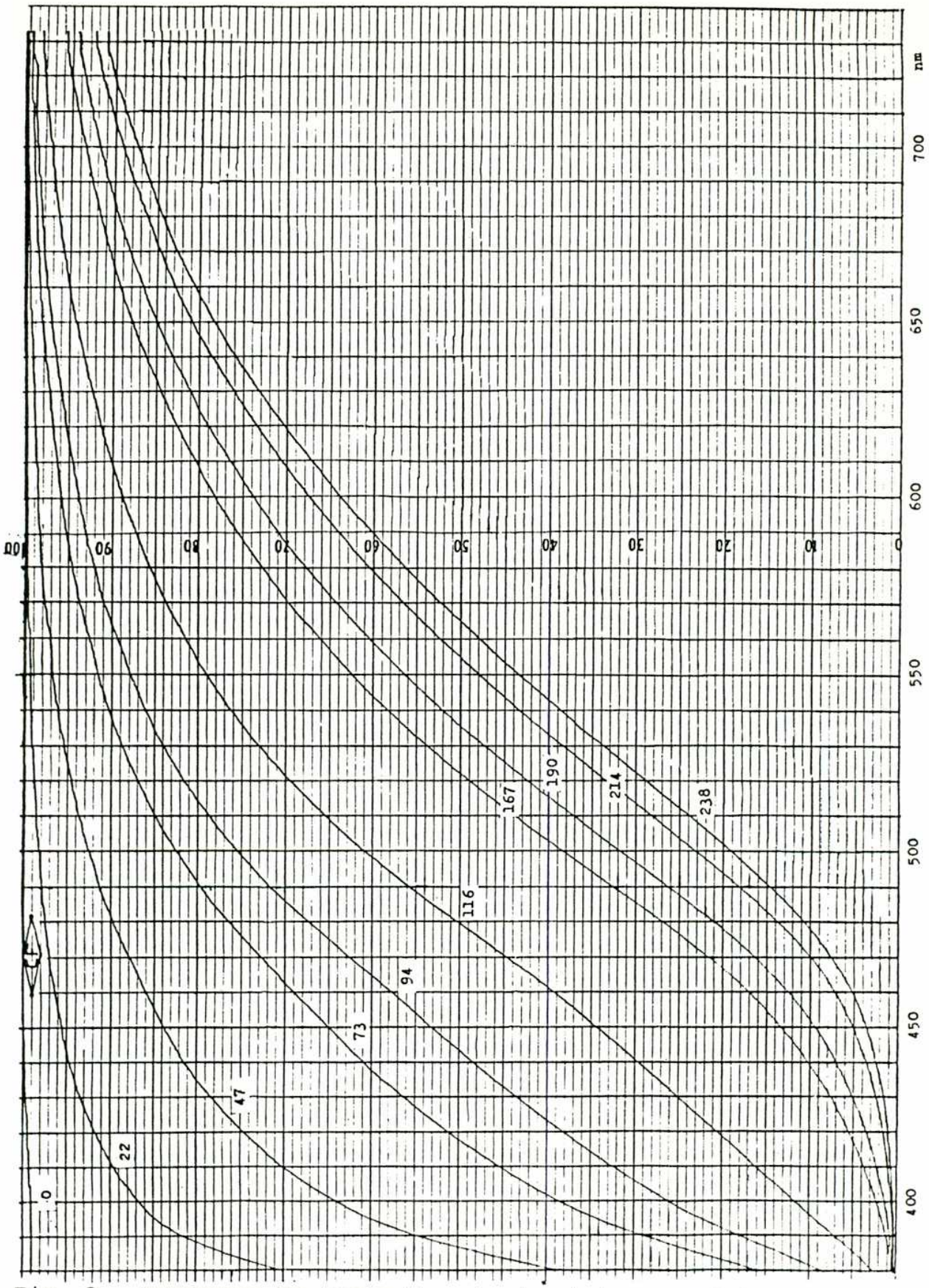


Fig. 8 - Espectros de transmitancia de sistemas modelo glucosa-lisina (pH = 6, a_w = 0,950) almacenados a 55°C durante distintos períodos de tiempo (en recuadro horas de almacenamiento)

sola longitud de onda. Espectros similares se registraron en todos los casos estudiados.

Los cambios espectrales se corresponden a cambios en el color de las soluciones almacenadas. Estas pasan del incoloro al amarillo, luego de naranja hasta marrón, donde los cambios cromáticos disminuyen y comienza un gradual oscurecimiento (Fig. 9).

De acuerdo a lo discutido previamente, una forma de evaluación cuantitativa de los cambios espectrales en todo el espectro visible, superando además las limitaciones impuestas a una sola longitud de onda, constituye la medición triestímulo del color. Por consiguiente, se calcularon en forma automática los valores triestímulos (CIE) X, Y, Z, iluminante C, correspondientes a la curva espectral de cada solución pardeada. Considerando los inconvenientes del espacio CIE, se transformaron estos valores en las correspondientes coordenadas del espacio CIELUV, uno de los actualmente recomendados por esta comisión internacional, por ser mejor representativo de las diferencias de color.

En la Fig. 10 se observa el movimiento en el espacio tridimencional CIELUV conforme progresa el pardeamiento no enzimático del sistema modelo. La luminosidad, L*, disminuye en forma monótona, mientras que aumentan los componentes cromáticos u* (rojo) y v* (amarillo). El incremento de u* y v* va lentamente decreciendo hasta casi detenerse, en correspondencia a la poca variación cromática de las

///

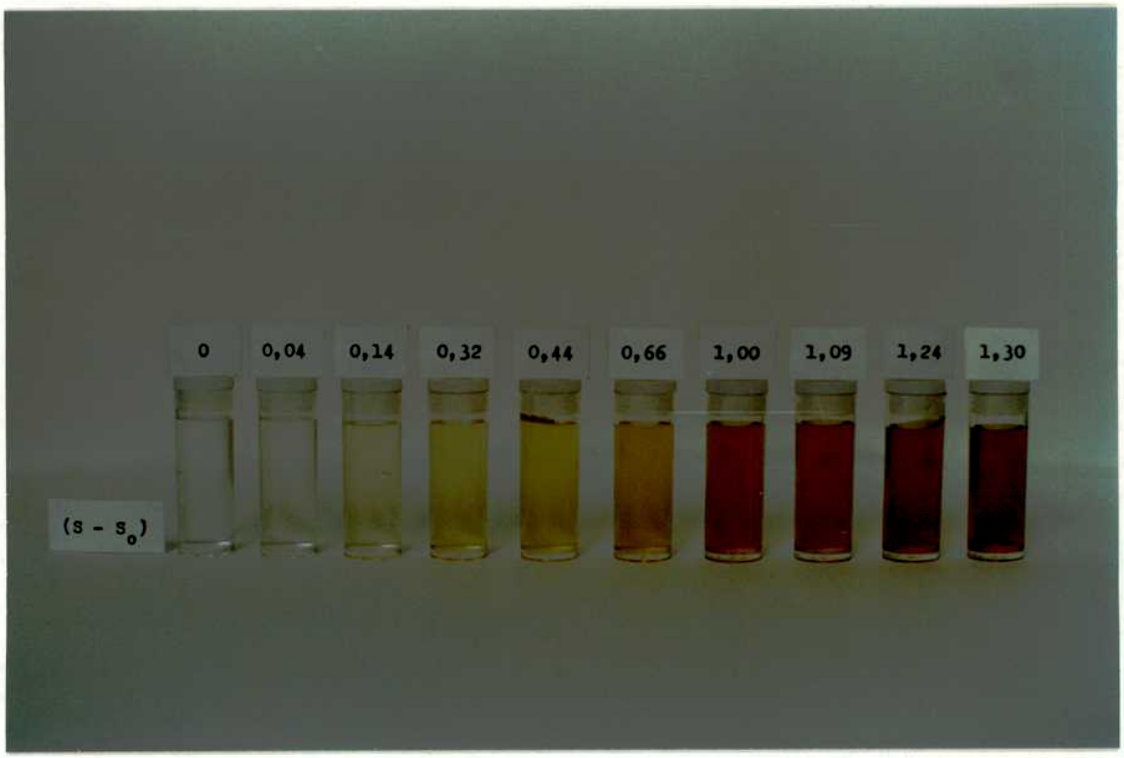


Fig. 9 - Soluciones glucosa-lisina (pH = 6, a_w = 0,950) luego del almacenamiento a 55°C

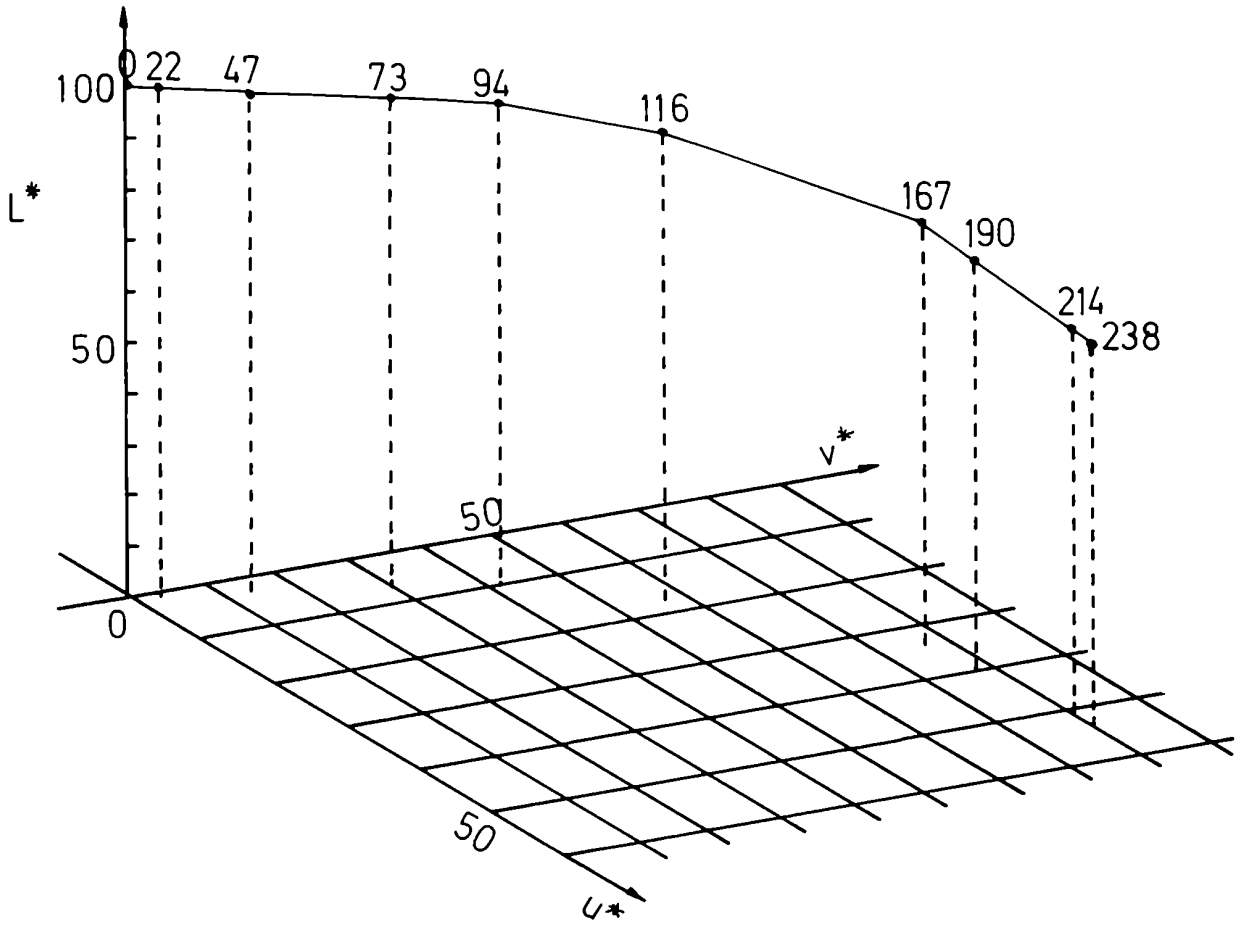


Fig. 10 - Variación de las coordenadas CIELUV de soluciones glucosa-lisina (pH = 6, a_w = 0,950) luego del almacenamiento a 55°C. Los números sobre la curva indican las horas de tratamiento térmico

soluciones muy pardeadas. Este tipo de representación tridimensional y que además no incluye una coordenada para la variable tiempo, dificulta la interpretación y manejo de los resultados. Por este motivo se buscó una función de color que representara adecuadamente los cambios cromáticos debidos al pardeamiento de los sistemas modelo y que pudiera emplearse además en los estudios cinéticos. Además, al combinarse la variación de los tres parámetros cromáticos se obtiene una información más completa que al utilizar sólo uno de ellos, por ejemplo, la luminosidad. Con este propósito se eligió en el espacio CIELUV la función de color saturación S_{uv}. En la misma se combinan la disminución de luminosidad y aumento cromático característicos del pardeamiento no enzimático ($S_{uv} = C_{uv}/L^*$). La función S_{uv} tiene un significado mayor que la simple diferencia total de color. La variación de saturación $(S - S_o)_{uv}$ refleja, en el espacio CIELUV, el alejamiento del punto cromático o incoloro inicial, siendo que el valor S_o usualmente es muy pequeño.

IV.1.2. Cinética

El desarrollo de las reacciones de pardeamiento no enzimático ha sido objeto de numerosos estudios cinéticos tanto en alimentos como en sistemas modelo (Labuza y Saltmarch, 1981). La observación de estos trabajos señala la ausencia de un modelo cinético simple y

///

único aplicable a todos los sistemas y alimentos. Esto se debe indudablemente a la gran complejidad de la reacción estudiada en una gran variedad de condiciones.

En general, la formación de pigmentos pardos que lleva a los cambios de color se incrementa en forma sostenida luego de un período de inducción o lag. En acuerdo con este hecho, el modelo cinético más simple aplicado al pardeamiento no enzimático de los alimentos, divide la cinética en dos etapas: un período de inducción o lag seguido de una fase de desarrollo de color que puede considerarse lineal con más o menos acierto. Muchos autores aplicaron este modelo en estudios cinéticos del pardeamiento no enzimático (Cole, 1965; Warmbier y col., 1976; Waletzko y Labuza, 1976; Singh y col., 1983). El período de inducción puede no observarse o ser de duración despreciable. Entonces queda la cinética únicamente caracterizada por una constante de reacción, de orden aparente cero,cuyo valor es el de la pendiente de la mejor recta (calculada mediante regresión) que describe el considerado período lineal. Por su simplicidad, este modelo cinético tiene amplia aceptación y uso (Labuza y Saltmarch, 1981). Sin embargo, presenta dos defectos. Primero, el error que puede conllevar el desprecio del peródo lag, sobre todo en las extrapolaciones a condiciones distintas de las estudiadas. En segundo lugar,puede ocurrir que la diferenciación marcada entre período de inducción sin formación de color y posterior desarrollo lineal no se ajuste al avance del par-

///

deamiento en muchos sistemas modelo y alimentos. Por tal causa otros modelos han sido propuestos.

Haugaard y col. (1951) hallaron que la velocidad de pardeamiento en sistemas modelo acuosos glucosa-glicina puede considerarse proporcional al tiempo de calentamiento (100°C). Esto es equivalente a un orden de reacción 0,5 e implica que el grado de pardeamiento es proporcional al cuadrado del tiempo. Saguy y col. (1978) analizaron el pardeamiento no enzimático de jugo de pomelo concentrado dividiendo el mismo en dos períodos de cinética diferente. El primero o lag, con poco desarrollo de color, sigue una cinética exponencial, o sea, de orden 1, mientras que en el período subsiguiente el desarrollo de color es lineal o de orden cero. Toribio y Lozano (1984) ajustan los valores de absorbancia de jugo de manzana concentrado con la ecuación empírica: $B = a - b \exp(-K t)$, donde B es la absorbancia a 420 nm, a y b son parámetros de ajuste, K es la constante de reacción y t el tiempo de calentamiento. Esta ecuación se cumple en el rango de temperaturas 5-37°C, cambiando únicamente el valor de la constante K. Por otra parte, la variación de esta última con la temperatura se ajusta al modelo de Arrhenius. Lee y col. (1984) hallaron en sistemas modelo glucosa-lisina un comportamiento lineal del logaritmo de la absorbancia a 420 nm en función del tiempo de calentamiento (90-110°C). No observaron período de inducción. Luego el incremento de absorbancia sigue un orden aparente uno. El denominador común en

///

estos modelos es un orden de reacción aparente comprendido entre 0 y 1. Una cinética de orden mixto, $dB/dt = kB^n$, n comprendido entre 0 y 1, fue propuesta por Petriella y col. (1985) en el seguimiento del pardeamiento de sistemas modelo glucosa-lisina almacenados a 35°C, donde B es la variación de saturación, k y n la constante y el orden de reacción respectivamente. Aplicando la expresión equivalente $1/(dB/dt) = 1/k_o + 1/k_1$ B se pueden calcular los valores de k_o y k_1 (constantes de orden cero y uno). De este modo es posible conocer la contribución de cada tipo de cinética (cero o uno) al desarrollo del color en una corrida cinética particular.

En la Fig. 11 se observa el incremento de saturación en función del tiempo de calentamiento a 55°C en las soluciones del sistema modelo glucosa-lisina antes considerado (Figs. 8-10), indicándose en el mismo gráfico la aplicación del modelo cinético lineal. El incremento de la saturación presenta un período de inducción, seguido por un período de coloración creciente, hasta que finalmente la velocidad de pardeamiento disminuye. Este último tramo de la reacción involucra muestras muy pardeadas, o sea, correspondientes a un gran deterioro, por lo que es de menor interés el estudio de su cinética siendo de ordinario no alcanzado en la mayoría de las corridas. La fase principal de desarrollo del color puede considerarse lineal con el tiempo, por lo cual, luego de ensayarse la aplicación de distintos modelos cinéticos, se decidió la aplicación del modelo lineal,

///

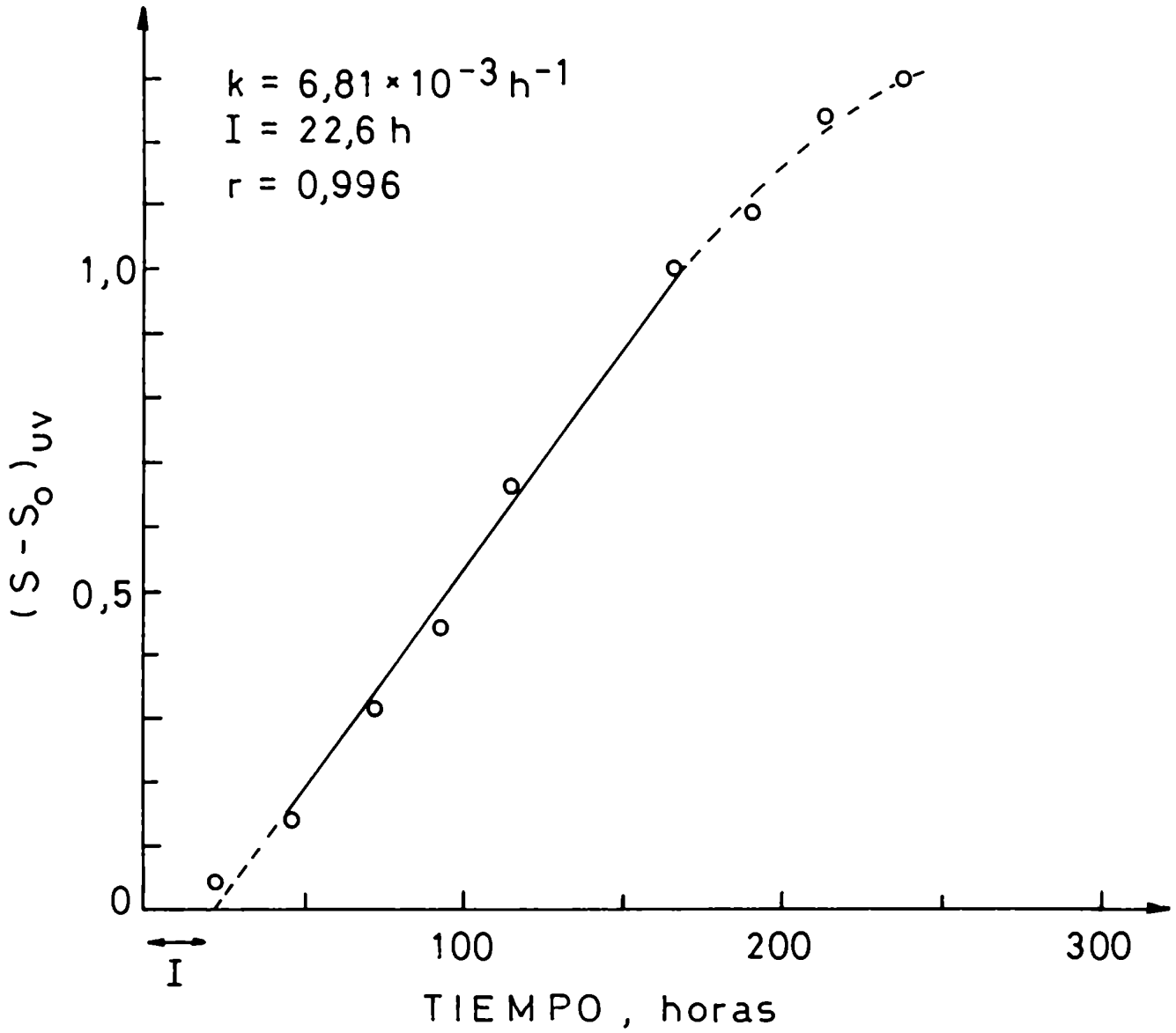


Fig. 11 - Aplicación del modelo cinético lineal al incremento de saturación CIELUV en función del tiempo de calentamiento a 55°C de soluciones glucosa-lisina (pH = 6, a_w = 0,950)

siendo el mejor al cual se ajustan todos los resultados. De esta forma:

$$B = 0 \quad si \quad t \leq I$$

$$B = k(t - I) \quad si \quad t > I$$

$$y \quad \frac{dB}{dt} = k$$

siendo

B = variación de saturación CIELUV, $(S - S_o)_{uv}$

t = tiempo de calentamiento

I = período de inducción

k = constante de reacción

El procedimiento empleado en la aplicación de este modelo cinético lineal a los sistemas modelo en estudio se observa en la Fig. 11. Mediante regresión lineal se obtiene el valor de la pendiente de la recta representativa de la variación de color durante el período lineal. De este modo se obtiene la constante de reacción k. La intersección de la prolongación de dicha recta y el eje de abscisas determina el valor del período de inducción I (Song y col., 1966).

///

IV.2. Comparación del pardeamiento no enzimático en sistemas modelo glucosa-lisina y fructosa-lisina

Varios autores han señalado las diferentes características cinéticas del pardeamiento no enzimático en sistemas que contienen fructosa, con respecto a aquéllos con glucosa, avanzando la hipótesis de diferentes mecanismos de reacción (Spark, 1969; Kato y col., 1969; Shallenberger y Mattick, 1983).

Por otra parte, recientes avances tecnológicos en el campo de las enzimas inmovilizadas trajeron como consecuencia una creciente disponibilidad comercial de fructosa cristalina y de jarabes de glucosa-fructosa, aptos para la formulación de numerosos productos alimenticios.

Por consiguiente, existe un interés tanto teórico como práctico en conocer la reactividad relativa de ambos azúcares en las reacciones de pardeamiento no enzimático en sistemas de alta actividad de agua.

IV.2.1. Cinética

El análisis de las características cinéticas que adopta el desarrollo del pardeamiento no enzimático debido a la presencia de uno u otro azúcar fue abordado estudiando la reacción en sistemas

///

modelo con distinta concentración inicial de glucosa o fructosa y lisina en un medio acuoso de alta a_w = 0,95.

El esquema experimental adoptado consistió en preparar series de sistemas modelo semejantes en la concentración inicial de uno de los reactivos, hexosa o lisina, y diferente en la del otro. De esta forma, en una serie de experimentos la concentración de glucosa y fructosa fue fijada en 0,274M,mientras que la concentración de lisina se varió entre 0,0343-0,205M. En otro grupo de experimentos la concentración de lisina fue 0,0684M y la de glucosa o fructosa estuvo comprendida entre 0,0684-0,410M. La composición detallada de estos sistemas modelo se encuentra en las tablas 3 y 4. Se ajustaron todas las soluciones a pH = 6 y se redujo la a_w agregando una cantidad fija de NaCl. El tratamiento térmico se efectuó a 55°C.

En la Fig. 12 se observa la variación de saturación en función del tiempo de calentamiento de soluciones conteniendo glucosa o fructosa y lisina a una concentración inicial 0,274M y 0,0512M respectivamente. Las soluciones que contienen fructosa se pardean primero debido a que presentan un período de inducción más breve y marcado. No obstante, luego de un corto tiempo el pardeamiento de los sistemas modelo glucosa-lisina sobrepasa el de aquéllos con fructosa. Un comportamiento idéntico se repite siempre al comparar todos los sistemas modelo con glucosa o fructosa con igual concentración de reactivos. Este entrecruzamiento de ambas curvas cinéticas ya fue observado por otros autores en sistemas semejantes (Kato y col.,

///

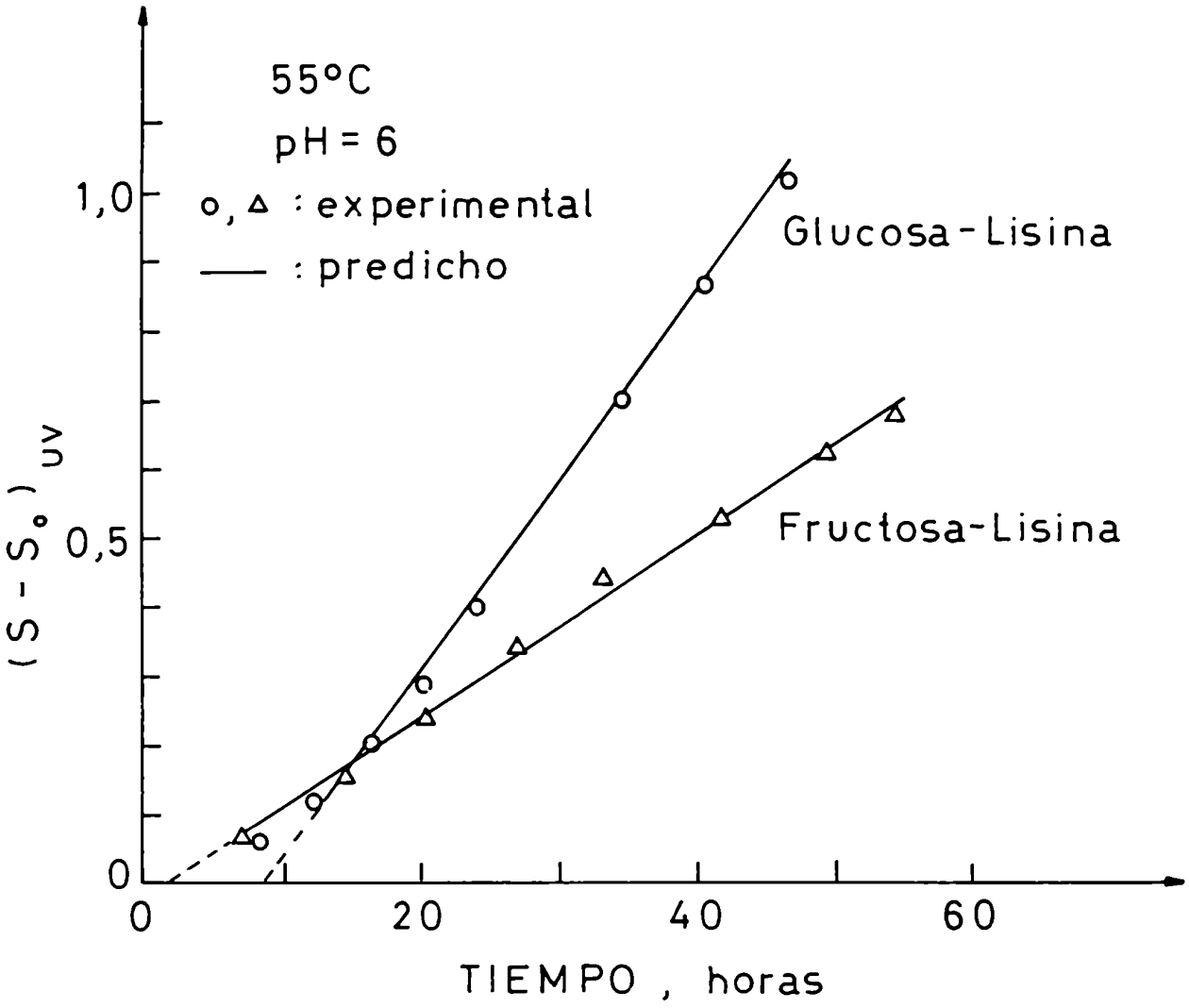


Fig 12 - Incremento de la saturación en función del tiempo de tratamiento térmico de soluciones conteniendo glucosa o fructosa (0,274M) y lisina (0,0514M). Las líneas representan cambios de color predichos

1969; Reyes y col., 1982) y es posiblemente la causa de cierta confusión en la literatura al compararse el poder de pardeamiento de ambos azúcares (Ellis, 1959; Dworschak, 1980).

Aunque el pardeamiento no enzimático en los sistemas modelo tiene características propias según este presente uno u otro de los azúcares, todas las curvas cinéticas obtenidas pudieron analizarse aplicando el modelo cinético lineal ya descripto en la sec. IV.1.2. Así se calcularon las constantesde reacción k_G y k_F y los períodos de inducción I_G y I_F (G = glucosa; F = fructosa) (Tablas 6 y 7).

IV.2.2. Efecto de la concentración de reactivos

Al aumentar la concentración de hexosa o lisina en los sistemas modelo aumenta el valor de las constantes de reacción y disminuye la duración de los períodos de inducción (Tablas 6 y 7). Además, cuando k_G y k_F son representados en una gráfica log-log versus la concentración inicial del reactivo en concentración variable, se obtiene un buen comportamiento lineal (Fig. 13) proporcionando así un método que permite cuantificar esta influencia. Mediante un simple cálculo pueden obtenerse (Laidler, 1965; Suyama y Adachi, 1979) las siguientes ecuaciones:

$$k_G = 0,29\ [\text{glucosa}]^{0,49}[\text{lisina}]^{0,58} \qquad (1)$$

///

Tabla 6 - Valores de la constantes de reacción[1] y períodos de inducción para sistemas modelo glucosa-lisina o fructosa-lisina con concentración inicial de lisina 0,0684M, calentados a 55°C

[GLUCOSA] o [FRUCTOSA], M	Glucosa-lisina		Fructosa-lisina		$S - S_o$
	$k_G x10^3, h^{-1}$	I_G, h	$k_F x10^3, h^{-1}$	I_F, h	Intersección
0,0684	16,45	10,46	8.02	3,98	0,10
0,137	24,64	9,03	10,80	2,06	0,13
0,205	29,60	8,13	12,53	1,39	0,15
0,274	35,12	8,42	13,89	1,40	0,16
0,342	36,37	7,89			
0,410	39,35	7,92	15,78	0,084	0,21

(1) Coeficientes de regresión (r) > 0,99

Tabla 7 - Valores de la constantes de reacción[1] y períodos de inducción para sistemas modelo glucosa-lisina y fructosa-lisina con concentración inicial de glucosa o fructosa 0,274M, calentados a 55°C

[LISINA], M	Glucosa-lisina		Fructosa-lisina		$S - S_o$
	$k_G x10^3, h^{-1}$	I_G, h	$k_F x10^3, h^{-1}$	I_F, h	Intersección
0,0343	19,94	9,16	12,17	1,81	0,23
0,0514	27,14	8,98	13,16	2,01	0,18
0,0684	35,12	8,42	13,89	1,40	0,16
0,1030	39,81	8,07	14,85	1,72	0,15
0,154	49,79	6,42	15,79	1,07	0,12
0,205	59,12	6,43			

(1) Coeficientes de regresión (r) > 0,99

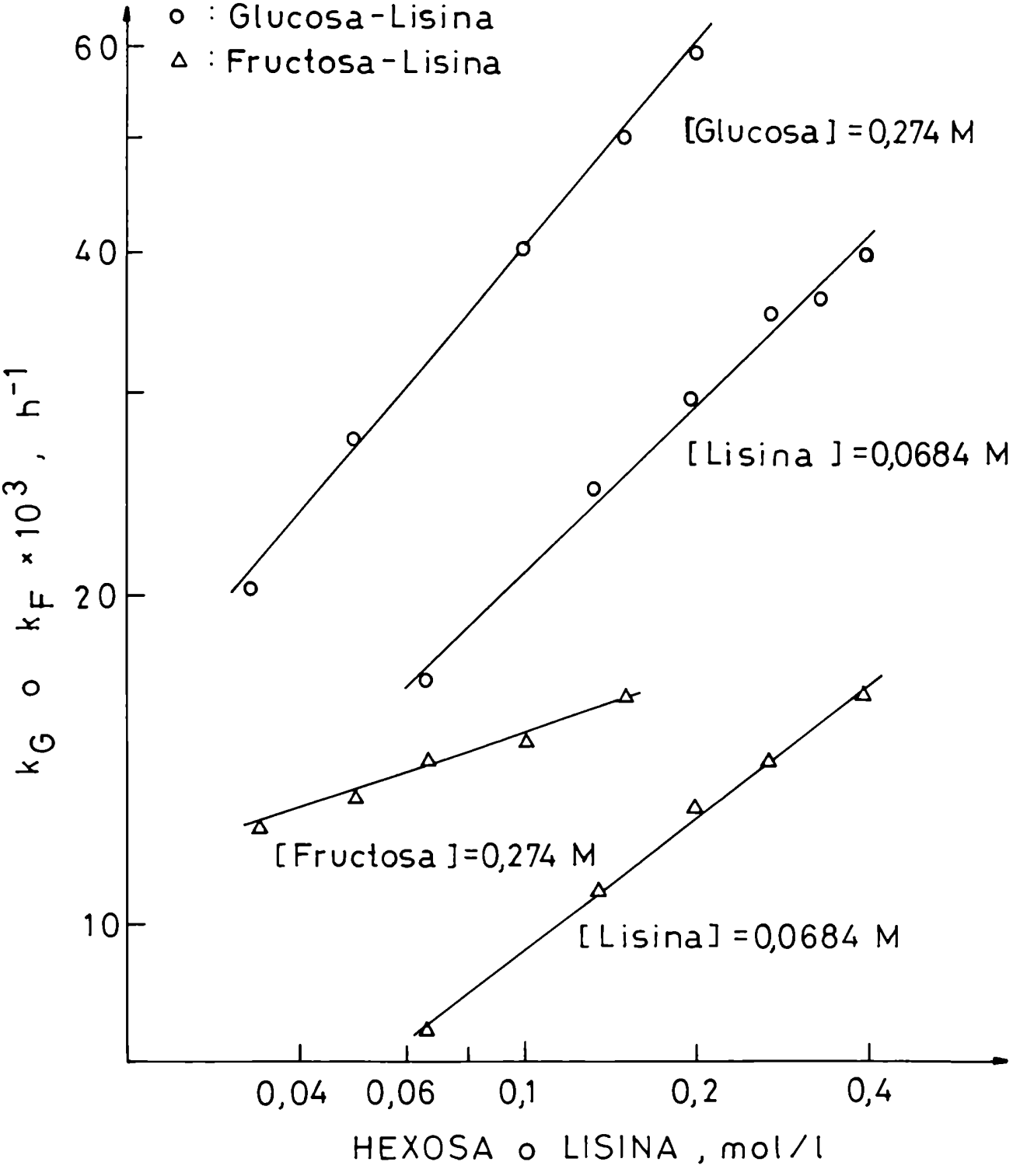


Fig. 13 - Relación entre las constantes de reacción y las concentraciones de hexosa o lisina

$$k_F = 0,035\ [\text{fructosa}]^{0,38}[\text{lisina}]^{0,17} \qquad (2)$$

También se comprobó que este procedimiento podía aplicarse a los períodos de inducción correspondientes a las soluciones glucosa-lisina:

$$I_G = 3,7\ [\text{glucosa}]^{-0,16}\ [\text{lisina}]^{-0,22} \qquad (3)$$

En cambio, los cortos períodos de inducción observados al pardearse las soluciones fructosa-lisina impidieron aplicar un cálculo similar para I_F. La bondad de estas ecuaciones fue probada en la predicción del pardeamiento no enzimático de los respectivos sistemas modelo, obteniéndose un buen ajuste de los datos experimentales, según se ejemplifica en la Fig. 12. En el caso de los sistemas modelo fructosa-lisina se adoptó un valor promedio de 1,70 para los períodos de inducción I_F.

Aplicando este procedimiento analítico Suyama y Adachi (1979) encontraron la siguiente ecuación para el pardeamiento no enzimático de un sistema modelo acetaldehído (AcH)-fosfatidil etanolamina (PE):

$$dB/dt = K[\text{AcH}][\text{PE}]^2 \qquad B = A_{490}$$

$$K = \text{constante}$$

///

Haugaard y col. (1951) derivaron la siguiente ecuación para el pardeamiento de soluciones glucosa-glicina:

$$dB/dt = K'[\text{glucosa}][\text{glicina}]^2 t \qquad \begin{matrix} B = A_{490} \\ K' = \text{constante} \end{matrix}$$

Kato y col. (1969) refirmaron la validez de esta ecuación en sistemas modelo glucosa-glicina, derivando para el pardeamiento no enzimático de soluciones fructosa-glicina la ecuación:

$$B = K''[\text{fructosa}][\text{glicina}]\ t \qquad \begin{matrix} B = A_{470} \\ K'' = \text{constante} \end{matrix}$$

Song y col. (1966) propusieron una ecuación más compleja para el pardeamiento no enzimático de soluciones glucosa-glicina:

$$dB/dt = [k_2(k_1\ G_o/k_2'\ I)^{\frac{1}{2}} + k_3(g_o - B)]\ (I - B)$$

siendo G_o y g_o las concentraciones iniciales de glucosa y glicina respectivamente, I la concentración de intermediarios, k_1, k_2, k_3, constantes de reacción y B la absorbancia a 490 nm.

El denominador común de estas ecuaciones es que el orden de reacción aparente de la glucosa o compuesto carbonílico tiene la mitad del valor del observado para la glicina o amino compuesto. La excepción se encuentra en el sistema que contiene fructosa. Ba-

///

sándose en estos hechos Kato y col. (1969) propusieron que la secuencia de reacciones del pardeamiento no enzimático consta de una condensación inicial de glucosa y glicina que conduce a intermediarios reactivos, los cuales a su vez reaccionarían con un segundo mol de glicina conduciendo finalmente a la formación de melanoidinas.

A la luz de esta interpretación debe juzgarse que la obtención en este trabajo de órdenes de reacción muy similares para ambos reactivos, glucosa y lisina (ecuación (1)),implica descartar o disminuir la importancia en este caso de esta segunda combinación del aminoácido. Por otra parte, la duración de los períodos de inducción I_G es menos dependiente de la concentración de los reactivos (ecuación (3)) que las respectivas k_G, sugiriendo una mayor participación de los reactivos en la evolución posterior de los pigmentos luego de la aparición del color, probablemente a través de la reacción con productos de descomposición de los mismos. En este aspecto, Spark (1969) observó en soluciones glicina-glucosa que este aminoácido se destruye en forma paralela al incremento del pardeamiento, mientras que otros autores (Labuza y Saltmarch, 1981) informan que en diversos sistemas se hallaron notables pérdidas de lisina antes de la aparición de coloración. Lee y col. (1984) encontraron que en sistemas modelo glucosa-lisina, más del 50% del aminoácido se encuentra como fructosamina y difructosamina antes siquiera que el pardeamiento comienze o sea detectable.

///

Al observar los parámetros cinéticos para el pardeamiento no enzimático de las soluciones fructosa-lisina, se pueden resaltar tres aspectos con respecto a los sistemas con glucosa: la corta duración de los períodos de inducción, el menor valor de las constantes de reacción y la menor dependencia que tiene el pardeamiento con respecto a la concentración inicial de lisina. En la interpretación de estos hechos es útil considerar algunas características del pardeamiento no enzimático en los sistemas que contienen fructosa.

La fructosa es más lábil que la glucosa, en particular, a pH = 6, se descompone cinco veces más rápido que esta última, tanto en lo que respecta a la formación de 5-HMF (Shallenberger y Mattick, 1983) o caramelización (Buera y col., 1986). También como resultado del reordenamiento de Amadori, la fructosa forma glucosaminas más estables que las correspondientes fructosaminas. Además, la glucosa es capaz de formar difructosaminas aun más inestables (Reynolds, 1969; Baltes, 1982). Spark (1969) informa mucho menor consumo de aminoácido en soluciones fructosa-glicina que en aquéllas con glucosa, a igual grado de pardeamiento; incluso hay una estabilización en la concentración del aminoácido a pesar de proseguir el pardeamiento.

En base a estos hechos se puede sostener que en el pardeamiento no enzimático en los sistemas modelo glucosa-lisina predomina una ruta diferente que en los sistemas modelo glucosa-lisina. La fructosa, más inestable que la glucosa, se descompondría rápidamente, sin condensación previa con el aminoácido. En una etapa posterior, secunda-

///

ria, compuestos carbonílicos provenientes de la descomposición del azúcar reaccionarían con el aminoácido. Así quedarían explicados en los sistemas modelo fructosa-lisina los cortos períodos de inducción y la menor dependencia en el pardeamiento ejercida por la concentración del aminoácido. Compárense en este sentido, los resultados de Kato y col. (1969) y los aquí encontrados (coeficiente 0,17 en ecuación (2)).

Por otra parte,la mayor facilidad de formación y labilidad de los compuestos de Amadori en los sistemas glucosa-lisina da origen a las mayores constantes de reacción. Como consecuencia se origina el punto de intersección entre las curvas cinéticas de ambos sistemas, el cual se encuentra a valores de saturación menor cuando la concentración de hexosa disminuye o la concentración de lisina aumenta (Tablas 6 y 7). Ambas condiciones favorecen más el pardeamiento de las soluciones que contienen glucosa con respecto a aquéllas con fructosa.

Desde el punto de vista práctico, la aplicación de este resultado a la elección de fructosa o glucosa en la formulación de un alimento, dependerá de la naturaleza de éste. Si la aparición de pardeamiento es crítica, deberá indudablemente evitarse el uso de fructosa. En cambio, si en el alimento ya sea por la presencia de otros pigmentos o por su carácter, consiente un nivel mayor de avance del pardeamiento no enzimático sin desmedro de su calidad, podría convenir el empleo de fructosa. A favor de esta última elección también

///

estaría, una menor destrucción de aminoácidos y por consiguiente, menor pérdida de valor nutritivo.

IV.3. Efecto de polioles sobre el pardeamiento no enzimático

IV.3.1. Cinética

La investigación del efecto de las variables a_w, pH, temperatura y tipo de humectante en la cinética del pardeamiento no enzimático requiere contar con parámetros cinéticos comparables entre sí. Luego se realizó el análisis de las características adoptadas por el modelo cinético lineal (Sec. IV.1.2.) cuando es utilizado para describir el pardeamiento no enzimático de los sistemas modelo glucosa-lisina, cuyo a_w fue ajustada con polioles.

La Fig. 14 muestra el incremento de saturación en función del tiempo de tratamiento térmico a 45°C y 65°C de soluciones glucosa-lisina, que contienen glicerol, y pH = 6 o pH = 4 respectivamente. En el gráfico se puede apreciar, en ambas corridas, la fase lineal de desarrollo de color y el período de inducción. Desarrollos de color semejantes se obtuvieron en el resto de los sistemas modelo con polioles como humectantes. La aplicación del modelo cinético lineal permitió obtener los valores de las constantes de reacción (k) y períodos de inducción (I) (Tabla 8). Se observa que un desarrollo len-

///

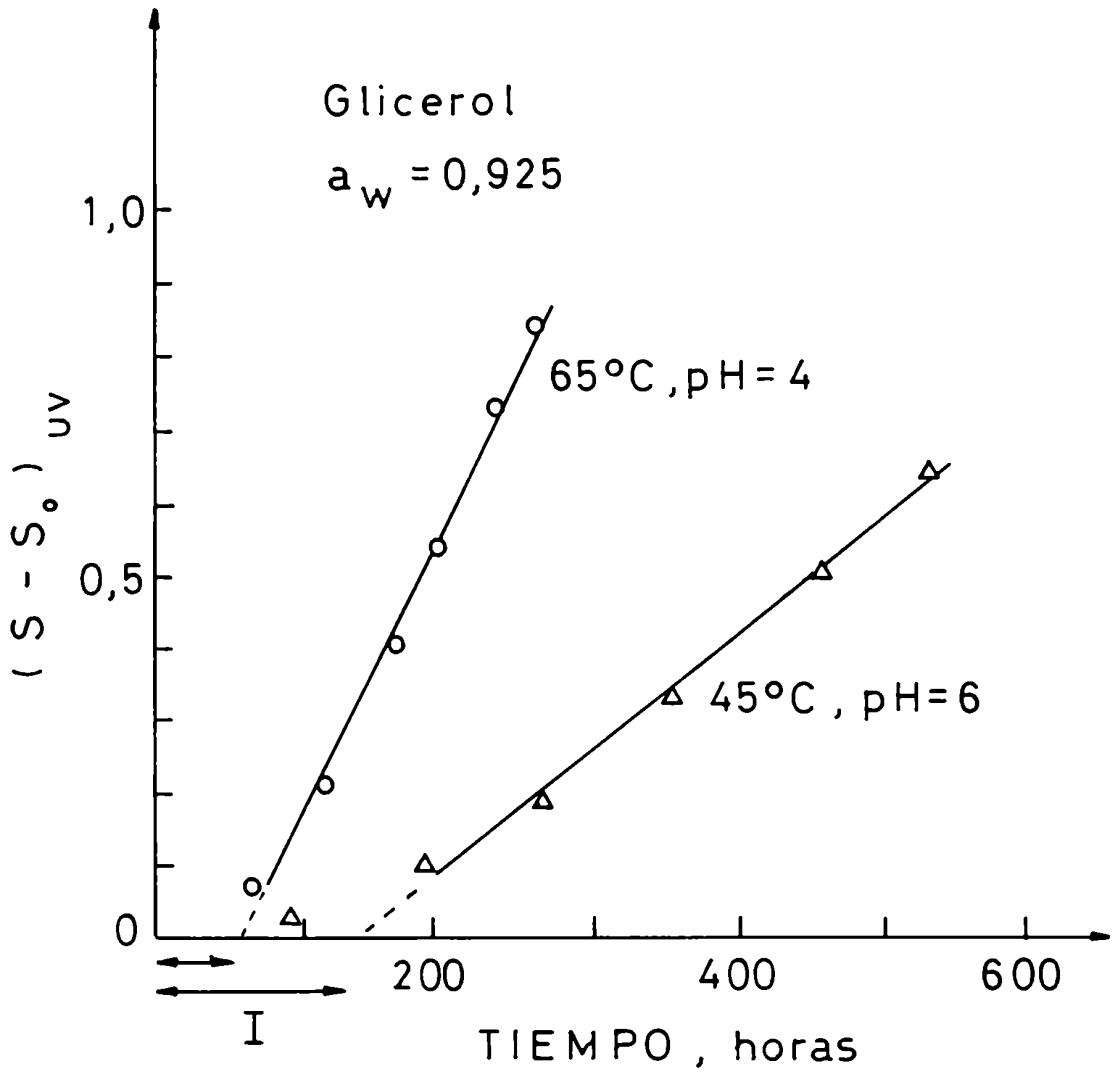


Fig. 14 - Efecto del tiempo de calentamiento en el incremento de saturación de soluciones glucosa-lisina, a_w = 0,925, ajustada con glicerol

Tabla 8 - Valores de las constantes de reacción (k) y períodos de inducción (I) correspondientes al pardeamiento no enzimático de sistemas modelo glucosa-lisina cuya a_w fue ajustada con polioles

Humectante	pH	temp. (°C)	a_w 0,900			a_w 0,925			a_w 0,950		
			$kx10^3, h^{-1}$		I,h	$kx10^3, h^{-1}$		I,h	$kx10^3, h^{-1}$		I,h
Glicerol	4	45	0,392	(0,997)	579	0,373	(0,994)	631	0,326	(0,989)	702
		55	1,04	(0,996)	160	1,01	(0,999)	197	0,826	(0,996)	221
		60	2,64	(0,998)	92,0	2,51	(0,998)	104	2,07	(0,998)	118
		65	4,50	(0,997)	57,9	4,05	(0,996)	57,6	3,58	(0,995)	58,8
	5	45	0,762	(0,998)	305	0,703	(0,999)	289	0,694	(0,999)	269
		55	2,33	(0,999)	95,8	1,95	(0,996)	84,8	1,81	(0,995)	68,1
		60	6,56	(0,999)	52,3	5,78	(0,997)	58,7	4,79	(0,998)	52,1
		65	10,41	(0,996)	28,2	10,29	(0,999)	34,0	9,05	(0,999)	27,4
	6	45	1,91	(0,997)	143	1,60	(0,997)	140	1,51	(0,996)	125
		55	9,43	(0,996)	29,2	8,37	(0,996)	28,8	7,69	(0,996)	27,9
		60	22,46	(0,999)	12,1	21,29	(0,997)	14,9	21,18	(0,999)	18,7
		65	34,38	(0,994)	9,05	30,27	(0,995)	8,68	28,27	(0,997)	8,22

Tabla 8 (continuación)

	4	55			0,433	(0,999)	350			
	5	55			1,46	(0,999)	118			
Propilen-glicol	6	45	1,72	(0,993)	147	1,64	(0,994)	140	1,37	(0,991)	124
		55	8,39	(0,999)	32,9	7,31	(0,999)	33,5	6,54	(0,998)	35,8
		60	19,50	(0,999)	12,2	19,08	(0,999)	12,0	16,57	(0,999)	11,8
		65	24,30	(0,987)	11,1	23,74	(0,996)	12,1	20,81	(0,988)	9,98
	4	55			0,571	(0,999)	133			
	5	55			2,19	(0,999)	57,2			
Sorbitol	6	45	1,82	(0,992)	96,4	1,46	(0,999)	99,7	1,13	(0,998)	116,4
		55	9,68	(0,994)	13,3	8,91	(0,996)	15,1	8,09	(0,994)	23,11
		65	32,24	(0,995)	7,31	32,74	(0,993)	7,48	30.18	(0,989)	8,76
1,3 Butilen-glicol	6	55				6,85	(0.997)	37,5			
PEG 200	6	55				6,74	(0,997)	30,3			
PEG 400	6	55				8,57	(0,999)	33,5			

Entre paréntesis se indica el coeficiente de correlación lineal(r)

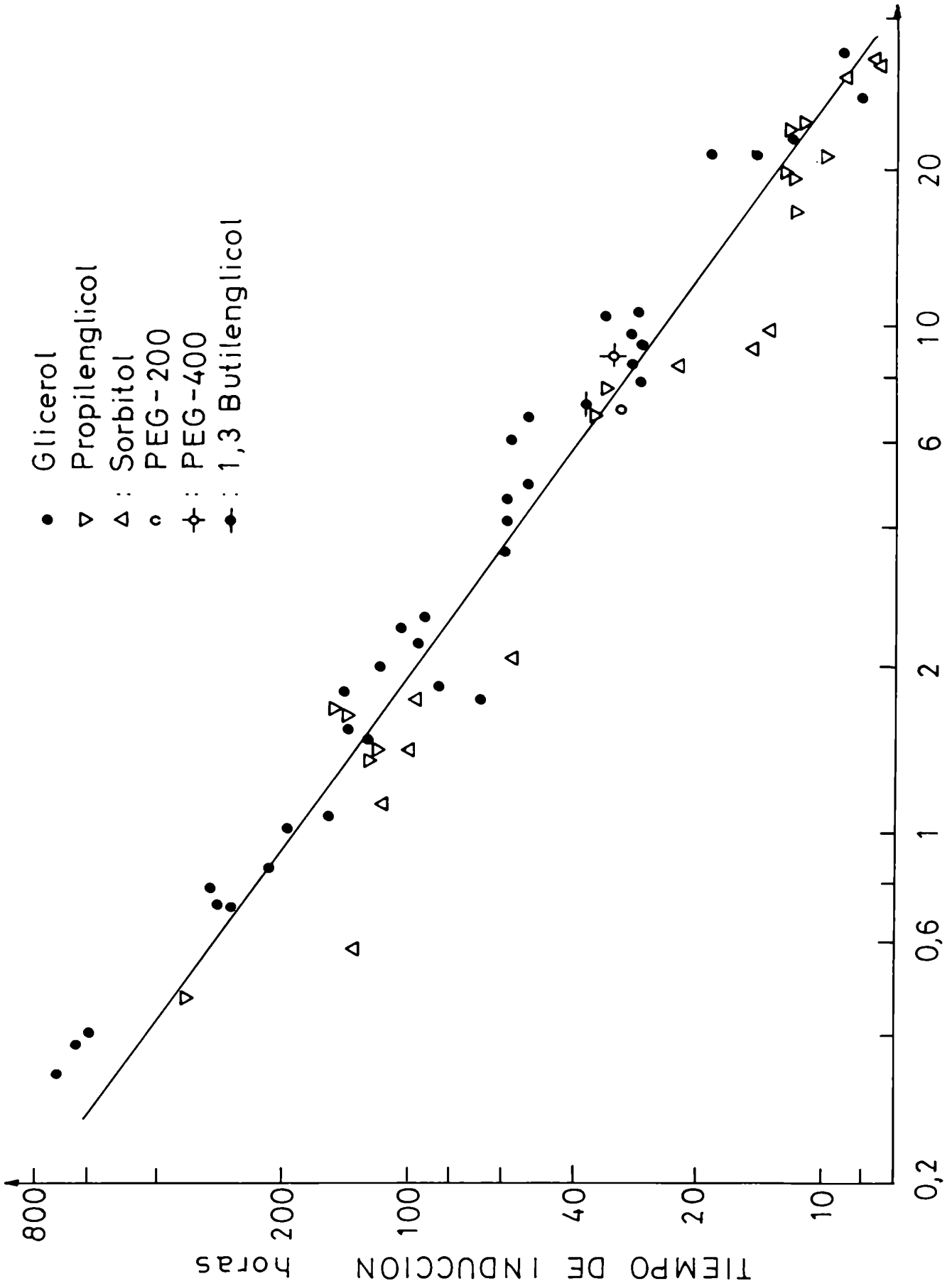
to o rápido del color, está precedido respectivamente, de un largo o corto período de inducción. En sistemas en los cuales existe un desarrollo lineal del pardeamiento no enzimático precedido de un período de inducción, las correspondientes constantes de reacción por si solas describen en forma insuficiente el mismo. No obstante han sido bastante empleadas en sistemas modelo con el propósito de estudiar el efecto de diversas variables, por ejemplo, temperatura (Cole, 1967), pH (Wolfrom y col., 1953), influencia de la concentración de reactivos (Suyama y Adachi, 1979) y a_w (Warmbier y col., 1976). Para que los resultados encontrados sean de completa validez, debe estar implícita una consideración sobre el comportamiento de los períodos de inducción. Sin embargo, sólo ocasionalmente se la ha hecho.

Para estudiar la relación entre k e I se realizó una representación en escala doble logarítmica de ambas variables, de la cual resulta una buena relación lineal (Fig. 15) y mediante aplicación de regresión lineal se puede derivar la siguiente ecuación (coeficiente de correlación 0,978)

$$I = \frac{0,39}{k^{0,89}}$$

Esta ecuación indica que la duración del período de inducción está relacionada en forma inversa con el valor de la constante de

///


TIEMPO DE INDUCCION horas
800
200
100
40
20
10
0,2
0,6
1
2
6
10
20
Glicerol
Propilenglicol
Sorbitol
PEG-200
PEG-400
1,3 Butilenglicol

reacción, en forma tal que a mayor constante de reacción, menor período de inducción y viceversa.

Cole (1967) y Warmber y col. (1976) mencionan en forma cualitativa la relación inversa que existe en sus sistemas modelo entre la duración de los períodos de inducción y el valor de las constantes de reacción, dando validez a las comparaciones que efectúan posteriormente empleando solamente estas últimas. En este trabajo se ha verificado esta relación en forma cuantitativa, pudiéndose de este modo estudiar con mayor seguridad las variables que afectan el pardeamiento no enzimático en los sistemas modelo formulados con polioles con el solo empleo de las constantes de reacción.

IV.3.2. Efecto de la a_w

En el rango de a_w baja e intermedia tanto en sistemas sólidos como líquidos las variaciones de a_w influencian notablemente la velocidad del pardeamiento no enzimático (Sec. II.3.4.1b.).

En la Fig. 16 se puede observar el incremento de saturación en soluciones de distinta a_w ajustada con sorbitol. Al disminuir la a_w se incrementa ligeramente el pardeamiento. Esta tendencia fue observada en todos los sistemas modelo cuya a_w fue ajustada con polioles en distintas condiciones de pH y temperatura (Tabla 8).

En general, siempre se halló un incremento en la intensidad

///

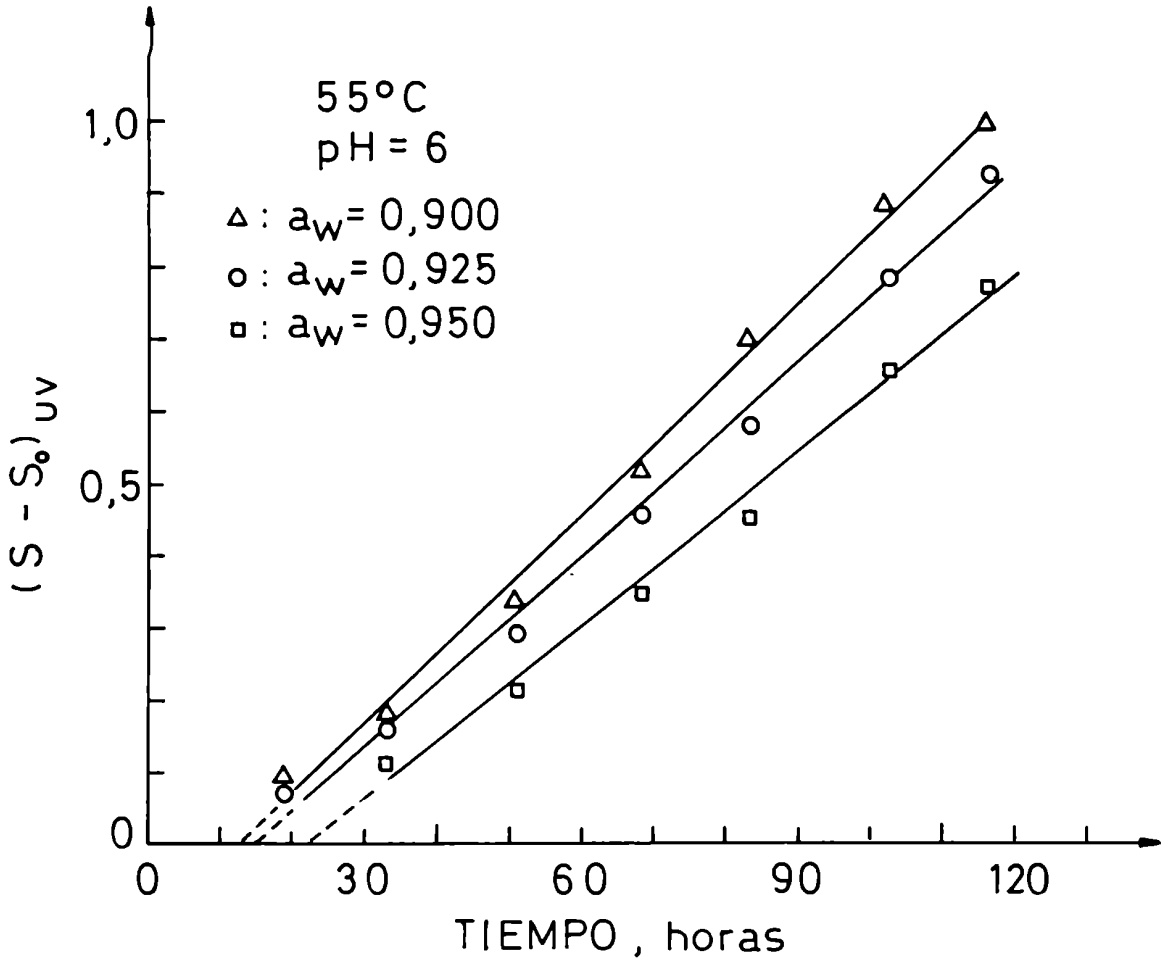


Fig. 16 - Efecto de la a_w ajustada con sorbitol en el incremento de saturación de soluciones glucosa-lisina calentadas a 55°C

del pardeamiento no enzimático al disminuir la cantidad de agua en sistemas modelo líquidos formulados con igual concentración de sustancias reactivas, pero diferente proporción de agua y otro solvente: glicerol-agua (Eichner y Karel, 1972), etilenglicol-agua (Loncin y col., 1965), alcohol-agua (Kawashima y col., 1980), ácido acético-agua (Nyhammar y Pernemalm, 1983). Se considera como probable causa de este efecto la inhibición causada por el agua como producto de la reacción. En particular, Eichner y Karel (1972) estudiaron el pardeamiento de sistemas modelo glucosa-glicina en mezclas glicerol-agua, de a_w comprendida entre 0,40 y 0,86, encontrando una marcada disminución del pardeamiento al aumentar la proporción de agua. A su vez, esta disminución va gradualmente decreciendo a medida que se alcanza el límite superior de a_w estudiado, en acuerdo al resultado obtenido en este trabajo. También Loncin y col. (1965) hallaron que a altas a_w, las variaciones de este parámetro afectaban el pardeamiento no enzimático de sistemas líquidos etilenglicol-agua en forma despreciable.

Luego, se puede esperar una variación poco significativa en la intensidad del pardeamiento no enzimático de un alimento como directa consecuencia de variaciones en su a_w en el rango 0,90-0,95 conseguidas mediante el agregado de polioles.

///

IV.3.3. Efecto del pH

El pH incide en la velocidad de las reacciones de pardeamiento no enzimático en diversas formas. A pH alcalino, aumentos en el mismo originan bruscos incrementos en el pardeamiento, ocasionados por acción combinada de caramelización y reacción de Maillard. En el otro extremo de la escala, a pH 2-4, el pardeamiento es lento debido a la inhibición de ambas reacciones y sólo vuelve a incrementarse al disminuir aun más el pH y reanudarse la caramelización de los azúcares (Wolfrom y col., 1953; Ellis, 1959; Braverman, 1963). A pH ácido moderado, o sea, en el rango de la mayoría de los alimentos, el pardeamiento se incrementa al aumentar el pH en sistemas azúcar reductor-aminoácido, en distinto grado de acuerdo a la composición de los mismos.

En la Fig. 17 se muestran las variaciones en función del pH de las constantes de reacción correspondientes a soluciones glucosa-lisina, cuya a_w fue ajustada con glicerol y calentadas a distintas temperaturas. Siguiendo una práctica usual se ha graficado el logaritmo de las constantes de reacción versus el pH. Se observa un incremento de dos y tres veces en la velocidad de reacción por cada aumento en una unidad de pH, siendo mayor el aumento entre pH 5 y 6 que entre 4 y 5. Un resultado semejante fue observado por otros autores en sistemas modelo glucosa-lisina, tanto en presencia de "buffer"

///

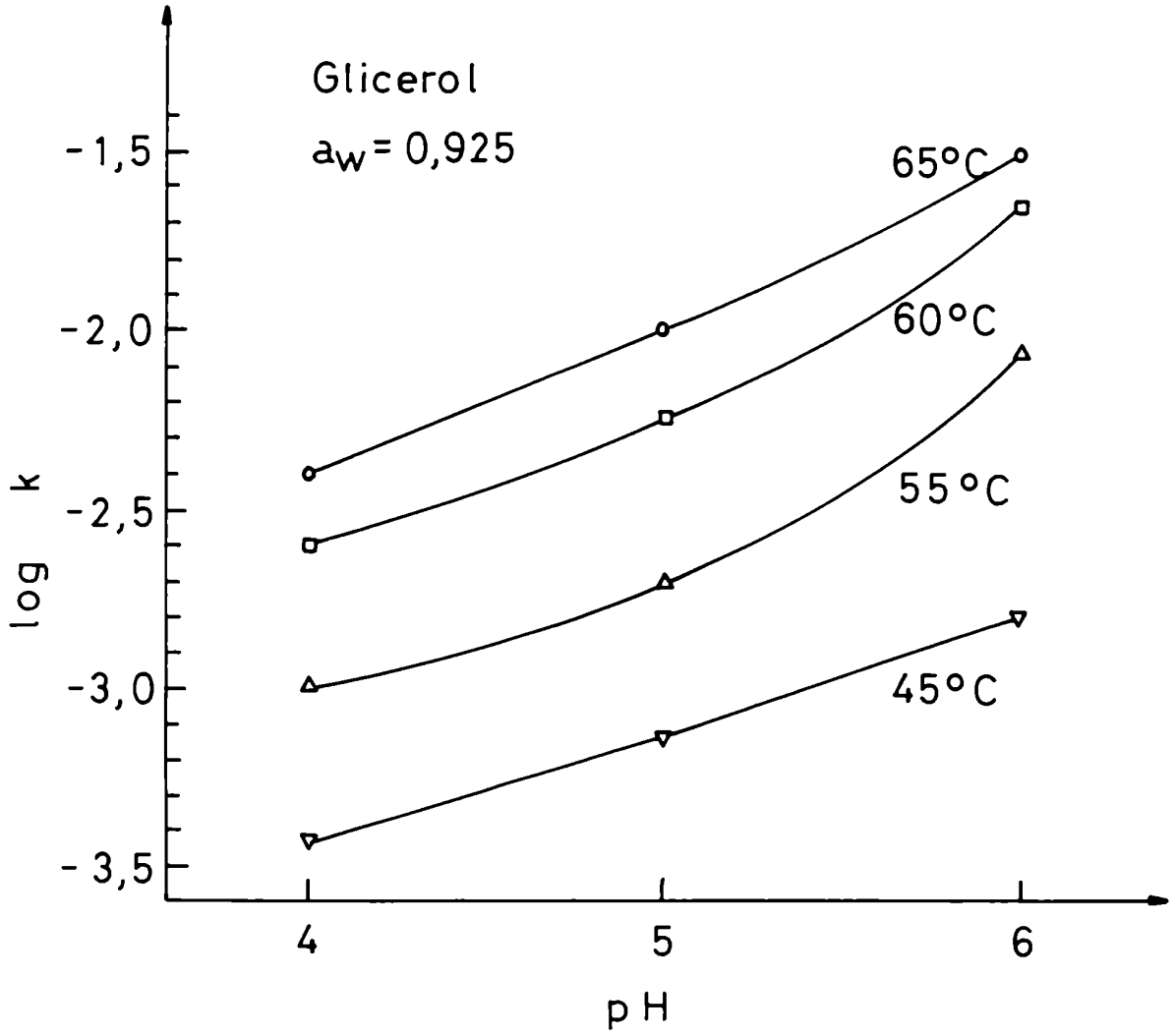


Fig. 17 - Efecto del pH y temperatura de almacenamiento sobre las constantes de reacción de sistemas modelo glucosa-lisina, a_w = 0,925, ajustada con glicerol

(Kawashima y col., 1980) o en su ausencia (Lee y col., 1984).

El aumento observado en el pardeamiento no enzimático al aumentar el pH en el rango 4-6 se puede atribuir a dos factores: aumento en la concentración de la forma acíclica del carbohidrato (Burton y Mc Weeny, 1963a) y en el caracter básico del aminoácido (Hodge y Osman, 1976). El aumento del pH determina la existencia en solución de una mayor proporción de la forma acíclica de la glucosa, con la consiguiente mayor facilidad de enolización y de reacción con el grupo amino de la lisina. Tambien contribuye a este hecho la presencia de fosfatos, a la vez que actuando de catalizador ácido-base acelera las distintas etapas de la reacción (Dworschak, 1980).

En base a lo anterior puede esperarse una variación en la intensidad del pardeamiento producto de la modificación de los equilibrios ácido-base por acción del tipo y cantidad de poliol empleado en la formulación de los sistemas modelo. En este sentido las variaciones con el pH de las soluciones con sorbitol o propilenglicol son más pronunciadas, indicando un pardeamiento proporcionalmente menor a pH = 4 en estos sistemas (Fig. 18). Por otra parte las variaciones de a_w en las soluciones con glicerol no ocasionan apreciables modificaciones en la influencia del pH (Fig. 19).

Luego se comprueba que el pardeamiento no enzimático se puede controlar perfectamente disminuyendo el pH en los sistemas de alta a_w ajustada con polioles.

///

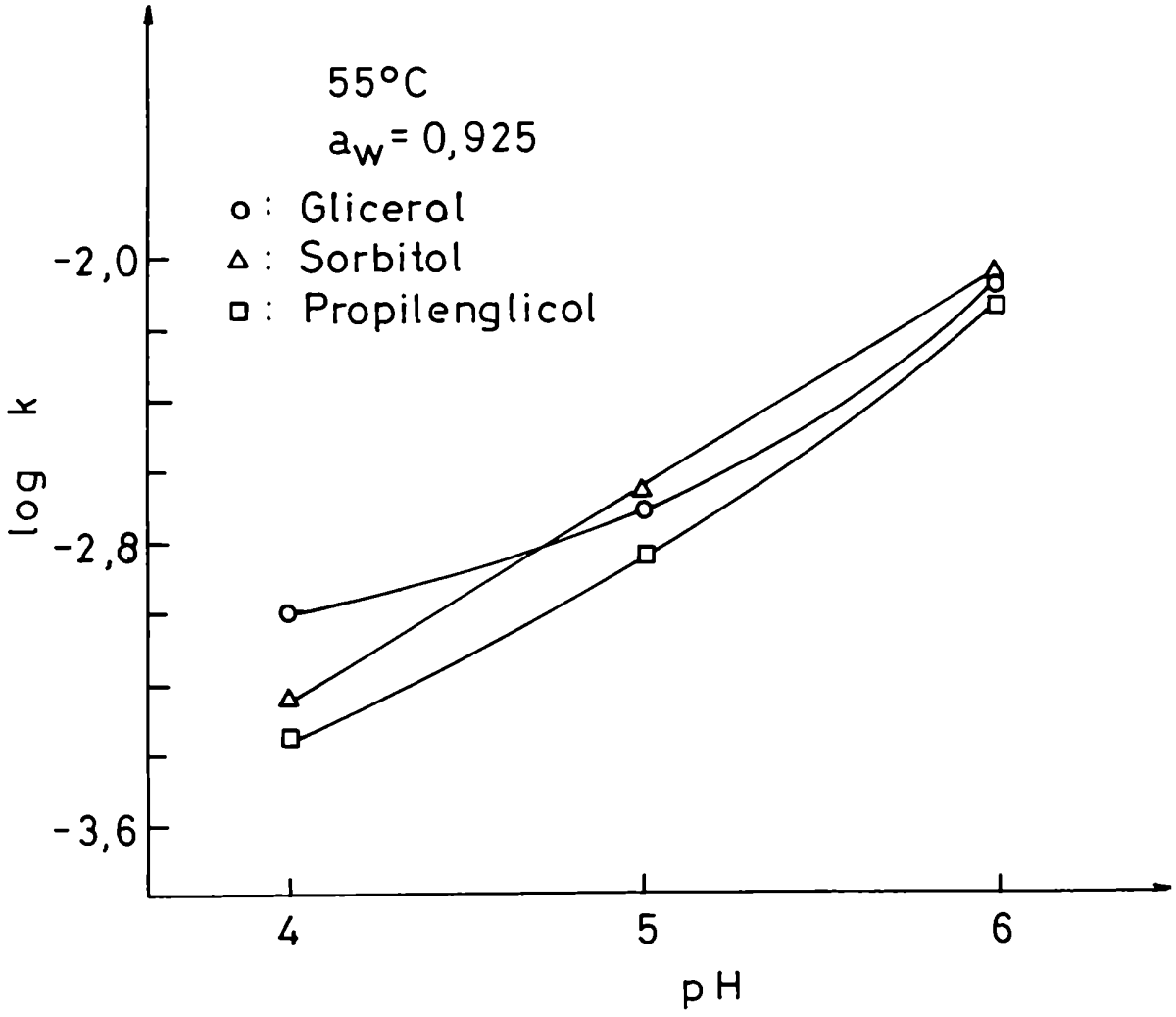


Fig. 18 - Efecto del poliol usado en el ajuste de la a_w sobre las constantes de reacción de sistemas modelo glucosa-lisina calentados a 55°C

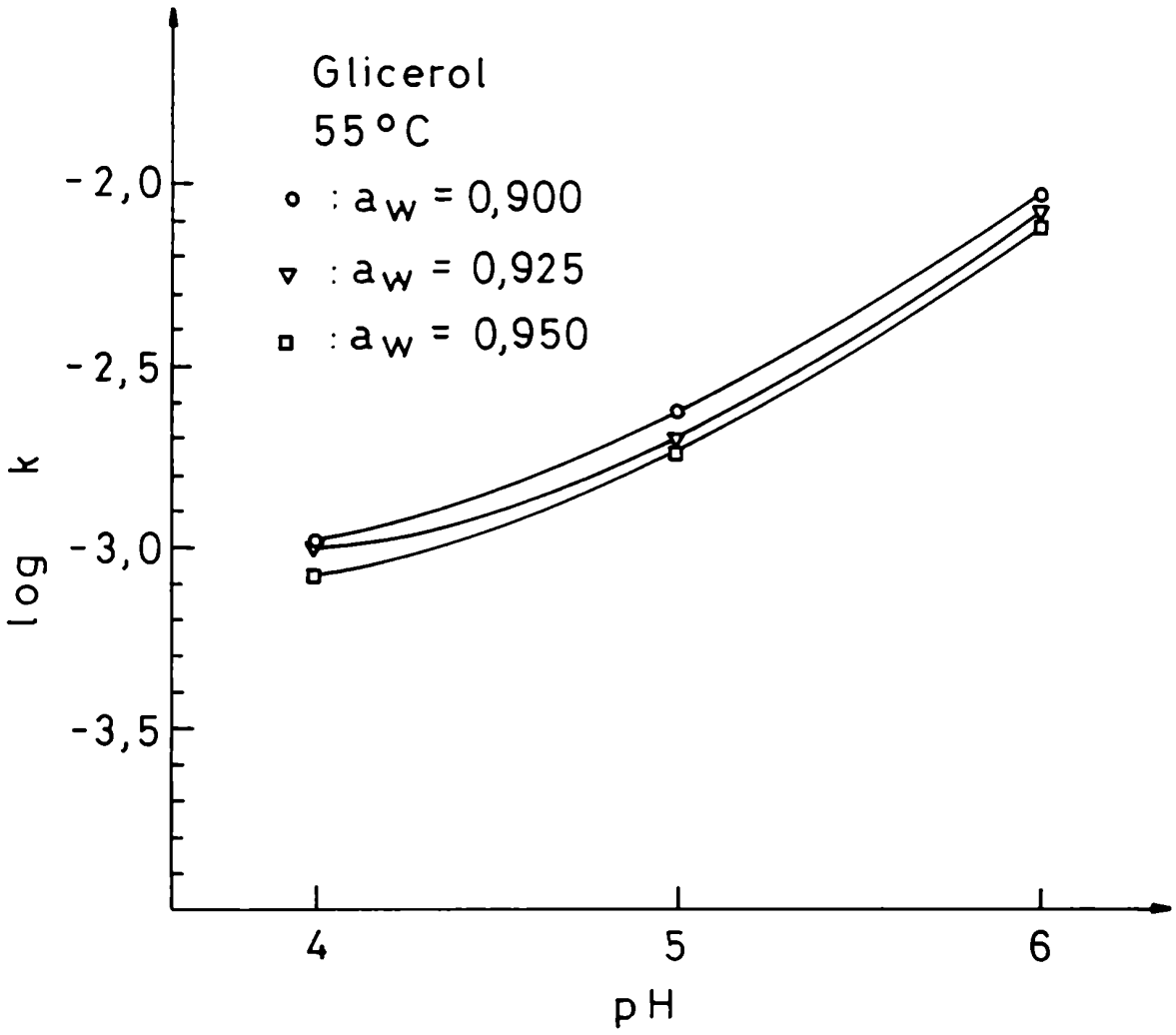


Fig. 19 - Efecto de la a_w, ajustada con glicerol, sobre las constantes de reacción de sistemas modelo glucosa-lisina calentados a 55°C

IV.3.4. Energía de activación

De las reacciones deterioriativas que ocurren en los alimentos, las reacciones de pardeamiento no enzimático están entre las más afectadas por variaciones en la temperatura. Se ha comprobado que en la mayoría de los casos la magnitud de este efecto puede ser evaluada, al menos en forma aproximada, mediante la aplicación de la ecuación de Arrhenius y el cálculo de la energía de activación (Labuza y Riboh, 1982).

De acuerdo al modelo de Arrhenius se puede expresar la constante de reacción como

$$k = k_o \, e^{-E_a/RT}$$

siendo

k = constante de velocidad de reacción (hora^{-1})

E_a = energía de activación (Kcal/mol)

T = temperatura absoluta (°K)

k_o = constante absoluta de velocidad de reacción o factor preexponencial (hora^{-1})

k = constante de los gases ideales (1,986x10^{-3} Kcal/mol°K)

Del valor de la energía de activación puede derivarse el ter-

///

mino Q_{10}. Se define como el aumento en la velocidad de reacción que se produce al incrementarse en 10°C la temperatura de reacción

$$Q_{10} = \frac{v(T + 10)}{v_T} = \text{antilog } \frac{2189\ E_a}{T(T + 10)}$$

Al contrario que la energía de activación, el valor de Q_{10} es dependiente de la temperatura y disminuye al aumentar ésta. Su ventaja radica en que proporciona una forma rápida de visualizar el efecto de la temperatura, permitiendo efectuar comparaciones con respecto a la influencia de este parámetro en las reacciones de deterioro.

En la Fig. 20 se encuentran graficados el logaritmo de las constantes de reacción versus la inversa de la temperatura absoluta para sistemas modelo de pH = 6, a_w = 0,925 y uno u otro de los humectantes: glicerol, sorbitol y propilenglicol. Se observa la existencia de un buen comportamiento lineal que también se reproduce en las otras condiciones estudiadas. Luego trazando las rectas, de la pendiente de las mismas se derivan los valores de las correspondientes energías de activación y términos Q_{10} (Tabla 9). En esta obtención de las energías de activación fue usado el método tradicional, calculando primero las constantes de reacción y efectuando luego la regresión del logaritmo de las mismas versus la recíproca de la temperatura absoluta (Lund, 1983).

///

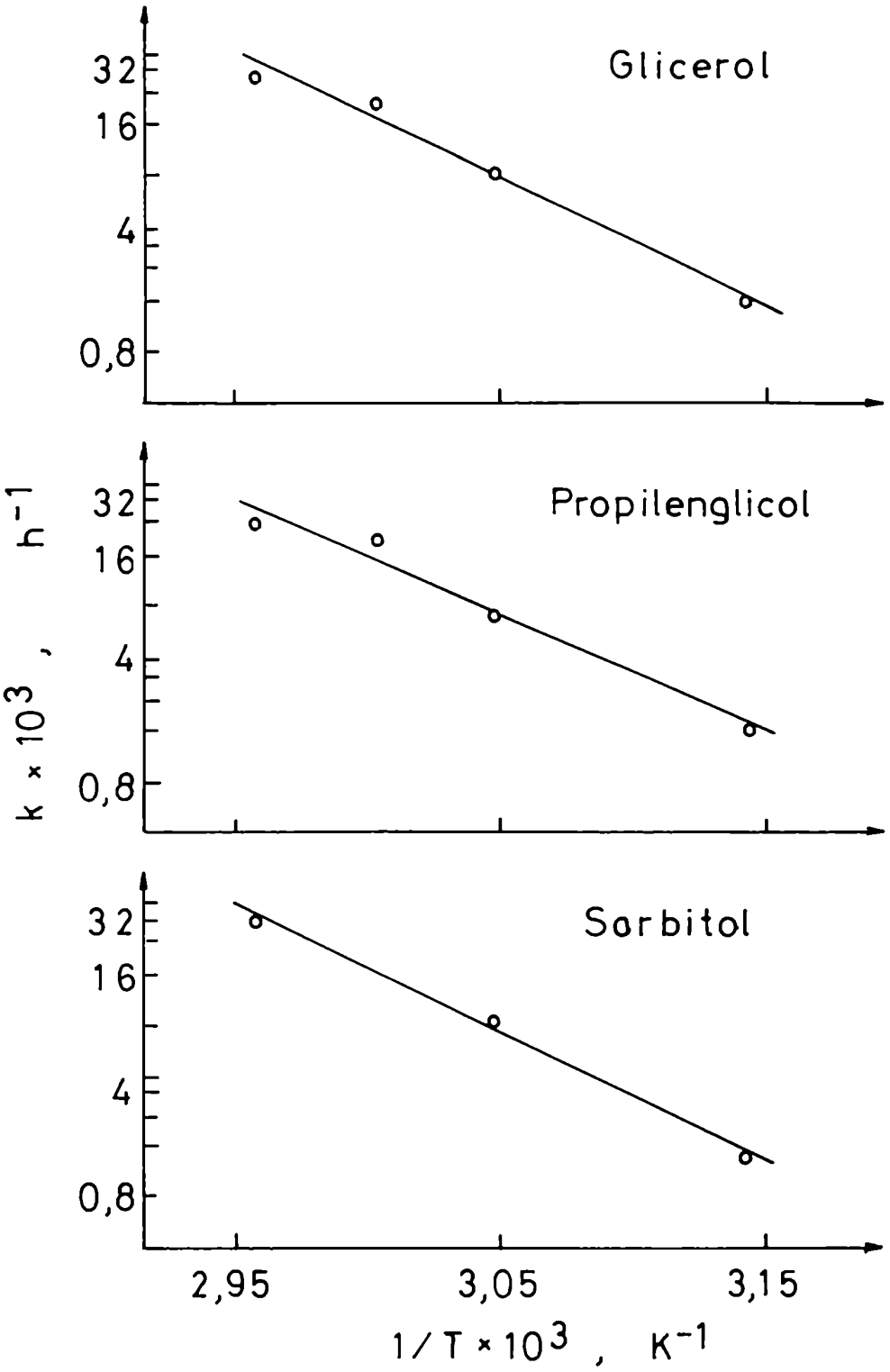


Fig. 20 - Gráfica de Arrhenius para constantes de reacción de soluciones glucosa-lisina, pH = 6 y a_w = 0,925, ajustada con diferentes polioles

Tabla 9 - Energías de activación (E_a) y términos Q_{10}, correspondientes al pardeamiento no enzimático de sistemas modelo glucosa-lisina cuya a_w fue ajustada con polioles

Poliol	pH	a_w 0,900			a_w 0,925			a_w 0,950		
		E_a(kcal/mol)	Q_{10} (1)	Q_{10} (2)	E_a(kcal/mol)	Q_{10} (1)	Q_{10} (2)	E_a(kcal/mol)	Q_{10} (1)	Q_{10} (2)
Glicerol	4	26,5(2,6)	3,6	3,3	25,5(2,4)	3,4	3,2	26,0(2,8)	3,5	3,3
	5	28,7(2,6)	4,0	3,7	29,3(3,4)	4,1	3,8	27,7(3,2)	3,8	3,5
	6	33,1(2,3)	5,0	4,5	32,6(2,8)	4,8	4,4	32,6(3,3)	4,8	4,4
Propilen-glicol	6	29,6(2,3)	4,2	3,8	30,0(2,6)	4,3	3,9	30,4(3,4)	4,3	4,0
Sorbitol	6	30,7(3,4)	4,4	4,0	33,3(3,3)	5,0	4,5	35,1(3,4)	5,5	4,9

(1) 45-55°C

(2) 55-65°C

Entre paréntesis se indica la desviación standard de las energías de activación.

Los valores de E_a obtenidos son altos y están en buen acuerdo a los encontrados en la literatura para el pardeamiento no enzimático de muchos sistemas modelo y alimentos de humedad alta e intermedia (Tabla 10).

En el caso de alimentos deshidratados y de humedad intermedia numerosos autores han señalado un aumento de la E_a al disminuir la a_w en ese rango, según se ejemplifica en algunos casos listados en la Tabla 10.

La disminución de la a_w con frecuencia está acompañada de aumentos en la viscosidad de la fase acuosa de un alimento con las consiguientes restricciones en la movilidad de los reactivos. Luego, el aumento de la E_a al disminuir la a_w se puede atribuir a la existencia de etapas controlantes dependientes de la difusión de los reactivos, de conformidad a la teoría de la cinética de reacciones que predice una mayor E_a a mayor impedimento en la reacción. De cualquier forma, esto no ha sido aún elucidado en el caso de las reacciones de pardeamiento no enzimático. No obstante, según esta teoría, las variaciones de E_a en el rango de alta a_w, donde se presume un menor rol de los efectos viscosos, no se deberían, por lo tanto, observar. En este trabajo las variaciones encontradas de la E_a en el rango de a_w estudiado son despreciables en el caso de sistemas modelo que contienen glicerol o propilenglicol. Igual resultado obtuvieron Saguy y col. (1978) a alta a_w en jugo de pomelo concentrado (Ta-

///

Tabla 10 - Energías de activación (E_a) correspondientes al pardeamiento no enzimático de alimentos y sistemas modelo de actividad de agua (a_w) alta e intermedia

Sistema	a_w	temperatura (°C) (rango)	E_a (kcal/mol)	Referencia
Higos	0,6-0,8		19,8	Labuza y Saltmarch (1981)
Pasas de uva (v. gold)	0,6-0,8		27,5	Labuza y Saltmarch (1981)
Pasas de uva (v. regular)	0,6-0,8		23,9	Labuza y Saltmarch (1981)
Suero en polvo				
-higroscópico	0,65	25-45	30,3	Labuza y Saltmarch (1981)
-no higroscópico			28,8	Labuza y Saltmarch (1981)

Tabla 10 (continuación)

Manzana deshidratada	0,62	25-55	32,3	Singh y col. (1983)
	0,70		28,5	
	0,80		23,7	
	0,89		19,1	
Fideos al huevo	0,75	25-55	20,1	Labuza y col. (1982)
Jugo de manzana	0,77[a]	5-37	19,3	Toribio y Lozano (1984)
	0,82[a]		17,5	
	0,87[a]		16,4	
Sistema modelo sólido de humedad intermedia				
- aire	0,84	25-45	30	Waletzko y Labuza (1976)
- N_2			26	

Tabla 10 (continuación)

Jugo de pomelo 11-62 °Brix	0,88[a]	60-100	23,8	Saguy y col. (1978)
	0,92[a]		19,7	
	0,94[a]		17,2	
	0,97[a]		15,1	
	0,99[a]		15,2	
Sistema modelo acuoso glucosa-lisina	0,90-0,95	35-55	25-37	Petriella y col. (1985)
Sistema modelo acuoso glucosa-glicina	0,99[a]	57-99	22,1	Song y col. (1966)
Leche de cabra	0,99[a]	93-121	27	Labuza y Saltmarch (1981)
Jugo de manzana	0,98[a]	37-130	27	Labuza y Saltmarch (1981)
Sistema modelo acuosa (varias mezclas de glicina, a. glutámico y azúcares reductores	0,98[a]	80-95	19-27	Cole (1967)

[a] Estimadas

bla 10).

En los sistemas con sorbitol se observa un aumento de la E_a al aumentar la a_w. Este efecto, en sentido contrario al esperado suponiendo la existencia de efectos viscosos, debe entonces más bien atribuirse a cambios en el equilibrio ácido-base. Además, considerando que el sorbitol es un notorio agente viscosante, contribuye este resultado a descartar influencias difusionales en el pardeamiento a altas a_w.

Muy pocos estudios se han efectuado sobre el efecto del pH en la energía de activación de las reacciones de pardeamiento no enzimático. Cole (1967) encontró en soluciones de azúcares y aminoácidos que la E_a entre 80 y 95°C es independiente del aminoácido y del pH (4-7), siendo sólo función del azúcar presente (lactosa, glucosa o xilosa). A cada azúcar correspondería un mecanismo de descomposición diferente, y de allí, distintas energías de activación. En cambio Lee y col. (1984) en sistemas modelo glucosa-lisina en metanol (80%), encontraron en el rango 90-110°C un aumento desde 5,1 Kcal/mol (pH = 7) a 18,0 Kcal/mol (pH = 5). En los sistemas aquí estudiados, la energía de activación disminuye al decrecer el pH (Fig. 21).

De acuerdo a la Tabla 9, las energías de activación de sistemas con glicerol, sorbitol o propilenglicol a pH = 6 no difieren mucho entre sí. Sin embargo, se observa una tendencia hacia menores valores de energías de activación en las soluciones que contienen pro-

///

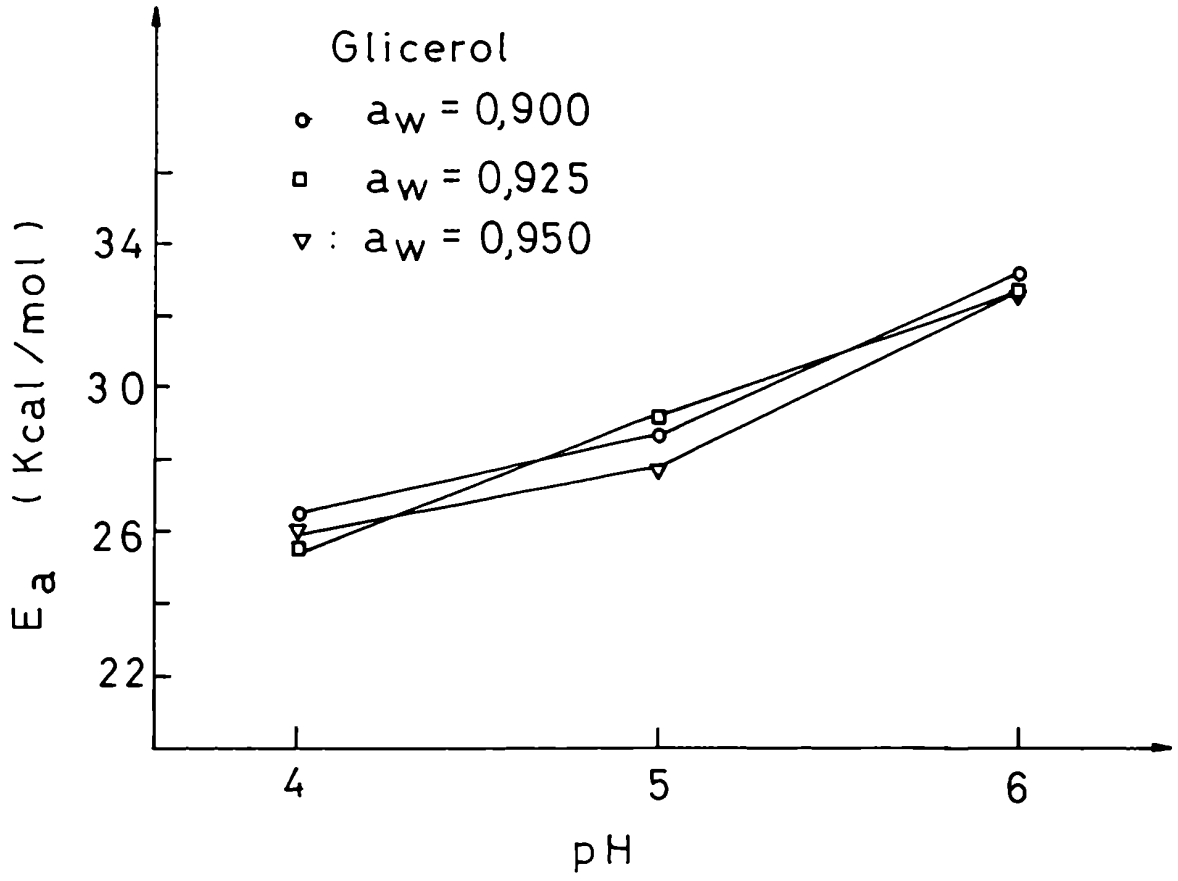


Fig. 21 - Efecto del pH en la energía de activación de la reacción de pardeamiento no enzimático en soluciones glucosa-lisina de diferente a_w ajustada con glicerol

pilenglicol, reflejando una menor dependencia de la temperatura en el pardeamiento de estos sistemas.

Hasta el presente muy poco es lo que se conoce sobre la relación que vincula composición de un alimento o sistema modelo y la energía de activación hallada en el pardeamiento no enzimático del mismo. Según se desprende de la observación de los ejemplos de la Tabla 10, sistemas modelo y alimentos que difieren en su composición, estado físico, pH o rango de temperatura de trabajo, y se pardean presumiblemente por mecanismos diferentes, pueden tener E_a muy semejante. A menudo los estudios arrojan resultados contradictorios, como los vistos al discutir el efecto del pH. Esto también se corrobora estudiando el efecto de la atmósfera. Mientras que Waletzko y Labuza (1977) hallan mayor E_a en un sistema modelo de humedad intermedia expuesto al aire que aquel en atmósfera de nitrógeno, Kopelman y col. (1977) encuentran el resultado opuesto en jugo de limón deshidratado. Obviamente la presencia de oxígeno puede cambiar la ruta de la reacción, más si se considera que ambos sistemas contienen ácido ascórbico. Además, este cambio de mecanismo estará a su vez influenciado por la velocidad de difusión de oxígeno en el alimento, introduciéndose de este modo una dificultad adicional en la interpretación de los resultados.

Aunque las investigaciones sobre el efecto de la temperatura en las reacciones de pardeamiento no enzimático han resultado hasta

///

el momento poco fértiles en la elucidación de mecanismos de reacción o en la determinación de etapas controlantes, han aportado información muy útil al diseño de procesos en la industria alimentaria. Los resultados hallados en este trabajo confirman el valor de la utilización de bajas temperaturas en la prevención del pardeamiento no enzimático.

IV.3.5. Comparación entre diversos polioles

Se ha descripto que el agregado de polioles en alimentos y sistemas modelo de humedad baja e intermedia ocasiona notables cambios en el efecto de la a_w sobre el pardeamiento no enzimático que pueden experimentar los mismos (sec. II.3.4.1b.).

En la Fig. 22 se muestra el incremento de saturación experimentado por sistemas modelo de pH = 6 y a_w = 0,925, ajustada con uno u otro de los polioles estudiados, al ser calentados a 55°C. En un primer análisis, a ninguno de los polioles puede adjudicársele una significativa acción inhibitoria o promotora del pardeamiento no enzimático.

En alimentos y sistemas modelo de humedad baja e intermedia los efectos viscosos juegan un rol importante en el pardeamiento no enzimático. En un intento de clarificar su función a altas a_w, se midió la viscosidad (μ/μ_{H_2O}) a 55°C de las soluciones arriba menciona-

///

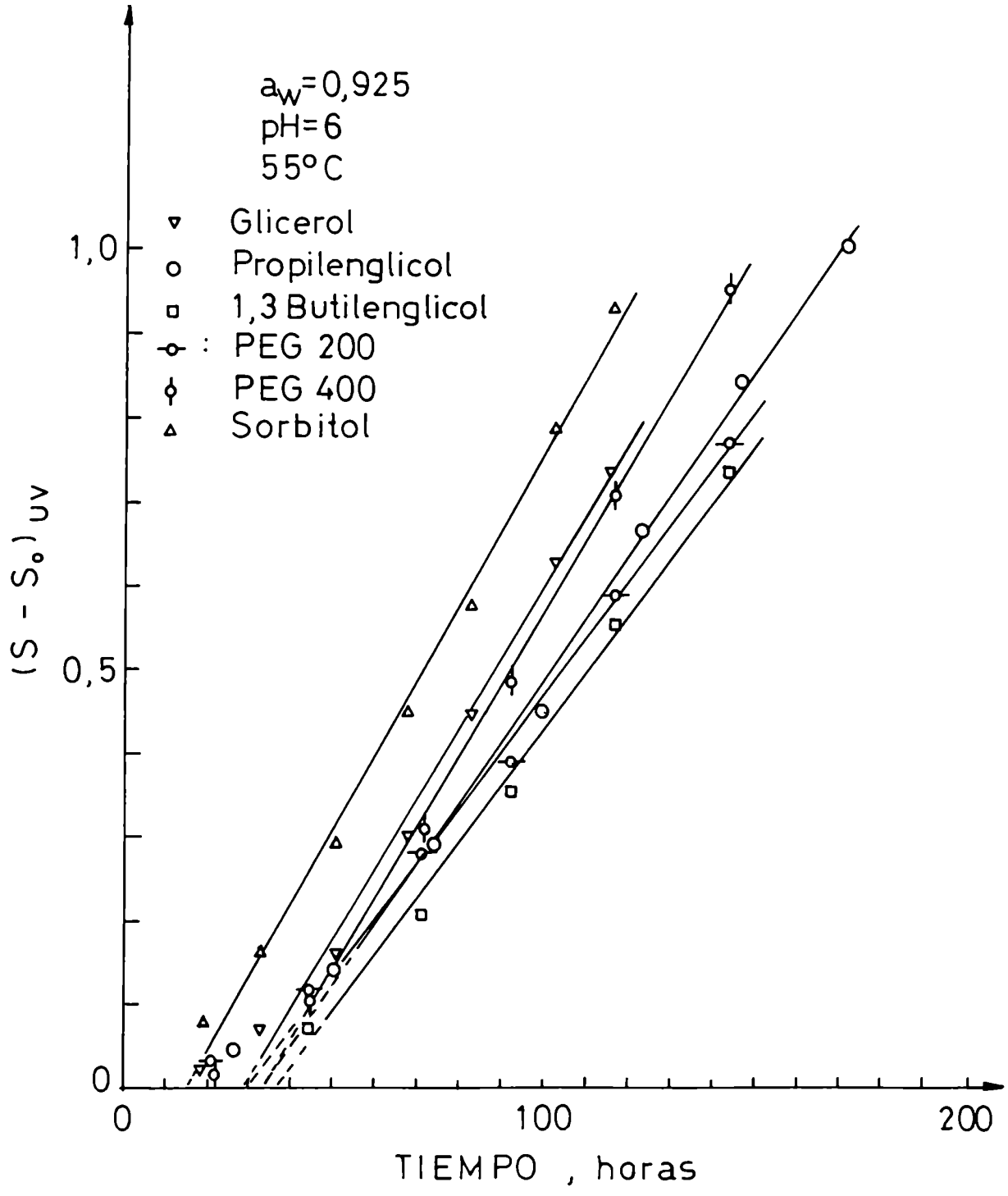


Fig. 22 - Efecto del poliol usado en el ajuste de la a_w en el incremento de saturación de soluciones glucosa-lisina (pH = 6, a_w = 0,925) almacenadas a 55°C

das, según se indica en la Tabla 11.

Se puede observar que la solución con sorbitol a pesar de su mayor viscosidad se pardea más que las otras. En igual forma, las soluciones de glicerol se pardean más que aquélla con 1,3-butilenglicol, teniendo ambas igual viscosidad, y las soluciones con glicerol y PEG 400 se pardean igualmente, siendo la viscosidad de esta última más del doble que la de aquélla. Luego, según este experimento, los efectos viscosos no desempeñan un rol significativo en estas soluciones de alta a_w. En particular, no se encuentra el efecto inhibitorio atribuído al sorbitol. Por otra parte, tampoco el grado de pardeamiento de las diferentes soluciones de polioles se puede correlacionar con el contenido acuoso de las mismas.

Cuando la comparación de las constantes de reacción en sistemas modelo con glicerol, sorbitol o propilenglicol se efectúa a tres diferentes temperatura (45, 55 y 65°C) (Fig. 23), se puede observar que mientras casi no existen diferencias a 45°C, a 65°C las soluciones con propilenglicol se pardean algo más lentamente. Este fenómeno está reflejado en el ya mencionado menor valor de sus energías de activación.

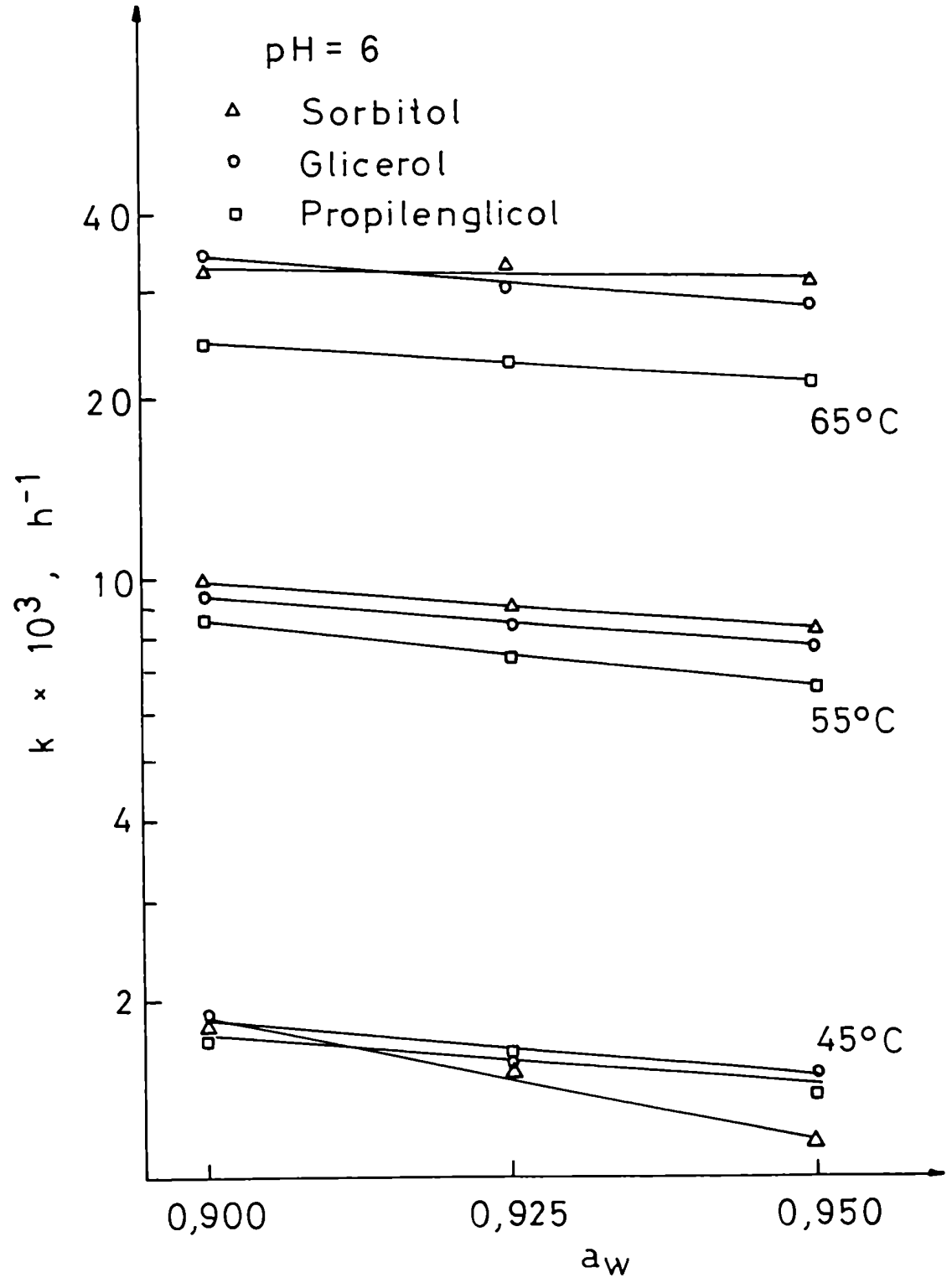


Fig. 23 - Efecto de la a_w, poliol y temperatura de almacenamiento sobre las constantes de reacción de soluciones glucosa-lisina (pH = 6). Las líneas rectas trazadas mediante regresión lineal corresponden a la variación con la a_w

Tabla 11 - Viscosidad relativa (55°C) de soluciones glucosa-lisina, a_w = 0,925, ajustada con polioles

Poliol	μ/μ_{H_2O}
propilenglicol	1,99
glicerol	2,21
1,3-butilen-glicol	2,25
PEG 200	3,73
sorbitol	4,46
PEG 400	5,35

IV.4. Efecto de diversas sales inorgánicas sobre el pardeamiento no enzimático

IV.4.1. Cinética

El desarrollo del color en función del tiempo de reacción en

///

sistemas modelo cuya a_w fue ajustada con sales, también presenta una fase lineal de incremento del color precedida por un período de inducción. Luego, cada corrida cinética fue analizada aplicando el modelo cinético lineal ya descripto. De este modo se calcularon los períodos de inducción (I) y constantes de reacción (k) correspondientes (Tabla 12). Al igual que en los sistemas modelo cuya a_w fue ajustada con polioles, se estudió la relación entre los períodos de inducción y las constantes de reacción (Fig. 24). Por un procedimiento análogo se comprobó también una relación inversa entre ambos parámetros, representada por la ecuación

$$I = \frac{0,57}{k^{0,79}}$$

El coeficiente de regresión correspondiente fue 0,967. En la correlación fueron incluídos los valores de I y k correspondientes a corridas (55°C) de sistemas modelo glucosa-lisina preparados sin agregar humectante: pH = 6, $k = 5,30 \times 10^{-3} h^{-1}$, I = 30,9 h; pH = 5, $k = 1,45 \times 10^{-3} h^{-1}$, I = 56,7 h; pH = 4, $k = 0,650 \times 10^{-3} h^{-1}$, I = 269 h.

Luego con ambos parámetros se obtienen resultados aproximadamente equivalentes en el estudio del efecto de las distintas variables (pH, temperatura, a_w, humectante).

///

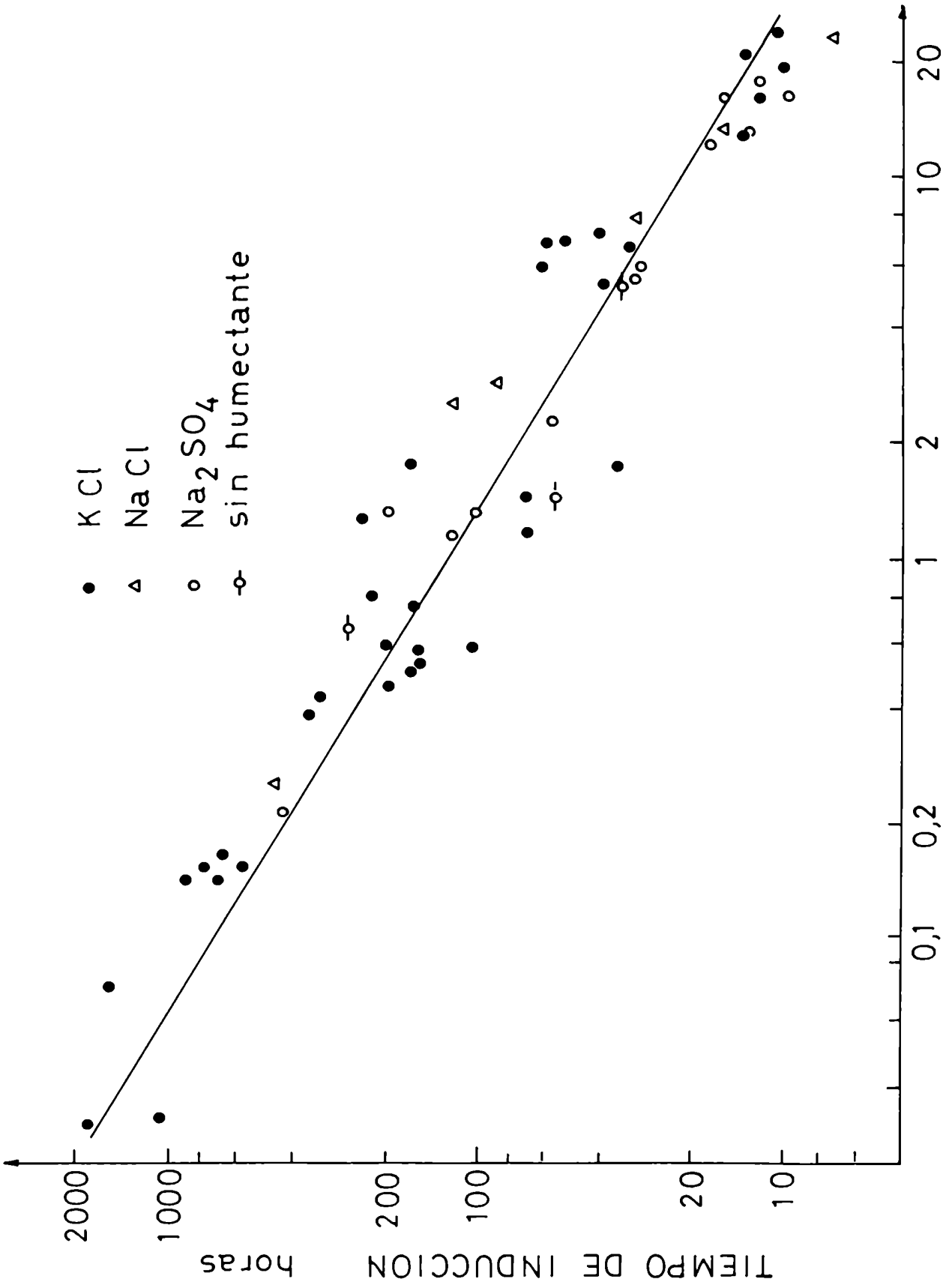
Tabla 12 - Valores de las constantes de reacción (k) y períodos de inducción (I) correspondientes al pardeamiento no enzimático de sistemas modelo glucosa-lisina cuya a_w fue ajustada con sales

Humectante	pH	temp. (°C)	a_w 0,900			a_w 0,925			a_w 0,950		
			$kx10^3, h^{-1}$		I,h	$kx10^3, h^{-1}$		I,h	$kx10^3, h^{-1}$		I,h
KCl	4	45	0,0314	(0,986)	1884	0,0329	(0,996)	1065	0,0733	(0,984)	1580
		55	0,142	(0,999)	711	0,162	(0,999)	662	0,218	(0,998)	430
		60	0,383	(0,995)	353	0,424	(0,998)	332	0,582	(0,994)	200
		65	0,789	(0,994)	233	1,26	(0,995)	245	1,74	(0,992)	168
	5	45	0,140	(0,998)	885	0,151	(0,999)	774	0,155	(0,999)	580
		55	0,504	(0,999)	169	0,563	(0,999)	158	0,570	(0,998)	106
		60	1,18	(0,997)	69,1	1,45	(0,996)	71,0	1,73	(0,999)	36,7
		65	5,72	(0,999)	62,6	6,74	(0,999)	61,8	6,57	(0,999)	33,0
	6	45	0,454	(0,980)	197	0,531	(0,997)	159	0,724	(0,999)	163
		55	6,61	(0,999)	61,1	5,27	(0,993)	40,4	6,91	(0,993)	41,2
		60	12,9	(0,996)	13,8	15,7	(0,995)	16,0	16,3	(0,999)	12,2
		65	20,8	(0,985)	13,7	19,5	(0,993)	10,4	23,9	(0,995)	11,0

Tabla 12 (continuación)

	4	55	1,31(0,997)	201		
	5	55	2,28(0,999)	58,0		
Na_2SO_4	6	45	1,30(0,987)	103	1,13(0,997)	120
		55	5,36(0,995)	31,9	5,71(0,995)	30,5
		60	12,0 (0,995)	17,8	12,7 (0,996)	13,3
		65	17,8 (0,993)	12,4	16,2 (0,995)	10,2
	4	55	0,250(0,999)	445		
	5	55	2,85 (0,999)	87,1		
NaCl	6	45	2,48 (0,992)	122		
		55	7,74 (0,998)	30,8	6,81(0,996)	22,6
		60	13,2 (0,996)	15,9		
		65	22,8 (0,998)	7,27		

Entre paréntesis se indica el coeficiente de correlación lineal (r)


TIEMPO DE INDUCCION
horas
2000
1000
200
100
20
10
0,1
0,2
1
2
10
20
K Cl
Na Cl
Na_2SO_4
sin humectante

IV.4.2. Efecto de la a_w

Las variaciones en la intensidad del pardeamiento debidas a cambios en la a_w de los sistemas modelo fueron relativamente pequeñas en todas las condiciones de pH y temperaturas estudiadas (Tabla 12). Igual resultado fue obtenido por Petriella y col. (1985) en soluciones glucosa-lisina cuya a_w había sido ajustada con NaCl en el rango 0,90-0,95. No obstante, se observa en los sistemas modelo que contienen KCl que a más baja a_w, o sea, mayor concentración de la sal, la velocidad de la reacción de pardeamiento tiende a ser menor. Este comportamiento contrasta con el aumento del pardeamiento que se verifica al disminuir la a_w en sistemas modelo cuya a_w fue ajustada agregando polioles, lo cual sugiere una cierta acción inhibitoria por parte del KCl.

IV.4.3. Efecto del pH y de la sal

En la Fig. 25 se comparan las constantes de reacción correspondientes a sistemas modelo de a_w = 0,925, ajustada con KCl, NaCl o Na_2SO_4 y temperatura de reacción 55°C. También se incluyen con propósito de comparación las constantes de reacción obtenidas en sistemas modelo sin humectante agregado, vale decir, solo contienen glucosa, lisina y fosfatos (a_w = 0,985). A pH = 6 las constantes de reacción de los sistemas con KCl, Na_2SO_4 o sin humectante son muy similares. En cambio a pH más ácido las soluciones que contienen Na_2SO_4 exhiben mayor velocidad de pardeamiento, mientras que el KCl tiene una significativa acción inhibitoria sobre el mismo. El agregado de NaCl incrementa el grado de pardeamiento a pH = 5 y pH = 6, respecto al sistema sin humectante; sin embargo, tiene efecto inhibitorio a pH = 4.

El efecto promotor del pardeamiento del Na_2SO_4 puede atribuirse a una acción catalítica del anión $H_2SO_4^-$ (Saunders y Jervis, 1966).

La variación en la velocidad de pardeamiento producida por las diferentes sales empleadas en el ajuste de la a_w tampoco puede atribuirse a efectos viscosos, ya que en sistemas líquidos de alta a_w la difusión de los reactantes no es un factor controlante. La viscosidad relativa (μ/μ_{H_2O}, 55°C) de soluciones que utilizan sales como humectante (pH = 6, a_w = 0,925) se indica en la Tabla 13. Así,

///

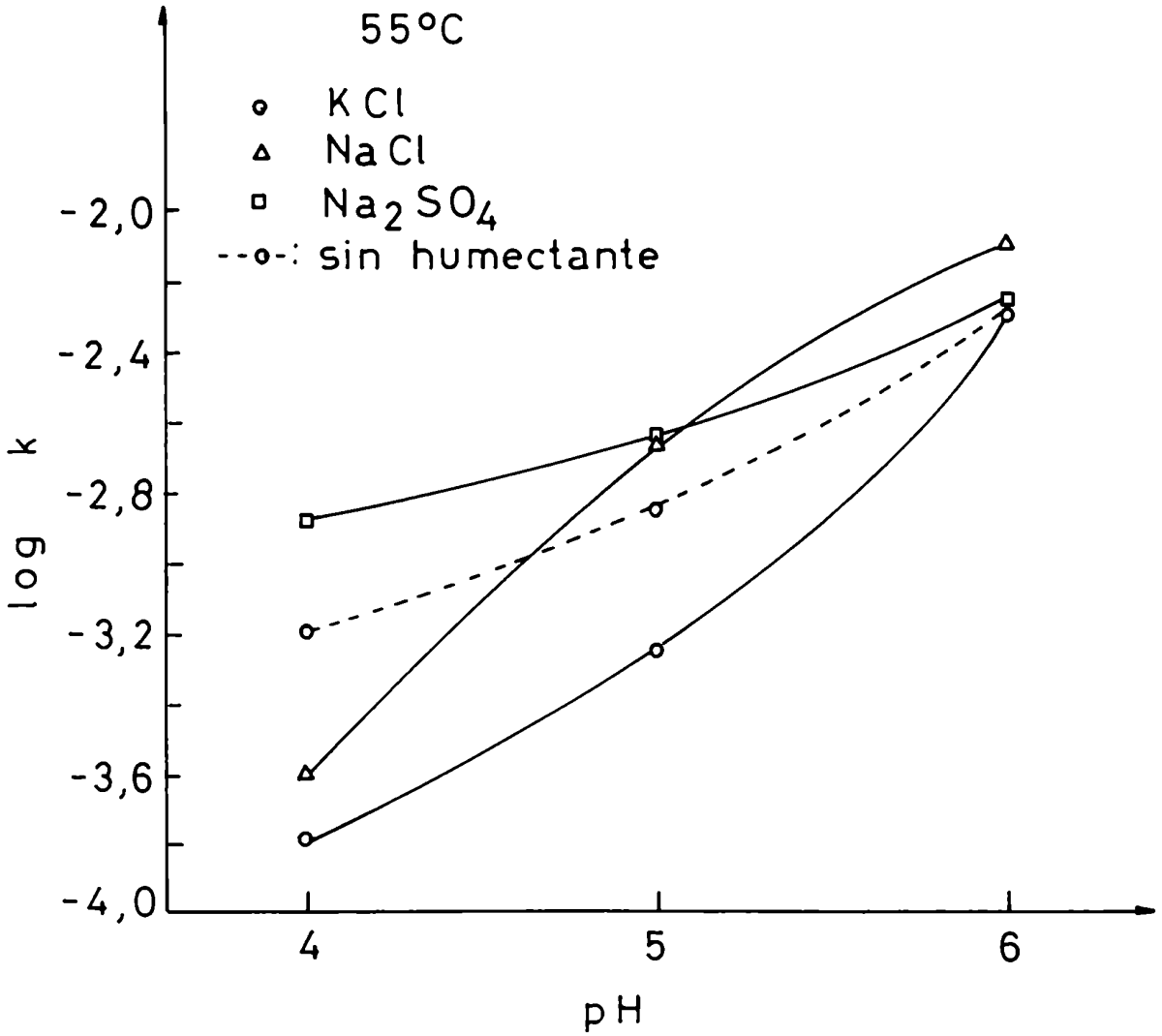


Fig. 25 - Efecto del pH y sal agregada sobre las constantes de reacción de soluciones glucosa-lisina almacenadas a 55°C

Tabla 13 - Viscosidad relativa (55°C) de soluciones glucosa-lisina, a_w ajustada con sales inorgánicas (a_w = 0,925) o sin agregado de humectante

sal	μ/μ_{H_2O}
Na_2SO_4	2,86
KCl	1,40
NaCl	1,52
Sin humectante	1,25

la viscosidad de la solución que contiene Na_2SO_4 es el doble que aquélla que contiene KCl, sin embargo el pardeamiento es igual en ambas.

Hasta aquí los resultados muestran una inhibición en el pardeamiento no enzimático a bajo pH por el agregado de NaCl o KCl. Con el objeto de verificar una eventual acción específica del catión en la reacción se comparó el efecto en el pardeamiento no enzimático de distintos cloruros alcalinos presentes en igual concentración. En la Fig. 26 se compara el incremento de saturación de soluciones glucosa-lisina (pH = 4,75; T = 55°C) a las cuales fue agregado a una

///

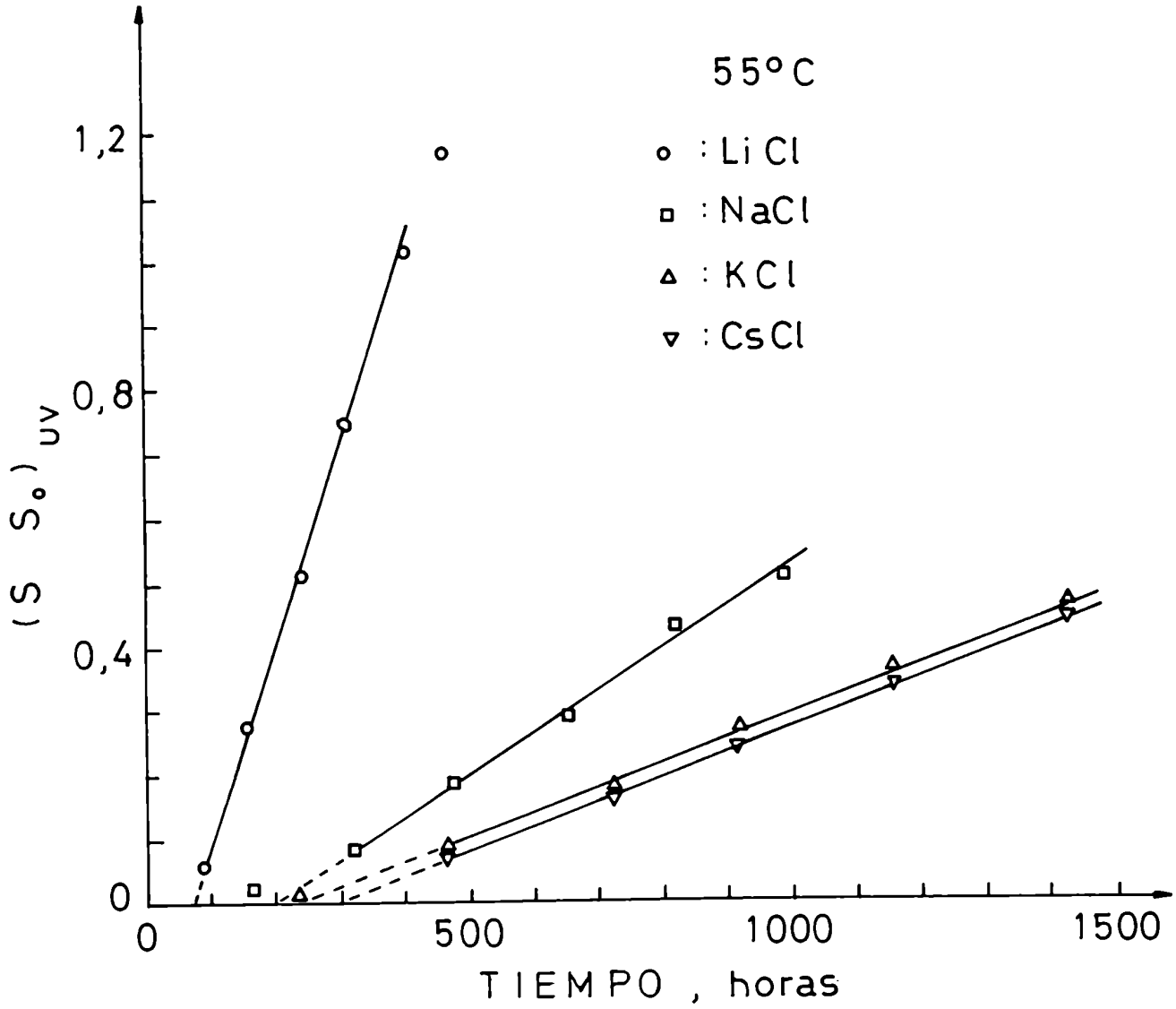


Fig. 26 - Efecto del agregado de cloruros alcalinos en el incremento de saturación de soluciones glucosa-lisina (pH = 4,75) calentadas a 55°C

concentración 1M algunos de los siguientes cloruros alcalinos: LiCl, NaCl, KCl y CsCl. En la Tabla 14 se indican los valores de las constantes de reacción y períodos de inducción correspondientes. El grado de pardeamiento resultante sigue el orden Li > Na > K,Cs. Es interesante notar que el efecto relativo de estos cationes sobre la velocidad de pardeamiento se corresponde con el radio iónico hidratado de los mismos en solución: Li^+(3,40 Å), Na^+(2,76 Å), K^+(2,32 Å), Cs^+(2,28 Å) (Cotton y Wilkinson, 1966).

Con el propósito de prevenir o disminuir el deterioro de los alimentos causado por reacciones de pardeamiento no enzimático han sido propuestos y utilizados varios métodos (Eskin y col., 1971): baja temperatura de almacenamiento, bajo pH, control de la humedad, exclusión del oxígeno, remoción enzimática de azúcares y agregado de compuestos químicos inhibidores. En este último caso, tres aditivos se mencionan en la literatura: sulfitos, tioles y sales de calcio. Mientras que el agregado de sulfitos constituye el procedimiento más empleado, se ha encontrado que el Cl_2Ca actua, por sí solo o en presencia de SO_2, como eficaz inhibidor del pardeamiento en vegetales deshidratados (Simon y col., 1955; Eskin y col., 1971) y soluciones azúcar-aminoácido (Burton y Mc Weeny, 1963b).

Se ha postulado que el efecto inhibidor del calcio es debido a la formación de complejos con aminoácidos (Simon y col., 1955). Sin embargo, el calcio es capaz de complejarse con azúcares en solu-

///

Tabla 14 - Composición y valores de las constantes de reacción (k) y períodos de inducción (I) correspondientes a sistemas modelo glucosa-lisina con agregado de 1 mol/litro de diversos cloruros alcalinos, pH = 4,75, calentados a 55°C

	LiCl	NaCl	KCl	CsCl
KH_2PO_4 (g/l)	40,83	40,83	40,83	40,83
$Na_2HPO_4.2H_2O$ (g/l)	8,90	8,90	8,90	8,90
k , $h^{-1}x10^3$	3,10	0,656	0,403	0,389
I, h	73,1	198	268	297
coeficiente de correlación (r)	0,999	0,997	0,999	0,999

ción (Angyal, 1973), lo cual hace suponer un mecanismo de inhibición diferente que involucraría una mayor estabilidad de los azúcares complejados con el catión.

Los resultados de este trabajo sugieren que el KCl podría emplearse también como un inhibidor del pardeamiento no enzimático de los alimentos. De cualquier manera, la factibilidad de este procedimiento deberá confirmarse experimentalmente y en sistemas reales.

IV.4.4. Energía de activación

En la Fig. 27 se ejemplifica la aplicación de la ecuación de Arrhenius a las constantes de reacción obtenidas en sistemas modelo de diferente pH y a_w = 0,925, ajustada con KCl. En forma semejante, su aplicación a los restantes sistemas con KCl, Na_2SO_4 o NaCl permitió calcular a partir de las pendientes de las rectas obtenidas mediante regresión lineal, los valores de las energías de activación correspondientes (Tabla 15).

Se puede observar que la E_a correspondiente a los sistemas que contienen KCl es mayor que la de aquéllos con otra sal (NaCl o Na_2SO_4). Esto significa que el efecto inhibitorio del KCl al compararlo con el pardeamiento de los otros sistemas modelo, se incrementa al disminuir la temperatura. Además, también es mayor que la hallada para sistemas idénticos, cuya a_w fue ajustada mediante

///

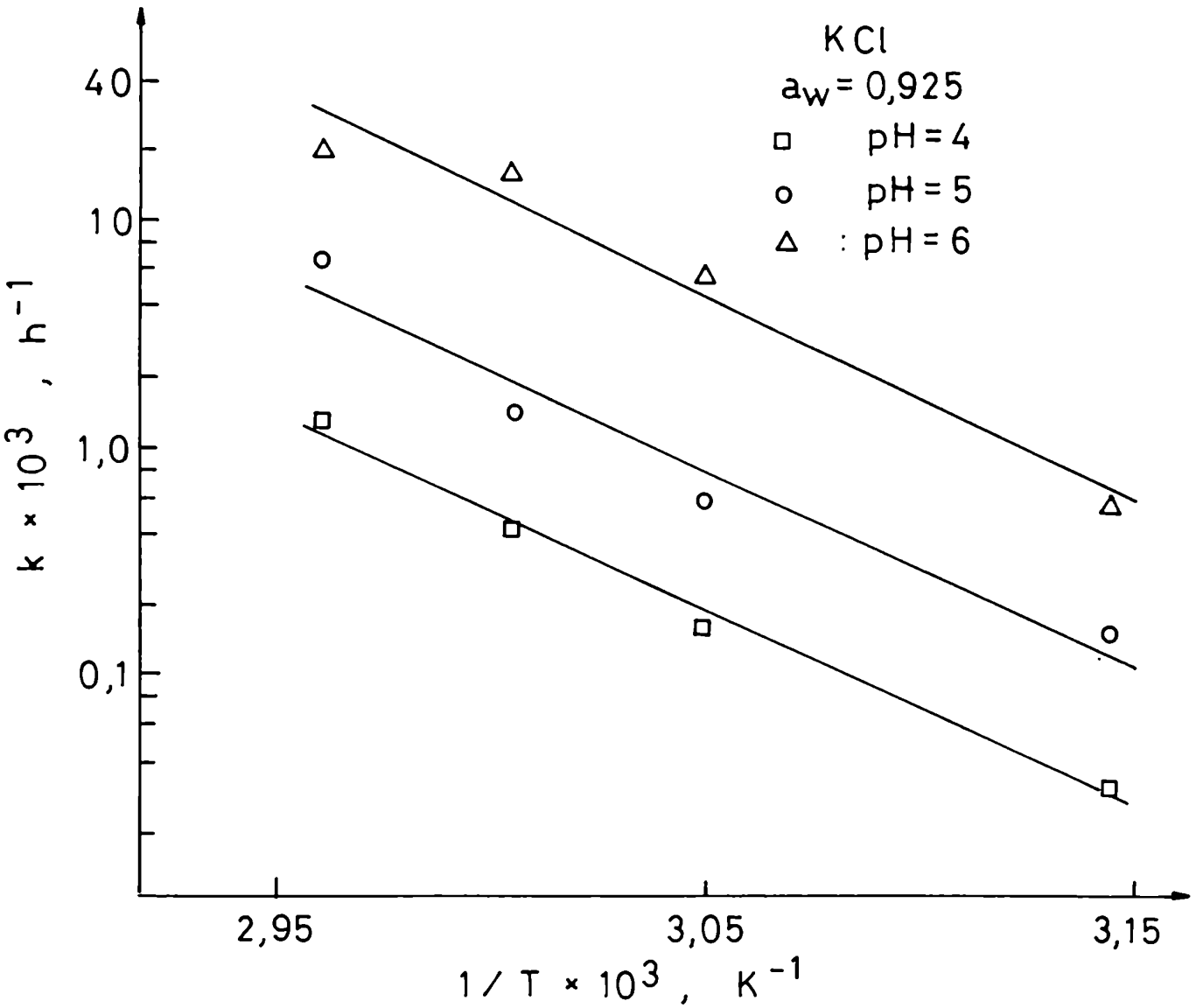


Fig. 27 - Gráfica de Arrhenius para constantes de reacción de soluciones glucosa-lisina de diferente pH y a_w = 0,925 ajustada con KCl

Tabla 15 - Energías de activación (E_a) y términos Q_{10} correspondientes al pardeamiento no enzimático de sistemas modelo glucosa-lisina cuya a_w fue ajustada con sales

Sal	pH	a_w 0,900			0,925			0,950		
		E_a(kcal/mol)	Q_{10} (1)	Q_{10} (2)	E_a(kcal/mol)	Q_{10} (1)	Q_{10} (2)	E_a(kcal/mol)	Q_{10} (1)	Q_{10} (2)
KCl	4	34,7(1,5)	5,3	4,8	38,4(2,6)	6,4	5,7	33,1(4,7)	5,0	4,5
	5	37,7(6,6)	6,2	5,6	38,9(6,4)	6,6	5,9	39,0(5,6)	6,6	5,9
	6	41,7(6,1)	7,5	6,7	40,4(5,5)	7,0	6,3	38,5(4,5)	6,4	5,8
Na_2SO_4	6				28,7(1,8)	4,0	3,7	29,6(3,3)	4,2	3,8
NaCl	6				23,6(0,13)	3,1	2,9			

(1) 45-55°C

(2) 55-65°C

Entre paréntesis se indica la desviación standard de las energías de activación.

polioles. Al igual que en estos últimos, la variación de a_w no produce variaciones significativas de la E_a y se mantiene la tendencia de menores energías de activación al decrecer el pH.

IV.5. Comparación entre humectantes: glicerol y KCl

Es interesante comparar la velocidad del pardeamiento no enzimático en sistemas modelo glucosa-lisina cuya a_w fue ajustada mediante el agregado de una sal, el KCl, o bien, de un poliol, como el glicerol. Si el carácter de un dado alimento lo consiente, la elección de cualquiera de estos humectantes es una alternativa válida para controlar la a_w. Asimismo, la posibilidad de lograr inhibición del pardeamiento mediante el agregado de KCl, le otorga a esta comparación un significativo valor práctico.

En la Fig. 28 se muestran las variaciones de las constantes de reacción a 55°C en función del pH de sistemas modelo de diferente a_w, ajustada con glicerol o KCl y en la Fig. 29 se observan las gráficas de Arrhenius correspondientes a soluciones de ambos humectantes de pH = 4, 5 y 6 y a_w = 0,900. De la observación de ambas figuras se concluye que el efecto inhibitorio del KCl se acentúa al decrecer el pH, la a_w y la temperatura. El agregado de KCl potencia notablemente la reducción del pardeamiento, tradicionalmente efectuada mediante la disminución del pH y la temperatura.

///

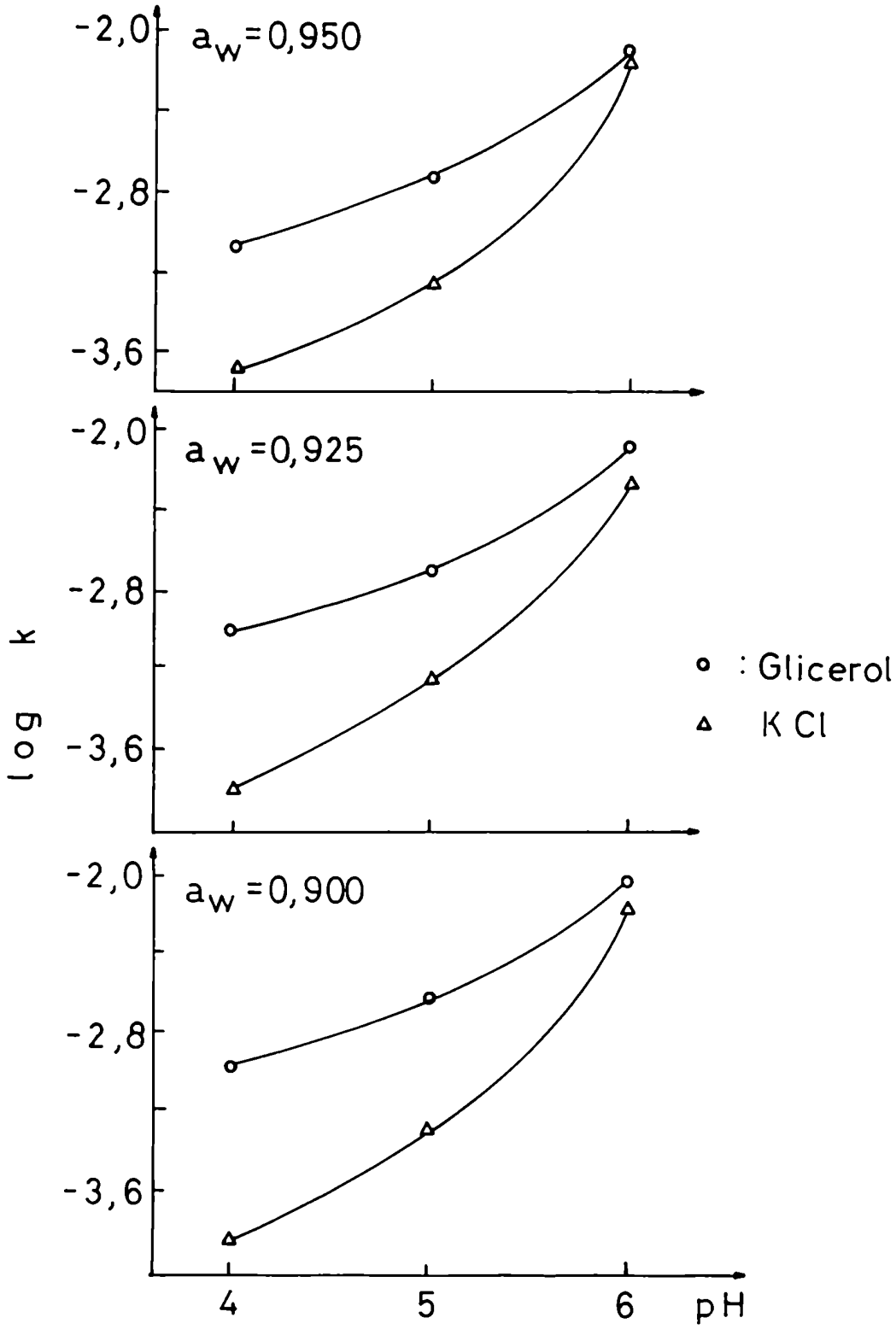


Fig. 28 - Comparación de las constantes de reacción (55°C) de sistemas modelo glucosa-lisina cuya a_w fue ajustada con glicerol o KCl

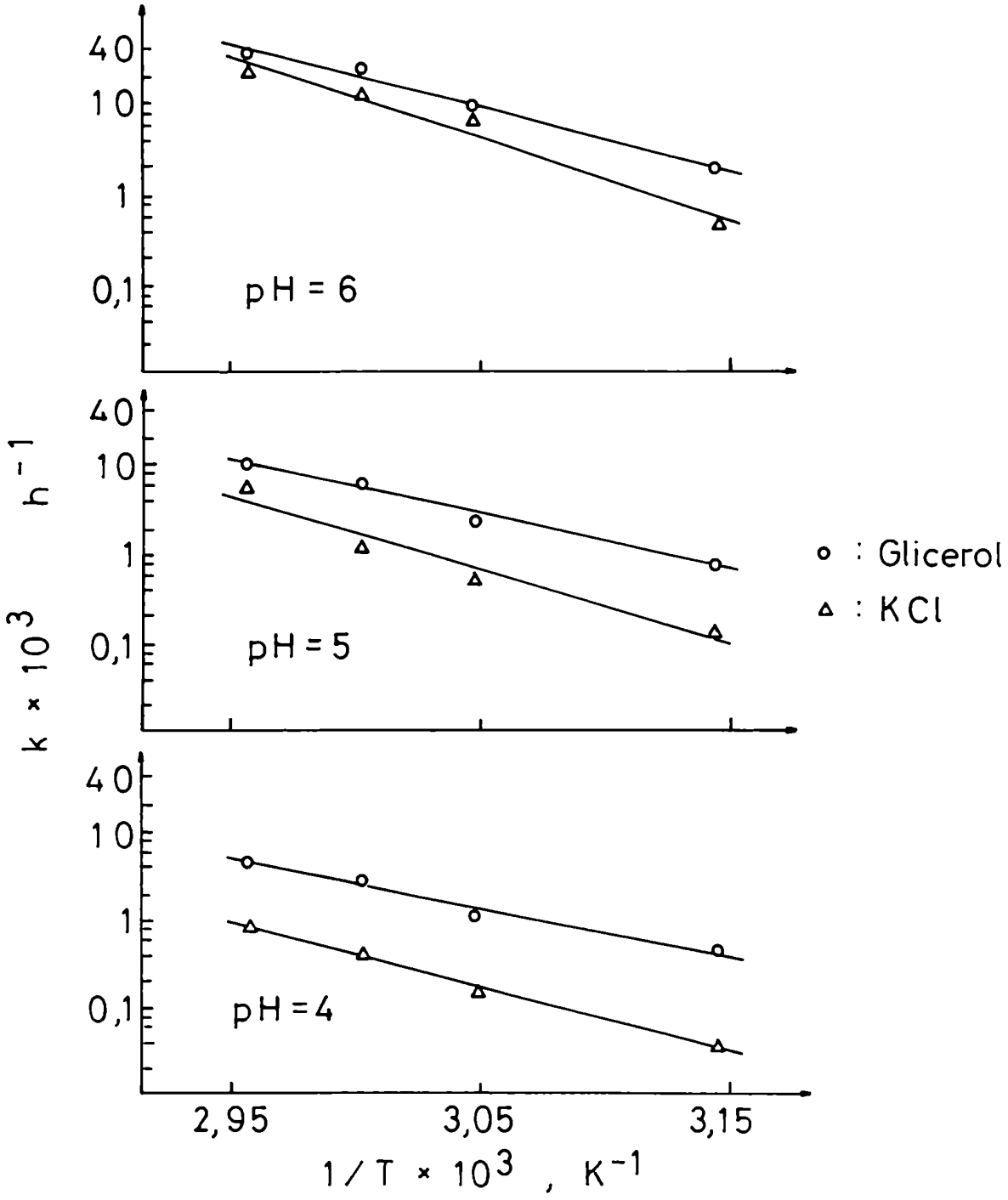


Fig. 29 - Gráfica de Arrhenius para constantes de reacción de sistemas modelo glucosa-lisina, a_w = 0,900, ajustada con glicerol o KCl

IV.6. Cambios en el espectro ultravioleta de sistemas pardeados

Como resultado de las reacciones de pardeamiento no enzimático se forman compuestos de fuerte absorción ultravioleta con los consiguientes cambios en las correspondientes curvas espectrales (sec. II.3.5.2.). Con el propósito de investigar este hecho y su relación con los cambios de color se consideraron corridas cinéticas seleccionadas correspondientes a soluciones glucosa (0,274M)-lisina (0,00684M) en que previamente fue estudiado el efecto del agregado de humectantes en el pardeamiento.

IV.6.1. Características del espectro ultravioleta

En la Fig. 30 se observan los espectros de absorción ultravioleta de soluciones glicina-lisina pardeadas de diferente pH (4, 5 y 6), que han sido diluídas en forma conveniente. Además, como referencia, se encuentra graficado el espectro correspondiente a una solución diluída (7,5 ppm) de 5-hidroximetilfurfural (HMF). Dichas soluciones se caracterizan por tener casi el mismo color, sin embargo, su absorción ultravioleta crece notablemente al disminuir el pH, obligando a efectuar una mayor dilución para su medición. Todas las soluciones presentan en sus curvas espectrales los características máximas y mínimos halladas en los espectros ultravioletas de los furfurales en

///

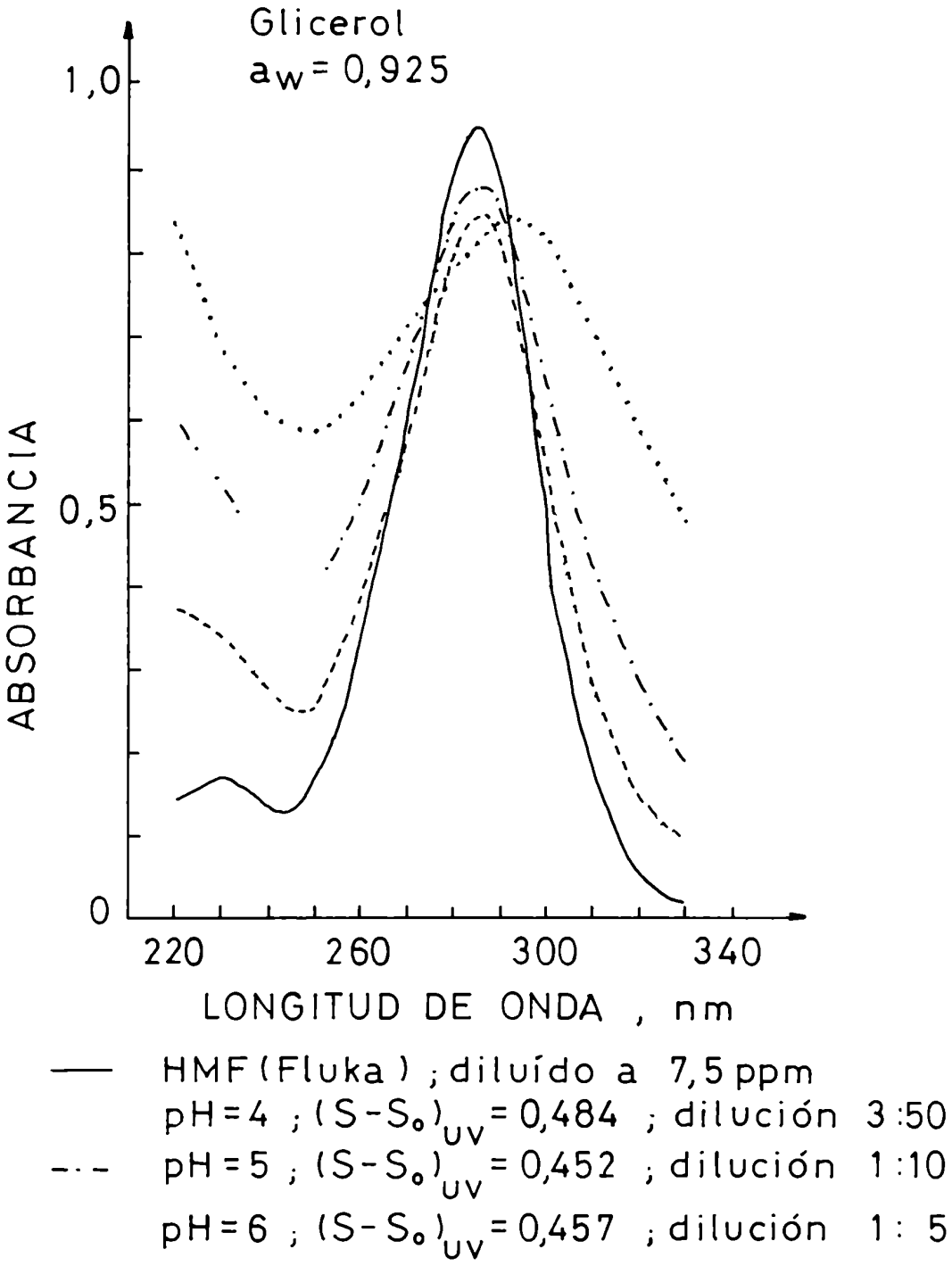


Fig. 30 - Espectros de absorción ultravioleta de soluciones glucosa-lisina, a_w = 0,925, ajustada con glicerol y almacenadas a 55°C

solución acuosa. La solución de pH = 6 presenta un máximo de absorbancia centrado a 290 nm, mientras que aquéllas de pH = 4 y pH = 5 tienen los respectivos máximos más marcados y desplazados hacia 285 nm. En conjunto, a medida que disminuye el pH, más parecido es el espectro ultravioleta de las soluciones pardeadas al correspondiente al del HMF. Este hecho, sumado al aumento de la absorción, sugiere que la presencia de HMF crece al descender el pH de las soluciones en muestras de igual coloración.

La diferencia más significativa en la forma de las curvas espectrales se observa entre sistemas de diferente pH. Solamente en las soluciones de pH = 6, cualquiera sea el humectante presente, se observa un pequeño, pero paulatino achatamiento de las curvas espectrales al progresar el pardeamiento.

IV.6.2. Cinética

En la Fig. 31 se observa el desarrollo de la absorbancia a 290 nm en función del tiempo de calentamiento a 55°C, de diversos sistemas modelo glucosa-lisina. La longitud de onda elegida, 290 nm, corresponde a la ubicación del máximo de absorbancia en los sistemas modelo de pH = 6.

En la literatura se encuentra que cuando la medición de la absorbancia en el rango 280-300 nm ha sido usada en el seguimiento

///

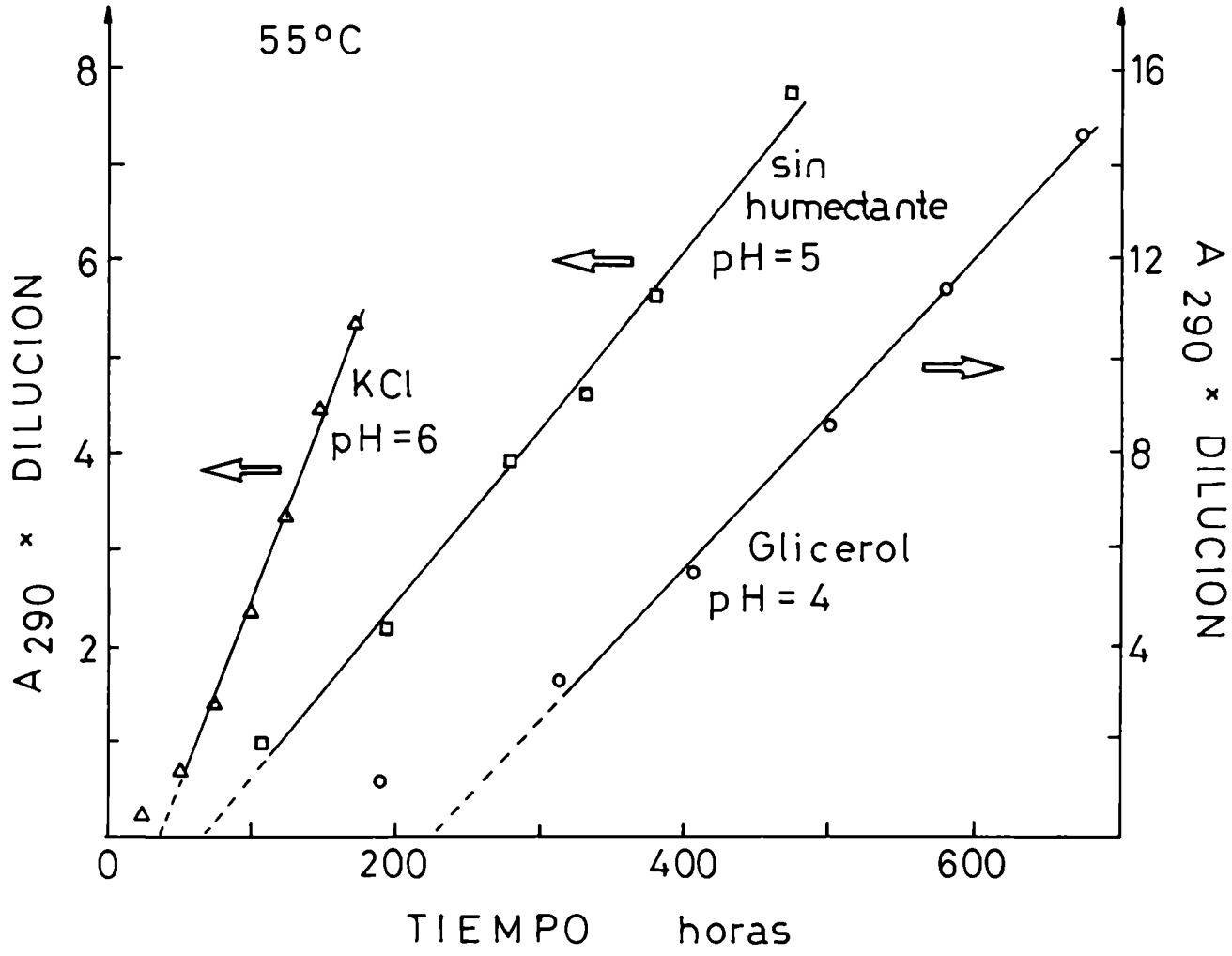


Fig. 31 - Incremento de la absorción ultravioleta a 290 nm en función del tiempo de almacenamiento a 55°C de diversos sistemas modelo glucosa-lisina

de la reacción, las curvas obtenidas de absorbancia en función del tiempo, son en general de forma semejante a las que describen el desarrollo del color. Usualmente, se observa un período de inducción o lag, de duración variable, seguido de otro de rápido incremento en la absorbancia (Burton y col., 1963; Cole, 1967; Barbetti, 1977; Resnik y Chirife, 1979; Flink, 1983). Lo mismo se ha observado para la formación de 5-hidroximetilfurfural (Drilleau y Prioult, 1971; Shallenberger y Mattick, 1983; Cerrutti y col., 1985) y furfural (Nagy y Randall, 1973).

Sin embargo, muy pocos estudios cinéticos cuantitativos han sido realizados estudiando el incremento de la absorción ultravioleta o la acumulación de furfurales que se verifica como consecuencia de las reacciones de pardeamiento no enzimático. En pocos casos se aplicó un modelo lineal, similar al descripto para el desarrollo de color, y se evaluaron las constantes de reacción y energías de activación correspondientes (Cole, 1965; Resnik y Chirife, 1979; Cerrutti y col., 1985). Por otra parte, recientemente Shallenberger y Mattick (1983) estudiaron detalladamente la cinética de formación de HMF proveniente de la descomposición de glucosa o fructosa en solución acuosa a 100°C. Encontraron que de acuerdo al pH, grado de avance de la reacción y azúcar involucrado, la acumulación de HMF puede ser considerado proporcional al cuadrado del tiempo de reacción, a su raíz cuadrada o a su raíz cúbica.

///

Luego de considerar los modelos cinéticos precedentes y otros de aplicación posible a los datos obtenidos, se comprobó que los mejores resultados se obtenían con un modelo cinético lineal, igual al descripto para el desarrollo del color. En esta forma se calcularon mediante regresión lineal las respectivas constantes de reacción ($k_{A_{290}}$) y períodos de inducción (I_{290}) (Tabla 16).

La correlación entre $k_{A_{290}}$ y $I_{A_{290}}$ no es buena ($I_{290} = 0,74\ k_{A_{290}}^{-1,3}$; $r = 0,82$) al contrario de la que existe entre las respectivas variables de color para las mismas corridas cinéticas ($I = 0,46\ k^{-0,83}$; $r = 0,96$).

IV.7. Comparación entre los cambios de color y de absorción ultravioleta

Los cambios de color y de absorción ultravioleta característicos de los productos de las reacciones de pardeamiento no enzimático son también indicativos de alteraciones organolépticas, funcionales y nutritivas. Ambos son "índices" del pardeamiento no enzimático y es oportuna la comparación entre ellos con dos objetivos: conocer si ambos parámetros son de empleo indistinto como "índices" de la reacción y aportar información sobre los mecanismos de la misma.

Considerando que tanto la cinética de formación de color como la de incremento de A_{290} han sido analizadas con el mismo modelo ci-

///

Tabla 16 - Valores de las constantes de reacción ($k_{A_{290}}$) y períodos de inducción (I_{290}) correspondientes al aumento de absorción ultravioleta de sistemas modelo glucosa-lisina, sin agregado de humectantes o agregado de polioles o sales (a_w = 0,925), calentados a 55°C.

Humectante	pH	$k_{290} \times 10^3, h^{-1}$	I_{290}, h	Coeficiente de correlación (r)
	4	32,0	223	0,998
Glicerol	5	58,9	137	0,993
	6	74,1	19,9	0,999
Propilen-glicol	6	67,1	30,2	0,998
Sorbitol	6	75,2	13,3	0,994
	4	7,66	616	0,999
KCl	5	10,1	208	0,997
	6	39,6	36,8	0,998
Na_2SO_4	6	36,2	27,4	0,996
NaCl	6	58,0	24,0	0,999
	4	13,3	290	0,996
Sin humectante	5	18,5	68,9	0,996
	6	43,7	20,6	0,999

///

nético, la comparación entre ambos parámetros, en particular, lo referente a pH y tipo de humectante, puede hacerse entre las respectivas constantes de reacción y períodos de inducción.

En la Fig. 32 se compara la variación con el pH de las constantes de reacción k y $k_{A_{290}}$ y períodos de inducción I e I_{290} de sistemas modelo glucosa-lisina cuya a_w fue ajustada con glicerol o KCl. Los períodos de inducción I e I_{290} son bastante semejantes y las diferencias entre las respectivas variaciones con el pH y el humectante (KCl o glicerol) no son significativas. El aspecto más sobresaliente a destacar es la menor variación que tienen las constante $k_{A_{290}}$ con el pH, comparadas con las constantes k, en los sistemas formulados con cualquiera de las dos humectantes, como se aprecia observando la Fig. 32 y la Tabla 17.

Tabla 17 - Relación entre las constantes de reacción (55°C) k y k_{290} de soluciones glucosa-lisina a pH = 6 y pH = 4

Humectante	$\frac{k(pH = 6)}{k(pH = 4)}$	$\frac{k_{A_{290}}(pH = 6)}{k_{A_{290}}(pH = 4)}$
Glicerol	8,3	2,3
KCl	33	5,2
sin humectante	8,2	3,3

///

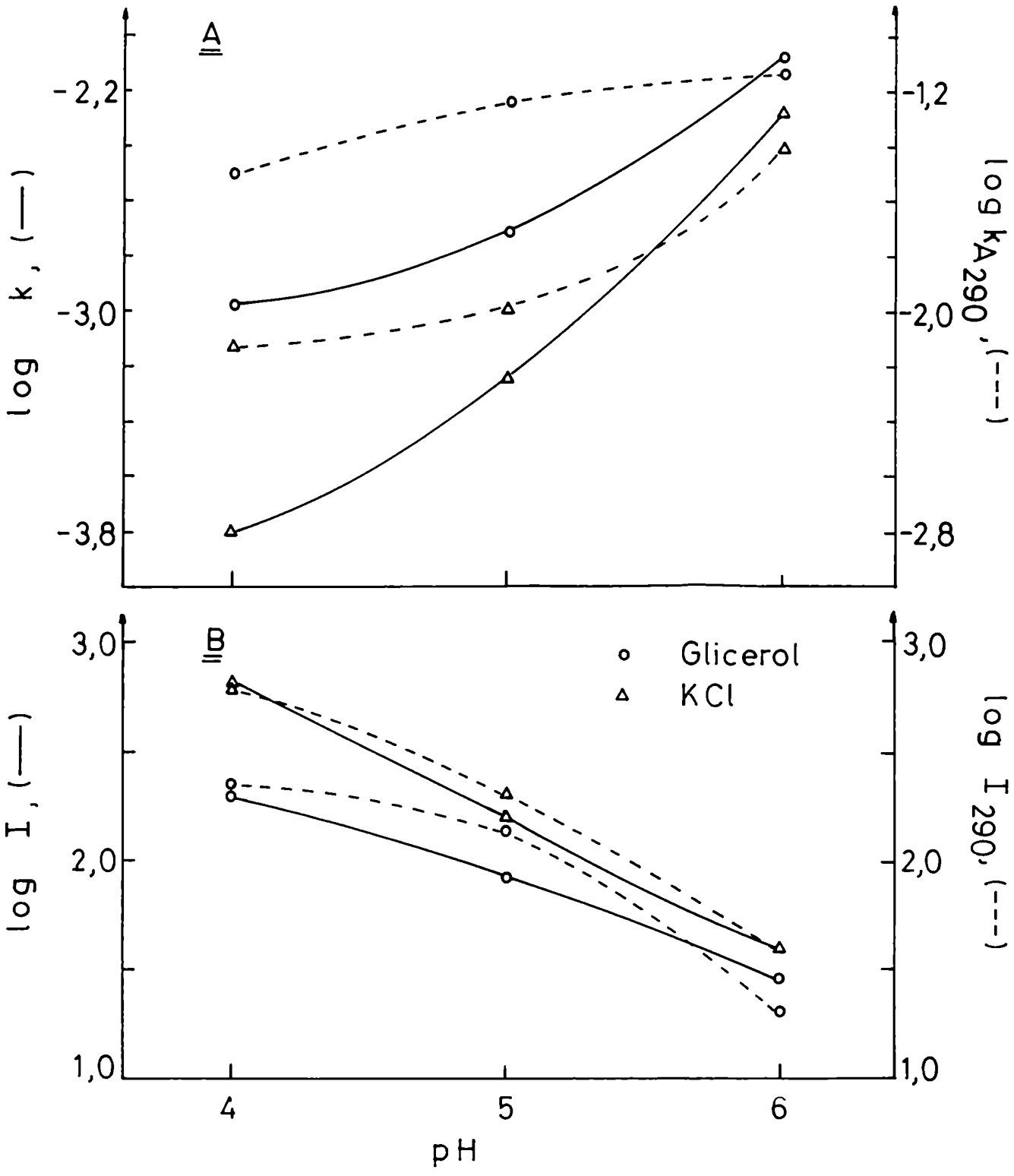


Fig. 32 - Comparación entre las constantes de reacción k y $k_{A_{290}}$ (A) y los períodos de inducción I e I_{290} (B) de soluciones glucosa-lisina, a_w = 0,925, ajustada con glicerol o KCl y almacenadas a 55°C

Además, la inhibición causada en el desarrollo del color por el KCl respecto del glicerol, también se encuentra en la absorción ultravioleta (Tabla 18).

Tabla 18 - Relación entre las constantes de reacción (55°C) k y k_{290} de soluciones glucosa-lisina, a_w = 0,925, ajustada con glicerol o KCl

	pH = 6	pH = 5	pH = 4
$\frac{k(\text{glicerol})}{k(\text{KCl})}$	1,6	3,5	6,2
$\frac{k_{A_{290}}(\text{glicerol})}{k_{A_{290}}(\text{KCl})}$	1,9	5,8	4,2

Muy pocas comparaciones se encuentran en la literatura sobre el comportamiento simultáneo de estos dos parámetros indicativos del pardeamiento no enzimático, color y absorción ultravioleta. Se sostiene en algunos estudios, sin mayores precisiones, la equivalencia de ambos (Cole, 1965; Barbetti, 1977). Sin embargo, Saunders y Jervis (1966), hallan menores variaciones en el parámetro A_{285} que en el

///

parámetro A_{490} al variar las concentraciones de los reactivos del sistema modelo glucosa-glicina a pH = 3. No obstante, ambos parámetros resultan totalmente equivalentes a pH = 7,5-8,0.

El resultado de la comparación A_{290} y color implica que los sistemas modelo de menor pH absorben proporcionalmente más en la región ultravioleta al progresar la reacción de pardeamiento. Esto se comprueba al observar la Fig. 33 donde se ha representado A_{290} versus variación de saturación de soluciones pardeadas correspondientes a sistemas modelo formulados con KCl y pH = 4, 5 o 6. Se destaca como para un mismo grado de coloración aumenta la A_{290} a medida que decrece el pH, de donde puede deducirse la existencia de una mayor relación HMF/pigmento a menor pH. Este tipo de gráfico también señala diferencias significativas a pH = 4 entre las soluciones con KCl y glicerol.

Por otra parte y como ya se discutió anteriormente la absorbancia en un solo punto del espectro brinda información incompleta del mismo. Una solución en el espectro visible constituyó el uso del color. En el espectro ultravioleta la solución elegida fue considerar la diferencia entre el máximo y el mínimo de absorbancia (A_D) en las curvas espectrales. En esta forma se extrae mayor información del espectro ultravioleta al considerar dos longitudes de onda. Teniendo en cuenta las características espectrales de los pigmentos poliméricos dicha diferencia A_D puede considerarse reflejo del con-

///

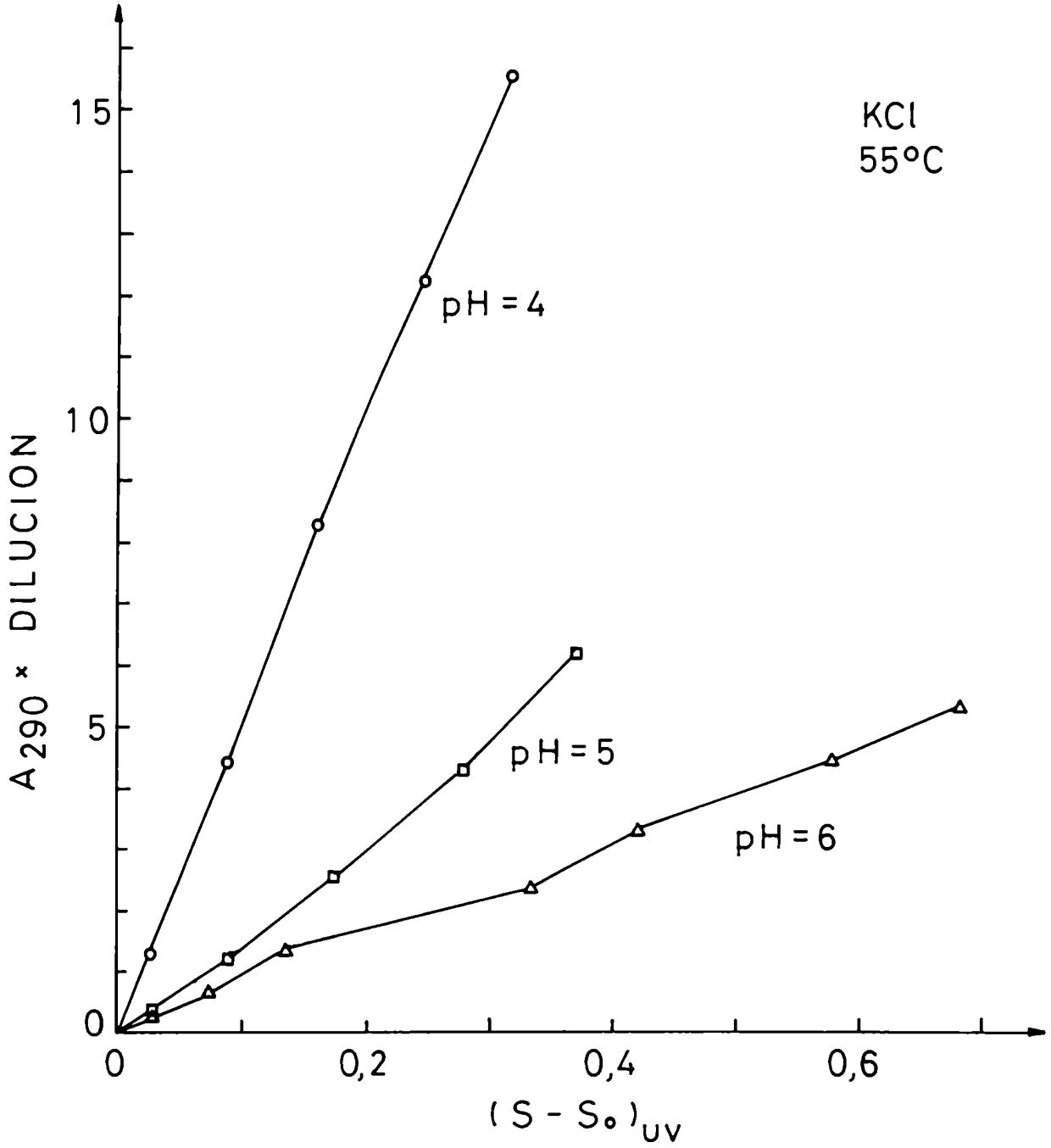


Fig. 33 - Comparación entre el incremento de A_{290} y $(S - S_o)_{uv}$ en sistema modelo de diferente pH, a_w = 0,925, ajustada con KCl y almacenadas a 55°C

tenido de HMF, y eventualmente de otros intermediarios (sec. II.3.5.2). En este sentido Braverman (1963) considera en jarabe de glucosa la la diferencia $A_{284} - A_{245}$ equivalente a la concentración de HMF.

En la Fig. 34 se observa el comportamiento de A_D en función de la diferencia de saturación de soluciones pardeadas que contienen o no humectante (KCl, glicerol) a tres diferentes pH (4, 5 y 6). Varios aspectos pueden destacarse de la observación de este gráfico.

Primero, el gran aumento en A_D relativo al color al disminuir el pH, en forma similar al ya visto al estudiar el comportamiento de A_{290}.

En segundo lugar, este aumento en A_D es diferente de acuerdo a cual sea el humectante del sistema. Así, a pH = 6 las soluciones con KCl tienen los valores más bajos de A_D, mientras que a pH = 4 la situación se invierte, siendo éstos los más altos.

Por último, mientras que a pH = 4 y pH = 5 la relación entre A_D y $(S - S_o)_{uv}$ puede considerarse lineal, a pH= 6, y ya a partir de bajos niveles de pardeamiento, A_D se incrementa más lentamente hasta estabilizarse, sin que pueda correlacionarse su valor con el grado de coloración alcanzado por los sistemas. En este aspecto, Clarke (1982) no halló correlación entre el nivel de HMF y el color de diferentes azúcares sin refinar almacenados durante distintos períodos de tiempo. Por el contrario, Sánchez-Penichet y Pino (1981) hallaron una relación lineal entre el aumento de furfural y el par-

///

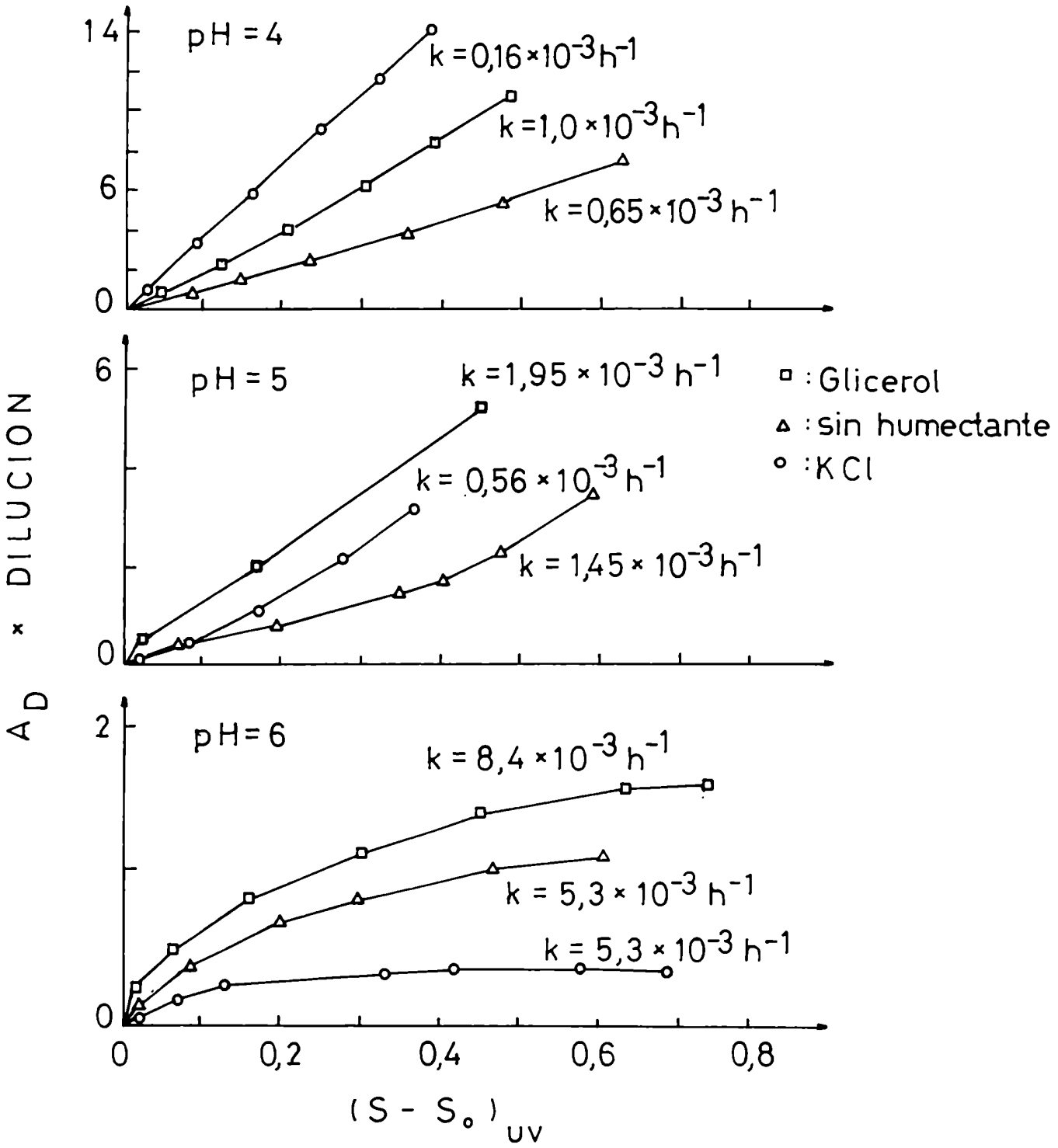


Fig. 34 - Comparación entre la variación de la diferencia entre absorbancia máxima y mínima (A_D) y el incremento de saturación de soluciones glucosa-lisina de diferente pH almacenadas a 55°C, sin o con agregado de humectante (glicerol, KCl)

deamiento de jugo de naranja concentrado. Considerando la acidez del jugo de naranja y el pH más cercano a la neutralidad de los azúcares, estos resultados están de acuerdo a los aquí obtenidos. Sin embargo, Cerrutti y col. (1985) hallaron que el contenido de HMF se incrementa con el pardeamiento, aun en muestras muy coloreadas, en soluciones glucosa-lisina de pH = 7 pero con mayor contenido de aminoácido (1%). Indudablemente, tanto el pH como la concentración de los reactivos desempeña un rol en la acumulación de los furfurales.

Al intentar la interpretación de estos hechos se debe tener presente el origen del HMF en las soluciones pardeadas. Dos rutas originan el HMF a partir de glucosa: descomposición directa (sec. II.3.2.) o con la participación de aminoácido a través de la descomposición del compuesto de Amadori (sec. II.3.4.). El HMF no es un producto final, sino un intermediario que también puede destruirse. En sistemas modelo, se han identificado productos de oxidación, hidrólisis (ac. levulínico) y numerosos productos de condensación, que por rutas semejantes a la caramelización, o en presencia de aminoácidos, a la reacción de Maillard, conducen finalmente a la formación de polímeros pardos (Olsson y col., 1981; Rice y col., 1947).

Rice y col. (1947) hallaron que la polimerización del furfural a 80°C, medida por formación de color, no es afectada por el pH entre 3,3 y 6,8, pero sí se incrementa notablemente al aumentar el pH en ese mismo rango en presencia de aminoácidos. Shallenberger

///

y Mattick (1983) encontraron que la velocidad de acumulación de HMF a partir de glucosa en solución acuosa a 100°C, no es afectada por el pH entre 2 y 6. Aunque, por otra parte, la caramelización de la glucosa sí se incrementa con el pH en el rango 4-6 estudiado en este trabajo (Kroner y Kothe, 1939), implicando que aun a pH moderadamente ácido parte de la glucosa se carameliza sin ser HMF intermediario.

Por otra parte el incremento de pH entre 4 y 6 favorece la formación de los compuestos de Amadori y por ende, incrementa el valor de esta ruta como formadora de HMF y pigmentos poliméricos. Sin embargo, también favorece la condensación del HMF con aminocompuestos presentes contribuyendo así a su desaparición. De acuerdo a esto último puede explicarse que en las soluciones estudiadas de pH = 6 las velocidades de formación y destrucción de HMF tienden a igualarse estabilizándose su contenido de HMF.

De la discusión precedente puede inferirse que cualquier sea la ruta de formación de HMF o color ya sea caramelización o reacción de Maillard, un aumento de pH entre 4 y 6 incrementará más el pardeamiento que la acumulación de HMF. Por lo tanto, mientras se alcanza un determinado nivel de coloración se producirá una mayor acumulación de HMF en las soluciones de menor pH que tienen pardeamiento más lento. De este modo quedaría explicado el diferente aumento relativo de A_D en función del grado de pardeamiento al disminuir el pH de 6 a 4.

///

Además, la formación de HMF comprende una serie de deshidrataciones sucesivas, por lo que es de esperar que su formación se favorecerá en los sistemas de menor contenido acuoso. Así puede explicarse como a cada nivel de pH tienen mayores valores de A_D las soluciones con glicerol frente a aquéllas sin humectante. Por otra parte, la posición relativa a cada nivel de pH de las curvas de A_D en función del pH correspondientes a soluciones con KCl, glicerol y sin humectante, permite deducir que la presencia de KCl también ejerce cierta acción inhibitoria sobre la acumulación de HMF.

Desde el punto de vista de la tecnología de alimentos la conclusión más importante radica en que no se pueden considerar como índices equivalentes de la reacción de pardeamiento no enzimático a la formación de color y de HMF. El contenido de HMF en las soluciones de pH = 4 y pH = 5 puede eventualmente correlacionarse con el grado de pardeamiento de estos sistemas modelo. En cambio, en las soluciones de pH = 6 el contenido de HMF refleja muy poco el avance de la reacción. De acuerdo con esto podrían explicarse algunos resultados contradictorios que se han obtenido al usar el HMF como índice de deterioro en leches esterilizadas (Burton, 1984); como ser, menor presencia de HMF en leches procesadas que en aquéllas que no lo han sido o disminución del contenido de HMF en el almacenamiento. Este tipo de resultados ha sido hallado con otros parámetros indicativos del pardeamiento. Así Spark (1969) halla estabilización en el consu-

///

mo de glicina en sistemas modelo fructosa-glicina, a pesar de proseguir el pardeamiento, y lo mismo sucede con el poder antioxidante medido por Park y Kim (1983) en sistemas modelo glucosa-glicina.

Los furfurales, al contrario del pardeamiento, no causan por sí mismos, en las concentraciones en que se hallan en los alimentos, efectos deletéreos (Nagy y Randall, 1973). Antes bien, son "índices de deterioro" que correlacionan con la pérdida de otros atributos de calidad (Nagy y Randall, 1973; Dworschack, 1980; Sullivan, 1981; Burton, 1984). Según se concluye de este trabajo, la elección en este sentido del HMF en un alimento dado debe hacerse con la debida precaución, considerando la influencia que pueden tener su composición y pH.

V. CONCLUSIONES

1) Las reacciones de pardeamiento no enzimático en una variedad de sistemas modelo glucosa-lisina y fructosa-lisina de alta a_w producen cambios de color similares. Las respectivas curvas espectrales obtenidas en el rango visible (380-770 nm) para distintos grados de avance de la reacción se caracterizan por la ausencia de máximos, mínimos o entrecruzamientos. Su característica más notable es la rápida disminución de la transmitancia en la zona de menor longitud de onda. Estos cambios espectrales se reflejan en un aumento de la cromaticidad y disminución de la luminosidad de las soluciones, los cuales pueden ser convenientemente representados por la función de color saturación (S_{uv}).

2) El incremento de la saturación (S_{uv}) indicativo del pardeamiento puede ser descripto mediante la aplicación de un modelo cinético lineal. En este modelo, el pardeamiento es dividido en dos etapas: un período de inducción (I) y un período de desarrollo lineal de color caracterizado por una constante de reacción (k).

3) Al aumentar la concentración de glucosa, fructosa o lisina en los sistemas estudiados, aumenta el valor de las constantes de reacción y disminuye la duración de los períodos de inducción.

///

En las soluciones fructosa-lisina los períodos de inducción son más cortos y marcados, comparados con aquéllos encontrados en soluciones glucosa-lisina. En cambio, en estas últimas, las constantes de reacción son mayores. Como consecuencia, los sistemas fructosa-lisina se pardean primero, pero a igual concentración de reactivos, el grado de pardeamiento final es mayor en los sistemas glucosa-lisina.

4) La dependencia de las constantes de reacción en función de la concentración de reactivos en sistemas de pH = 6, calentados a 55°C y a_w = 0,95 ajustada con NaCl, puede indicarse con las siguientes ecuaciones:

$$k = 0,29[\text{glucosa}]^{0,49}\ [\text{lisina}]^{0,58} \quad \text{(soluciones glucosa-lisina)}$$

$$k = 0,035[\text{fructosa}]^{0,38}[\text{lisina}]^{0,17} \quad \text{(soluciones fructosa-lisina)}$$

En igual forma, los períodos de inducción en las soluciones glucosa-lisina:

$$I = 3,7[\text{glucosa}]^{-0,16}[\text{lisina}]^{-0,22}$$

No se puede hallar una ecuación semejante para los cortos pe-

///

ríodos de inducción de las soluciones fructosa-lisina. Adoptando un valor promedio de 1,70 horas para estos últimos, con las ecuaciones precedentes se puede predecir satisfactoriamente el incremento de saturación en función del tiempo de calentamiento. Además, se puede inferir que la interacción glucosa-lisina es una etapa primordial del pardeamiento en los sistemas glucosa-lisina, mientras que lo es la descomposición de la fructosa, antes de reaccionar con el aminoácido, en los sistemas fructosa-lisina.

5) En el pardeamiento de sistemas modelo glucosa-lisina con diferente humectante, a_w, pH y temperatura de reacción, los períodos de inducción disminuyen al aumentar las respectivas constantes de reacción. Esta relación inversa se cumple tanto en presencia de polioles como de sales. Luego, la comparación del efecto relativo de las variables estudiadas da resultados aproximadamente equivalentes, según se empleen las constantes de reacción o los períodos de inducción.

6) La variación del pardeamiento no enzimático de sistemas modelo glucosa-lisina es pequeña al modificarse la a_w en el rango de 0,90-0,95. No obstante, se observó disminución del pardeamiento al aumentar la a_w en sistemas cuya a_w fue ajustada con po-

///

lioles. En cambio, cuando el humectante es KCl se observa el efecto inverso.

7) Las energías de activación correspondientes a la variación de las constantes de reacción con la temperatura son relativamente altas. En los sistemas con polioles son menores (26-35 Kcal/mol) comparando con aquéllos que contienen KCl (33-42 Kcal/mol). No existe variación significativa entre sistemas de distinta a_w. En cambio, la energía de activación disminuye al decrecer el pH.

8) El pardeamiento en soluciones glucosa-lisina de pH = 6 y alta a_w, no es afectado en forma notable por el agregado de uno u otro poliol. No se encontraron los efectos promotores o inhibidores hallados por otros autores en sistemas de a_w baja e intermedia, en particular el efecto inhibidor del sorbitol. El pardeamiento tampoco está relacionado con la viscosidad de las soluciones. Luego, se descarta un control difusional en el pardeamiento no enzimático a alta a_w.

9) En soluciones cuya a_w fue ajustada con polioles, el pardeamiento se incrementa entre dos y tres veces por cada aumento en una unidad de pH en el rango 4-6. Esta variación no es influencia-

///

da significativamente por la a_w, aunque lo es por el poliol usado. No obstante, esta última influencia es de considerable menor importancia que aquélla ejercida por el agregado de diferentes sales.

10) El pardeamiento de soluciones glucosa-lisina de pH = 6 cuya a_w fue ajustada con Na_2SO_4, NaCl o KCl no difiere mucho del observado en el correspondiente sistema sin agregado de humectante. A pH = 5 y pH = 4 las soluciones con Na_2SO_4 se pardean relativamente más que sus correspondientes sin humectante. En cambio, con referencia a estas últimas, las soluciones con NaCl tienen acción inhibitoria a pH = 5 y aquéllas con KCl la tienen a pH = 5 y pH = 4. La magnitud de la variación del pardeamiento no enzimático con el pH crece notablemente cuando se ajusta la a_w agregando NaCl o KCl.

11) Existe un efecto específico del catión en la serie de los metales alcalinos sobre la velocidad de pardeamiento. A pH = 4,75 se observa la secuencia de mayor a menor intensidad:
Li > Na > K, Cs, que se supone relacionada al radio iónico de estos cationes.

12) Debido a la diferente influencia que tienen polioles y sales usadas

///

en el ajuste de la a_w, en el pardeamiento no enzimático de soluciones glucosa-lisina, diferencias notorias en la velocidad de la reacción se encuentran en sistemas con glicerol o KCl. En este aspecto,el KCl tiene una acción inhibitoria específica sobre el pardeamiento, la cual se incrementa notablemente al disminuir el pH, y en menor grado, la temperatura y la a_w.

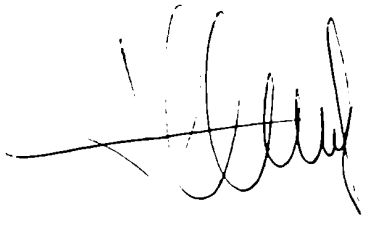
13) Las soluciones glucosa-lisina pardeadas absorben fuertemente radiación ultravioleta. Las curvas espectrales resultantes (220-330 nm) conforme el pH de los sistemas decrece, se asemejan más a la del 5-hidroximetilfurfural (HMF) en solución acuosa, con máximo característico entre 285-290 nm. El incremento de la absorbancia a esta longitud de onda puede analizarse aplicando el mismo modelo cinético lineal empleado en el seguimiento del color.

14) Las variaciones con el pH de las constantes de reacción correspondientes al incremento de la absorbancia a 290 nm son comparativamente menores que las observadas en sus equivalentes de color. En cambio, son poco significativas las diferencias en los períodos de inducción. Se concluye que la relación entre la acumulación de HMF y pigmentos debe hacerse mayor conforme el pH decrece de 6 a 4. Por otra parte, el efecto inhibidor

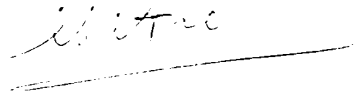
///

del KCl en el pardeamiento también se observa en la absorción ultravioleta.

15) El análisis de las curvas espectrales en la región ultravioleta hace suponer un mayor contenido de HMF, a un mismo grado de pardeamiento, en las soluciones de menor pH. Menores diferencias también existirían a cada nivel de pH de acuerdo al humectante presente. Este presunto contenido de HMF se incrementa linelamente con la saturación de las soluciones a pH = 5 y pH = 4, mientras que a pH = 6 hay un incremento inicial que va gradualmente decayendo hasta detenerse. Estos fenómenos pueden parcialmente explicarse suponiendo una menor dependencia con el pH de la acumulación de HMF con respecto a la formación de pigmento y al alcance de un balance a pH = 6 entre la formación y destrucción del mismo. Se concluye que la formación de color y de HMF no son índices equivalentes de las reacciones de pardeamiento no enzimático, ya que están influenciadas en distinta forma por el pH y composición de los sistemas.



Dr. Jorge Chirife



Lic. Claudio Petriella

VI. BIBLIOGRAFIA

ADHIKARI,H.R. y TAPPEL, A.L. (1973) Fluorescent products in a glucose-glycine browning reaction. J. Food Sci. 38, 486-488.

ALZAMORA, S.M. y CHIRIFE, J. (1984) The water activity of 1,3 and 2,3 butylene glycol solutions. Lebensm. Wiss. u- Technol. 17, 268-270.

ANGYAL, S.J. (1973) Complex formation between sugars and metal ions. Pure.Appl. Chem. 35, 131-146.

BALTES, W. (1982) Chemical changes in food by the Maillard reaction. Food Chem. 9, 59-73.

BARBETTI, P. (1977) Studio sul mecanismo di formazione della 5-idrossimetil-2-furaldeide nella reazione di Maillard. Sistema modelo glucosio-glicina. Ind. Alim. 16, 151-154.

BENMERGUI, E.A., FERRO FONTAN, C. y CHIRIFE, J. (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, 625-637.

BERSET, C. y CANIAUX, P. (1983) Relationship between color evaluation

///

and chlorophyllian pigment content in dried parsley leaves. J. Food Sci. 48, 1854-1857, 1877.

BLEY, M.E., JOHNSON, M.E. y OLSON, N.F. (1985) Factors affecting nonenzymatic browning of process cheese. J. Dairy Sci. 69, 555-561.

BOOKWALTER, G.N. y KWOLEK, W.F. (1981) Predicting protein quality of corn-soy-milk blends after nonenzimatic browning. J. Food Sci. 46, 711-715.

BRAVERMAN, J.B.S. (1963) Introduction to the biochemistry of foods. Elsevier Publishing Co.

BUERA, M.P., LOZANO, R.D. y PETRIELLA, C. (1986) Definition of colour in the nonenzymatic browning process. DIE FARBE (en prensa).

BUERA, M.P., CHIRIFE, J., RESNIK, S.L. y LOZANO, R.D. (1986) Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity. 1. Kinetics of color changes due to carmelization of various single sugars. Enviado a publicación al J. Food Science.

BURTON, H. (1984) The bacteriological, chemical, biochemical and physical changes that ocour in milk at temperatures of 100-150°C. J. Dairy Research 51, 341-363.

///

BURTON, H.S. y Mc WEENY, D.J. (1963a) Non-enzymatic browning reactions: consideration of sugar stability. Nature 197, 266-268.

BURTON, H.S. y Mc WEENY, D.J. (1963b) Role of phosphatides in non-enzymatic browning. Nature 197, 1086-1087.

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. Food Sci. 28, 631-639.

CARDELLO, A.V., BALL, D.H., ALABRAN, D.M., MORRILL, A. y POWELL, C.M. (1984) The taste, odor and hedonic quality of polyglycerols. Chemical Senses 9, 285-301.

CERRUTTI, P., RESNIK, S.L., SELDES, A. y FERRO FONTAN, C. (1985) Kinetics of deteriorative reactions in model food systems of high water activity: glucose loss, 5-hydroxymethyl-furfural accumulation and fluorescence development due to nonenzymatic browning. J. Food Sci. 50, 627-656.

CIE (1976) Official recommendations on uniform color spaces, color difference equations and metric color terms. Suppl. N° 2 to CIE Publication N° 15, Colorimetry, Commission

///

Internationale de l'Eclairage, París.

CLARK, A.V. y TANNENBAUM, S.R. (1970) Isolation and characterization of pigments from protein-carbonyl browning systems. J. Agr. Food Chem. 18, 891-894.

CLARKE, M.A. (1982) Color and hydroxymethyl furfural in raw sugar. Proceedings of the Sugar Processing Research Conference, 119-133.

CLEGG, K.M. (1964) Non enzymic browning of lemon juice. J. Sci. Fd. Agric. 15, 878-885.

COLE, S.J. (1967) The Maillard reaction in food products. Carbon dioxide production. J. Food Sci. 32, 245-250.

CORNWELL, C.J. y WROLSTAD, R.E. (1981) Causes of browning in pear juice concentrate during storage. J. Food Sci. 46, 515-518.

COTTON, F.A. y WILKINSON, G. (1966) Advanced inorganic chemistry. Interscience. New York.

CHIRIFE, J. (1982) Principios de la deshidratación osmótica de frutas. Anales Asoc. Quím. Argentina 70, 913-932.

CHIRIFE, J. y FERRO FONTAN, C. (1980a) Prediction of water activity of aqueous solutions in connection with intermediate

///

moisture foods: 5. Experimental investigation of the a_w behavior of sodium lactate and some related compounds. J. Food Sci. 45, 802-804.

CHIRIFE, J. y FERRO FONTAN, C. (1980b) A study of the water activity lowering behavior of polyethylene glycols in the intermediate moisture range. J. Food Sci. 45, 1717-1719.

CHIRIFE, J., FERRO FONTAN, C. y BENMERGUI, E.A. (1980a) The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. IV. a_w prediction in aqueous non electrolyte solutions. J. Fd. Technol. 15, 59-70.

CHIRIFE, J., FERRO FONTAN, C. y SCORZA, O.C. (1980b) A study of the water activity lowering behavior of some amino acids J. Fd. Technol. 15, 383-387.

DOYON, L. y SMYRL, T.G. (1983) Interaction of thiamine with reducing sugars. Food Chem. 12, 127-133.

DRILLEAU, J.F. y PRIOULT, C. (1971) Gout de cuit et presence de 5-HMF dans les jus de pommes. Etude en solutions modeles. Ind. Alim. Agr. 699-704.

DURAN, L. (1971) Medida del color de los alimentos. I. Introducción.

///

Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment. 11, 168-171.

DWORSCHAK, E. (1980) Nonenzyme browning and its effect on protein nutrition. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition 13, 1-40.

EAGERMAN, B.A., CLYDESDALE, F.M. y FRANCIS, F.J. (1973a) Comparison of color scales for dark colored beverages. J. Food Sci. 38, 1051-1055.

EAGERMAN, B.A., CLYDESDALE, F.M. y FRANCIS, F.J. (1973b) Development of new transmission color scales for dark colored beverages. J. Food Sci. 38, 1056-1059.

EICHNER, K. y CINER-DORUK, M. (1981) Early indication of the Maillard reaction by analysis of reaction intermediates and volatile decomposition products. Prog. Fd. Nutr. Sci. 5, 115-135.

EICHNER, K. y KAREL, M. (1972) The influence of water content and water activity on the sugar-amino browning reaction in model systems under various conditions. J. Agr. Food Chem. 20, 218-223.

ELLIS, G.P. (1959) The Maillard reaction. Adv. Carbohyd. Chem. 14, 63-134.

///

ERICKSON, L.E. (1982) Recent developments in intermediate moisture foods. J. Food Prot. 45, 484-491.

ESKIN, N.A.M., HENDERSON, H.M. y TOWNSEND, R.J. (1971) Biochemistry of foods. Academic Press, New York.

FAVETTO, G., RESNIK, S.L. y CHIRIFE, J. (1984) Sensor contamination with organic volatiles during water activity measurements with an electric hygrometer. J. Food Sci. 49, 514-515, 546.

FAVETTO, G., RESNIK, S.L., CHIRIFE, J. y FERRO FONTAN, C. (1983) Statistical evaluation of water activity measurements obtained with the Vaisala Humicap humidity meter. J. Food Sci. 48, 534-538.

FEATHER, M.S. y NELSON, D. (1984) Maillard polymers derived from D-glucose, D-fructose, 5-(Hydroxymethyl)-2- furaldehyde, and glycine and methionine. J. Agr. Fd. Chem. 32, 1428-1432.

FERNANDEZ, B., MAURI, L.M., TOMIO, J.M. y RESNIK, S.L. (1986) Effect of adjusting the water activity to 0.95 with different solutes on the kinetics of thiamin loss in a model system. J. Food Science (en prensa).

FERRO FONTAN, C., BENMERGUI, E.A. y CHIRIFE, J. (1980) The prediction of water activity of aqueous solutions in connection with

///

intermediate moisture foods. III. a_w prediction in multicomponent strong electrolyte aqueous solutions. J. Fd. Technol. 15, 47-58.

FLINK, J.M. (1978) Intermediate moisture food products in the American marketplace. J. Food Process. Preserv. 2, 324-339.

FLINK, J.M. (1983) Nonenzymatic browning of feeze-dried sucrose. J. Food Sci. 48, 539-542.

FOX, M. y LONCIN, M. (1982) Investigations into the microbiological stability of water rich foods processed by a combination of methods. Lebensm.-Wiss.u.-Technol. 15, 321-325.

FOX, M., LONCIN, M., y WEISS, M. (1982) Investigations into the influence of water activity, pH and heat treatment on the breakdown of thiamine in foods. J. Food Quality 5, 161.

FOX, M., LONCIN, M., y WEISS, M. (1983) Investigations into the influence of water activity, pH and heat treatment on the breakdown of 5'-ribonucleotides in foods. J. Food Quality 6, 11-27.

FRANCIS, F.J. y CLYDESDALE, F.M. (1975) Food Colorimetry: Theory and applications. The Avi Publishing Company, Inc.

///

FRIEDMAN, L. y KLINE, O.L. (1950) The amino acid-sugar reaction. J. Biol. Chem. 184, 599-606.

GOLD, H.J. y WECKEL, K.G. (1959) Degradation of Chlorophyll to pheophytin during sterilization of canned green peas by heat. Food Technol. 13, 281-286.

GRIFFIN,W.C. y LYNCH, M.J. (1972) Polyhydric alcohols. En: Handbook of food additives, pp. 431-455 (T.E. Furia, ed.) CRC Press, Cleveland.

HAAS, V.A., STADMAN, E.R., STADTMAN, F.H. y MACKINNEY, G. (1948) Deterioration of dried fruits. I. The effect of sugars and furfurals. J. Am. Chem. Soc. 70, 3576-3579.

HAUGAARD, G., TUNERMAN, L. y SILVESTRI, H. (1951) A study on the reaction of aldoses and amino acids. J. Am. Chem. Soc. 73, 4594-4600.

HAYAKAWA, K.I., TIMBERS, G.E. y STIER, E.F. (1977) Influence of heat treatment on the quality of vegetables:organoleptic quality. J. Food Sci. 42, 1286-1289.

HODGE, J.E. (1953) Chemistry of browning reactions in model systems. J. Agr. Food Chem. 1, 928-943.

///

HODGE, J.E. y OSMAN, E.M. (1976) Carbohydrates. En: Principles of Food Science. Part I. Food Chemistry, pp. 41-138 (O.R. Fennema, ed.) Marcel Dekker Inc., New York.

HUNT, R.W.G. (1977) The specification of colour appearance. I. Concepts and terms. Colour Research and Application 2, 55-68.

HUNTER, R.S. (1967) Development of the citrus colorimeter. Food Technol. 21, 100-105.

HUNTER, R.S. y YEATMAN, J.N. (1961) Direct reading tomato colorimeter. J. Optical Soc. Am. 51, 552-554.

HURREL, R.F. y CARPENTER, K.J. (1977) Mechanisms of heat damage of proteins. 8. The role of sucrose in the susceptibility of protein foods to heat damage. Br. J.Nutr. 32, 589-604.

JOSLYN, M.A. y MARSH, G.L. (1935) Browning of orange juice. Ind. Eng. Chem. 27, 186-189.

KAPLOW, M. (1970) Commercial development of intermediate moisture foods. Food Technol. 24, 889-893.

KATO, H. y TSUCHIDA, H. (1981) Estimation of melanoidin structure by pyrolisis and oxidation. Prog. Fd. Nutr. Sci. 5,

///

147-156.

KATO, H., YAMAMOTO, N. y FUJIMAKI, M. (1969) Mechanisms of browning degradation of D-fructose in special comparison with D-glucose-glycine reaction. Agr. Biol. Chem. 33, 939-948.

KATO, Y., WATANABE, K. y SATO, Y. (1981) Effect of some metals on the Maillard reaction of ovalbumin. J. Agr. Food Chem. 29, 540-543.

KAWASHIMA, K., ITOH, H. y CHIBATA, I. (1980) Nonenzymatic browning reactions of dihydroxyacetone with amino acids or their esters. Agric. Biol. Chem. 44(7), 1595-1599.

KOPELMAN, I.J., MEYDAV, S. y WEINBERG, S. (1977) Storage studies of freeze dried lemon crystals. J. Fd. Technol. 12, 403-410.

KRONER, W. y KOTHE, H. (1939) Discoloration of dextrose solutions. Ind. Eng. Chem. 31, 248.

LABUZA, T.P. (1970) Properties of water as related to the keeping quality of foods. Proc. 3rd Intern. Congr. Food Sci. Technol. 618-635.

LABUZA, T.P. (1980) The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. Food Technol. 34(4), 36-41.

///

LABUZA, T.P. y RIBOH, D. (1982) Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in foods. Food Technol. 36(10), 66-74.

LABUZA, T.P. y SALTMARCH, M. (1981) The nonenzymatic browning reactions as affected by water in foods. En: Properties of water related to food quality and stability, pp. 605-650 (L.B. Rockland and G.F. Stewart, eds.) Academic Press, San Francisco.

LABUZA, T.P., BOHNSACK, K. y KIM, M.N. (1982) Kinetics of protein quality change in egg noodles stored under constant and fluctuating temperatures. Cereal Chem. 59, 142-148.

LABUZA, T.P., WARREN, R.M. y WARMBIER, H.C. (1977) En: Protein Cross-linking, pp.379-418 (M. Friedman, ed.) Plenum Publ. Corp., New York.

LAIDLER, K.J. (1965) Chemical kinetics. Mc Graw-Hill. New York.

LARA, R.C. de y GILLILAND, S.E. (1985) Growth inhibition of microorganisms in refrigerated milk by added Maillard reaction products. J. Food Prot. 48, 138-141.

LEA, C.H. (1958) Chemical changes in the preparation and storage of dehydrated foods. In: Fundamental aspects of the dehydration

///

of foodstuffs, pp. 178-196. Society of Chemical Industry, London.

LEDWARD, D.A. (1982) Intermediate moisture meats. En: Developments in Meat Science, p. 159 (R. Laurie, ed.) Applied Science Pub., Ltd., England.

LEE, C.M., SHERR, B. y KOH, Y.N. (1984) Evaluation of kinetics parameters for a glucose-lysine Maillard reaction. J. Agric. Food Chem. 32, 379-382.

LEISTNER, L., RODEL, W., y KRISPIEN, K. (1981) Microbiology of meat and meat products in high and intermediate moisture ranges. En: Water activity: Influences on food quality, p. 855-921 (L.B. Rockland and G.F. Stewart, eds) Academic Press, San Francisco.

LINGNERT, H. y ERIKSSON, C.E. (1981) Antioxidative effect of Maillard reaction products. Prog. Fd. Nutr. Sci. 5, 453-466.

LONCIN, M.,JACQMAIN, 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, 3208-3211.

LOZANO, R.D. (1978) El color y su medición. Editorial America Lee, Buenos Aires.

///

LOZANO, R.D. (1979) Diferencias de color. Investigación y Ciencia, N° 39, 8-14.

LUND, D.B. (1982) Quantifying reactions influencing quality of foods: texture, flavor and appearance. J. Food Process Preserv. 6, 133-153.

LUND, D.B. (1983) Considerations in modelling food processes. Food Technol. 37(1), 92-94.

MAIER, V.P. y SCHILLER, F.H. (1959) Studies on domestic dates. I. Methods for evaluating darkening. Food Technol. 14, 139-142.

MARSH, A.C. (1983) Processes and formulations that affect the sodium content of foods. Food Technol. 37(7), 45-49.

MAURON, J. (1981) The Maillard reaction in food; A critical review from the nutritional standpoint. Prog. Fd. Nutr. Sci. 5, 5-35.

MESCHTER, E.E. (1953) Fruit color loss. Effects of carbohydrates and other factors on strawberry products. J. Agr. Food Chem. 1, 574-579.

MEYDAV, S., SAGUY, J. y KOPELMAN, I.J. (1977) Browning determination in citrus products. J. Agr. Food Chem. 25, 602-604.

///

MIRACCO, J.L., ALZAMORA, S.M., CHIRIFE, J. y FERRO FONTAN, C. (1981) On the water activity of lactose solutions. J. Food Sci. 46, 1612-1613.

MOORE, E.L., WIEDERHOLD, E. y ATKINS, C.D. (1944) Changes ocurring in oranges and grapefruit during commercial processing, etc. Fruit Products J. 23, 270-275.

MOTAI, H. (1973) Color tone of various melanoidins produced from model systems. Agr. Biol. Chem. 37, 1679-1685.

NAGY, S. y RANDALL, V. (1973) Use of furfural content as an index of storage temperature abuse in commercially processed orange juice. J. Agr. Food Chem. 21, 272-275.

NICHOLS, P.F., MRAK, E.M. y BETHEL, R. (1938) Effect of drying and storage conditions on color and SO_2 retention of dried apricots. Food Research 4, 67-74.

NORRISH, R.S. (1966) An equation for the activity coefficients and equilibrium relative humidities of water and confectionary syrups. J. Fd. Technol. 1, 25-39.

NYHAMMAR, T. y PERNEMALM, P.A. (1985) Reaction of N^{α}-acetyl-DL-tryptophan amide with D-xylose on D-glucose in acidic solution. Food Chem. 17, 289-296.

///

OHLSSON, T. (1980) Temperature dependence of sensory quality changes during thermal processing. J. Food Sci. 45, 836-847.

OLSSON, K., PERNEMALM, P.A. y THEANDER, O. (1981) Reaction products and mechanism in some simple model systems. Prog. Fd. Nutr. Sci. 8, 47-55.

PARK, C.K. y KIM, D.H. (1983) Relationship between fluorescence and antioxidant activity of ethanol extracts of a Maillard browning mixture. JAOCS 60, 22-26.

PATTON, S. (1955) Browning and associated changes in milk and its products. A review. J. Dairy Sci. 38, 457.

PETRIELLA, C. (1983) Cinética de formación de color producido por reacciones de pardeamiento no enzimático en sistemas modelo acuosos a alta actividad de agua. Tesis Magister Scientiae. Universidad Nacional de Mar del Plata.

PETRIELLA, C., RESNIK, S.L., 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, 622-626.

PITZER, K.S. (1973) Thermodynamics of electrolytes. I. Theoretical basis and general equations. J. Phys. Chem. 77, 268-277.

///

PITZER, K.S. y MAYORGA, G. (1977) Thermodynamics of electrolytes. II. Activity and osmotic coefficients for strong electrolytes with one or both ions univalent. J. Phys. Chem. 77, 2300-2308.

POKORNY, J. (1980) Effect of browning reactions on the formation of flavour substances. Die Nahrung 24, 115-127.

POWRIE, W.D., WU, C.H., ROSIN, M.P. y STICH, H.F. (1981) Clastogenic and mutagenic activities of Maillard reaction model systems. J. Food Sci. 46, 1433-1438.

RAMAKRISHNAN, T.V. y FRANCIS, F.J. (1973) Color and carotenoid changes in heated paprika. J. Food Sci. 38, 25-28.

RESNIK, S. y CHIRIFE, J. (1979) Effect of moisture content and temperature on some aspects of nonenzymatic browning in dehydrated apple. J. Food Sci. 44, 601-605.

RESNIK, S.L., PELTT, E.A. y LONCIN, M. (1981) Untersuchungen zur nicht-enzymatischen Bräunungsreaktion in flüssigen Modellsystemen, ZFL 32, 213-216.

REYES, F.G.R., POOCHARDEN, B. y WROLSTAD, R.E. (1982) Maillard reaction of sugar-glycine model systems: changes in sugar concentration, color and appearance. J. Food Sci. 47,

///

1376-1377.

REYNOLDS, T.M. (1969) Nonenzymatic browning sugar-amine interactions. En: Symposium on carbohydrates and their roles, pp. 219-252 (H.W. Schultz, ed.) AVI, Westport.

RICE, R.G., KERTESZ, Z.I. y STOTZ, E.H. (1947) Color formation in furfural systems. J. Am. Chem. Soc. 69, 1798-1800.

ROBERTSON, G.L. y REEVES, M.J. (1981) Relationship between colour and brown pigment concentration in orange juices subjected to storage temperature abuse. J. Fd. Technol. 18, 535-541.

ROSS, K.D. (1975) Estimation of water activity in intermediate moisture foods. Food Technol. 29(3), 26-34.

SAGUY, I., KOPELMAN, I.J. y MIZRAHI, S. (1978) Extent of nonenzymatic browning in grapefruit juice during thermal and concentration processes: kinetics and prediction. J. Food Process Preserv. 2, 175-184.

SANCHEZ-PENICHET, L. y PINO, J. (1981) Estudio de los cambios en el contenido de furfural durante el almacenaje del jugo concentrado en naranja. Revista de Ciencias Químicas 12, 151-156.

SAUNDERS, J. y JERVIS, F. (1966) The role of buffer salts in non-

///

enzymic browning. J. Sci. Fd. Agric. 17, 245-249.

SEBRANEK, J.G., OLSON, D.G., WHITING, R.C., BENEDICT, R.C., RUST, R.E., KRAFT, A.A. y WOYCHIK, J.H. (1983) Physiological role of dietary sodium in human health and implication of sodium reduction in muscle foods. Food Technol. 37(7), 51-59.

SHALLENBERGER, R.S. y MATTICK, L.R. (1983) Relative stability of glucose and fructose at different acid and pH. Food Chem. 12, 159-165.

SIMON, M., WAGNER, J.R., SILVEIRA, V.G. y HENDEL. C.E. (1955) Calcium chloride as a non-enzymic retardant for dehydrated white potatoes. Food Technol. 9, 271-275.

SINGH, R.K., LUND, D.B. y BUELOW, F.H. (1983) Storage stability of intermediate moisture apples: kinetics of quality change. J. Food Sci. 48, 939-944.

SINSKEY, A.J. (1976) New developments in intermediate moisture foods: humectants. En: Intermediate moisture foods, pp. 260-280 (R. Davies, G.G. Birch and K.J. Parker, eds.). Applied Science Publishers, London.

SKREDE, G. (1985) Color quality of blackcurrant during storage evaluated by Hunter L', a', b' values. J. Food Sci. 50,

///

514-517.

SLOAN, A.E. y LABUZA, T.P. (1975) Investigating alternative humectants for use in foods. Food Prod. Dev. 9, 75-80.

SONG, P.S., CHICHESTER, C.O. y STADTMAN, F.H. (1966) Kinetic behavior and mechanism of inhibition in the Maillard reaction. I. Kinetic behavior of the reaction between D-glucose and glycine. J. Food Sci. 31, 906-913.

SPARK, A.A. (1969) Role of aminoacids in non-enzymic browning. J. Sci. Fd. Agric. 20, 308-316.

STADTMAN, E.R. (1948) Non enzymatic browning in fruit products. Adv. Food Res. 1, 325-372.

SULLIVAN, J.F., (1981) Control of non-enzymatic browning in the dehydration of fruits and vegetables. Prog. Fd. Nutr. Sci. 5, 377-393.

SUYAMA, K. y ADACHI, S. (1979) Browning reaction between phospholipids and acetaldehyde. Agric. Biol. Chem. 43, 1981-1982.

TORIBIO, J.L. y LOZANO, J.E. (1984) Nonenzymatic browning in apple juice concentrate during storage. J. Food Sci. 49, 889-892.

TORIBIO, J.L., NUNES, R.V. y LOZANO, J.E. (1984) Influence of water

///

activity on the nonenzymatic browning of apple juice concentrate during storage. J. Food Sci. 49, 1630-1631.

TROLLER, J. (1983) Methods to measure water activity. J. Food Prot. 46, 129-134.

TROLLER, J.A. y CHRISTIAN, J.H.B. (1978) Water activity and food. Academic Press, New York.

VIGO, M.S., CHIRIFE, J., SCORZA, O.C., CATTANEO, P., BERTONI, M.H. y SARRAILH, P. (1979) Estudios sobre alimentos tradicionales de humedad intermedia elaborados en la Argentina. Determinación de la actividad acuosa, pH, humedad y sólidos solubles. Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment. 21, 91-99.

VOIROL, F. (1985) Properties of xylitol. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 18, XII-XIII.

WALETZKO, P.T. y LABUZA, T.P. (1976) Accelerated shelf-life testing of an intermediate moisture food in air and in an oxygen-free atmosphere. J. Food Sci. 41, 1338-1344.

WARMBIER, H.C., SCHNICKLES, R.A. y LABUZA, T.P. (1976) Effect of glycerol on nonenzymatic browning in a solid intermediate moisture model food system. J. Food Sci. 41, 528-531.

///

WHITMORE, D.A. (1985) Developments in the properties and applications of Lycasin and sorbitol. Food Chem. 16, 209-229.

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, 3471-3473.

WOLFROM, M.L., SCHUETZ, R.D. y CAVALIERI, L.F. (1948) Chemical interactions of amino compounds and sugars. III. The conversion of D-glucose to 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde. J. Am. Chem. Soc. 70, 514-517.

VII. TABLA DE DATOS

SOLUCIONES GLUCOSA-LISINA. GLUCOSA = VARIABLE ; LISINA = 0.0684 M

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	.0104	0	0
1	.0442	.0338	8.55
2	.1009	.0905	14
3	.1736	.1632	19.58
4	.227	.2166	24.25
5	.3975	.3871	34.67
6	.611	.6006	46.5

GLUCOSA 0.0684 M

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	.0117	0	0
1	.0671	.0554	8.55
2	.1287	.117	12.5
3	.2031	.1914	16.5
4	.2897	.278	20.5
5	.3869	.3752	24.65
6	.6334	.6217	34.67
7	.8	.7883	40.58
8	.9347	.923	46.5

GLUCOSA 0.137 M

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	.0181	.	0
1	.1021	.084	8.55
2	.1864	.1683	12.5
3	.2974	.2793	16.5
4	.4202	.4021	20.5
5	.5603	.5422	24.25
6	.9558	.9377	34.67
7	1.1393	1.1212	40.58
8	1.3108	1.2927	46.5

GLUCOSA 0.274 M

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	.0107	0	0
1	.0794	.0687	8.55
2	.1493	.1386	12.5
3	.2491	.2384	16.5
4	.3726	.3619	20.5
5	.4889	.4782	24.25
6	.794	.7833	34.67
7	.9737	.963	40.58
8	1.1234	1.1127	46.5

GLUCOSA 0.205 M

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	.0122	0	0
1	.1017	.0895	8.55
2	.2021	.1899	12.5
3	.3111	.2989	16.5
4	.4547	.4425	20.5
5	.6049	.5927	24.25
6	.9961	.9839	34.67
7	1.1941	1.1819	40.53
8	1.387	1.3748	46.5

GLUCOSA 0.342 M

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	.0123	0	0
1	.1135	.1012	8.55
2	.2089	.1966	12.5
3	.3417	.3294	16.5
4	.4928	.4805	20.5
5	.6494	.6371	24.25
6	1.0732	1.0609	34.67
7	1.2797	1.2674	40.58
8	1.4575	1.4452	46.5

GLUCOSA 0.410 M

SOLUCIONES FRUCTOSA-LISINA. FRUCTOSA = VARIABLE ; LISINA = 0.0684 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	9.8E-03	0	0
1	.0444	.0346	7.5
2	.095	.0852	14.75
3	.139	.1292	20.5
4	.1906	.1808	27
5	.2432	.2334	33.25
6	.313	.3032	41.75
7	.3706	.3608	49.5
8	.4214	.4116	54.5

FRUCTOSA 0.0684 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0106	0	0
1	.0645	.0539	7.5
2	.1435	.1329	14.75
3	.2828	.2722	27
4	.3568	.3462	33.25
5	.4531	.4425	41.75
6	.5109	.5003	49.5
7	.5719	.5613	54.5

FRUCTOSA 0.137 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0106	0	0
1	.0819	.0713	7.5
2	.1697	.1591	14.75
3	.2584	.2478	20.5
4	.3451	.3345	27
5	.4164	.4058	33.25
6	.5026	.492	41.75
7	.6059	.5953	49.5
8	.683	.6724	54.5

FRUCTOSA 0.205 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0125	0	0
1	.0962	.0837	7.5
2	.1924	.1799	14.75
3	.2728	.2603	20.5
4	.369	.3565	27
5	.4689	.4564	33.25
6	.5816	.5691	41.75
7	.682	.6695	49.5
8	.7365	.724	54.5

FRUCTOSA 0.274 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0114	0	0
1	.1168	.1054	7.5
2	.2352	.2238	14.75
3	.3264	.315	20.5
4	.4446	.4332	27
5	.5746	.5632	33.25
6	.6752	.6638	41.75
7	.7798	.7684	49.5
8	.8539	.8425	54.5

FRUCTOSA 0.410 M

SOLUCIONES GLUCOSA-LISINA. GLUCOSA = 0.274 M ; LISINA = VARIABLE

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	8.8E-03	0	0
1	.0562	.0474	8.55
2	.1249	.1161	14
3	.2121	.2033	19.58
4	.293	.2842	24.25
5	.5103	.5015	34.67
6	.6271	.6183	40.58
7	.7714	.7626	46.5

LISINA 0.0343 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	9.8E-03	0	0
1	.069	.0592	8.55
2	.1292	.1194	12.5
3	.2097	.1999	16.5
4	.3042	.2944	20.5
5	.4118	.402	24.25
6	.7093	.6995	34.67
7	.8788	.869	40.58
8	1.0265	1.0167	46.5

LISINA 0.0514 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0168	0	0
1	.1181	.1013	8.55
2	.2064	.1896	12.5
3	.3456	.3288	16.5
4	.5023	.4855	20.5
5	.6605	.6437	24.25
6	1.081	1.0642	34.67
7	1.2866	1.2698	40.58
8	1.4597	1.4429	46.5

LISINA 0.1030 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.026	0	0
1	.1662	.1402	8.55
2	.303	.277	12.5
3	.5014	.4754	16.5
4	.7215	.6955	20.5
5	.9382	.9122	24.25
6	1.437	1.411	34.67
7	1.6348	1.6088	40.58
8	1.8492	1.8232	46.5

LISINA 0.154 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0382	0	0
1	.2035	.1653	8.55
2	.3626	.3244	12.5
3	.5961	.5579	16.5
4	.884	.8458	20.5
5	1.107	1.0688	24.25
6	1.6347	1.5965	34.67
7	1.9049	1.8667	40.58
8	2.1596	2.1214	46.5

LISINA 0.205 M

SOLUCIONES FRUCTOSA-LISINA. FRUCTOSA = 0.274 M ; LISINA = VARIABLE

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.6E-03	0	0
1	.0703	.0647	7.5
2	.1568	.1512	14.75
3	.2411	.2355	20.5
4	.2995	.2939	27
5	.4166	.411	33.25
6	.4847	.4791	41.75
7	.5929	.5873	49.5
8	.6347	.6291	54.5

LISINA 0.0343 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	9.7E-03	0	0
1	.0748	.0651	7.5
2	.1647	.155	14.75
3	.2532	.2435	20.5
4	.3469	.3372	27
5	.4505	.4408	33.25
6	.5325	.5228	41.75
7	.6289	.6192	49.5
8	.688	.6783	54.5

LISINA 0.0514 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0177	0	0
1	.1109	.0932	7.5
2	.2082	.1905	14.75
3	.3704	.3527	27
4	.4959	.4782	33.25
5	.6387	.621	41.75
6	.6952	.6775	49.5
7	.815	.7973	54.5

LISINA 0.1030 M

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0229	0	0
1	.1263	.1034	7.5
2	.2472	.2243	14.75
3	.3144	.2915	20.5
4	.4235	.4006	27
5	.5633	.5404	33.25
6	.6417	.6188	41.75
7	.7794	.7565	49.5
8	.8802	.8573	54.5

LISINA 0.154 M

SOLUCIONES GLUCOSA (0.274 M) - LISINA (0.00684 M)

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	6.6E-03	0	0
1	.0215	.0149	4.5
2	.0637	.0571	9.5
3	.1968	.1902	14.75
4	.2989	.2923	19.5
5	.4302	.4236	24
6	.6069	.6003	29.5
7	.766	.7594	34.25

GLICEROL pH=6 65C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	6.4E-03	0	0
1	.0207	.0143	4.5
2	.0631	.0567	9.5
3	.1896	.1832	14.75
4	.2973	.2909	19.5
5	.447	.4406	24
6	.6352	.6288	29.5
7	.8099	.8035	34.25

GLICEROL pH=6 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	7.8E-03	0	0
1	.0214	.0136	4.5
2	.0692	.0614	9.5
3	.1912	.1834	14.75
4	.3259	.3181	19.5
5	.492	.4842	24
6	.7138	.706	29.5
7	.9083	.9005	34.25

GLICEROL pH=6 65C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	7.1E-03	0	0
1	.0242	.0171	9.02
2	.2182	.2111	28
3	.2799	.2728	32.35
4	.585	.5779	46
5	.7701	.763	54.58

GLICEROL pH=6 60C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	6E-03	0	0
1	.0216	.0156	9.02
2	.1249	.1189	19.3
3	.2542	.2482	28
4	.6558	.6498	46
5	.8667	.8607	54.58

GLICEROL pH=6 60C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	7.2E-03	0	0
1	.033	.0258	9.02
2	.1912	.184	19.3
3	.3464	.3392	28
4	.7892	.782	46
5	.986	.9788	54.58

GLICEROL pH=6 60C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	6.6E-03	0	0
1	.0194	.0128	19
2	.0736	.067	33
3	.1625	.1559	51
4	.292	.2854	68
5	.4223	.4157	83
6	.6028	.5962	102
7	.6796	.673	116

GLICEROL pH=6 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	6.4E-03	0	0
1	.026	.0196	19
2	.0754	.069	33
3	.1687	.1623	51
4	.3075	.3011	68
5	.4565	.4501	83
6	.6378	.6314	102
7	.7415	.7351	116

GLICEROL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-So)uv	Horas
0	7.8E-03	0	0
1	.031	.0232	19
2	.0794	.0716	33
3	.1867	.1789	51
4	.3397	.3319	68
5	.518	.5102	83
6	.7049	.6971	102
7	.8334	.8256	116

GLICEROL pH=6 55C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Solυv	Horas
0	3.8E-03	0	0
1	.0362	.0324	92.5
2	.1151	.1113	187
3	.2076	.2038	264
4	.3323	.3285	356.62
5	.4895	.4857	456.2
6	.6341	.6303	528.67

GLICEROL pH=6 45C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Solυv	Horas
0	6E-03	0	0
1	.0319	.0259	92.5
2	.1052	.0992	187
3	.1968	.1908	264
4	.3386	.3326	356.62
5	.5086	.5026	456.2
6	.6482	.6422	528.67

GLICEROL pH=6 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Solυv	Horas
0	7.2E-03	0	0
1	.0478	.0406	92.5
2	.1443	.1371	187
3	.2553	.2481	264
4	.4188	.4116	356.62
5	.6378	.6306	456.2
6	.7887	.7815	528.67

GLICEROL pH=6 45C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Solυv	Horas
0	6E-03	0	0
1	.0392	.0332	18
2	.1577	.1517	44
3	.3607	.3547	67
4	.582	.576	91
5	.8054	.7994	115.75
6	1.1044	1.0984	162.37

GLICEROL pH=5 65C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Solυv	Horas
0	.0271	0	0
1	.0366	9.5E-03	18
2	.1293	.1022	44
3	.3656	.3385	67
4	.6156	.5885	91
5	.8665	.8394	115.75
6	1.1959	1.1688	162.37

GLICEROL pH=5 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Solυv	Horas
0	8.8E-03	0	0
1	.0372	.0284	18
2	.2012	.1924	44
3	.3742	.3654	67
4	.6556	.6468	91
5	.9362	.9274	115.75
6	1.269	1.2602	162.37

GLICEROL pH=5 65C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Solυv	Horas
0	6E-03	0	0
1	.0464	.0404	39.5
2	.1181	.1121	71.5
3	.2666	.2606	111.83
4	.5225	.5165	160
5	.6319	.6259	184
6	.7672	.7612	208.5

GLICEROL pH=5 60C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Solυv	Horas
0	.0271	0	0
1	.0479	.0208	39.5
2	.125	.0979	71.5
3	.3002	.2731	111.83
4	.6113	.5842	160
5	.7579	.7308	184
6	.8996	.8725	208.5

GLICEROL pH=5 60C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Solυv	Horas
0	8.8E-03	0	0
1	.0534	.0446	39.5
2	.1534	.1446	71.5
3	.373	.3642	111.83
4	.7103	.7015	160
5	.8831	.8743	184
6	1.039	1.0302	208.5

GLICEROL pH=5 60C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6E-03	0	0
1	.051	.045	90.5
2	.1885	.1825	185
3	.4635	.4575	311
4	.6868	.6808	428
5	.8062	.8002	503
6	.9197	.9137	593.5

GLICEROL pH=5 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0271	0	0
1	.0525	.0254	90.5
2	.1976	.1705	185
3	.4789	.4518	311
4	.7297	.7026	428
5	.8587	.8316	503
6	.9826	.9555	593.5

GLICEROL pH=5 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	8.8E-03	0	0
1	.0582	.0494	90.5
2	.2122	.2034	185
3	.5117	.5029	311
4	.7969	.7881	428
5	.9454	.9366	503
6	1.0651	1.0563	593.5

GLICEROL pH=5 55C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6E-03	0	0
1	.0384	.0324	208
2	.1755	.1695	503.5
3	.3152	.3092	717
4	.4029	.3969	855.5
5	.5535	.5475	1054.5
6	.6851	.6791	1241

GLICEROL pH=5 45C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0271	0	0
1	.0388	.0117	208
2	.1905	.1634	503.5
3	.3185	.2914	717
4	.4144	.3873	855.5
5	.5625	.5354	1054.5
6	.7061	.679	1241

GLICEROL pH=5 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	8.8E-03	0	0
1	.0413	.0325	208
2	.1741	.1653	503.5
3	.3155	.3067	717
4	.412	.4032	855.5
5	.5833	.5745	1054.5
6	.731	.7222	1241

GLICEROL pH=5 45C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0738	.0665	67
2	.1844	.1771	115.75
3	.35	.3427	162.37
4	.4815	.4742	193.5
5	.6396	.6323	235
6	.7554	.7481	260.5

GLICEROL pH=4 65C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.9E-03	0	0
1	.0795	.0736	67
2	.216	.2101	115.75
3	.4029	.397	162.37
4	.5441	.5382	193.5
5	.7366	.7307	235
6	.8445	.8386	260.5

GLICEROL pH=4 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.4E-03	0	0
1	.0837	.0763	67
2	.2413	.2339	115.75
3	.448	.4406	162.37
4	.615	.6076	193.5
5	.8076	.8002	235
6	.9386	.9312	260.5

GLICEROL pH=4 65C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0345	.0272	78.5
2	.0901	.0828	149.5
3	.1979	.1906	222.5
4	.4097	.4024	315.5
5	.6218	.6145	407
6	.8014	.7941	503.5

GLICEROL pH=4 60C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0394	.0321	78.5
2	.1234	.1161	149.5
3	.2767	.2694	222.5
4	.5693	.562	315.5
5	.781	.7737	407
6	.9893	.982	503.5

GLICEROL pH=4 60C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.4E-03	0	0
1	.0459	.0385	78.5
2	.143	.1356	149.5
3	.3418	.3344	222.5
4	.6311	.6237	315.5
5	.8563	.8489	407
6	1.0642	1.0568	503.5

GLICEROL pH=4 60C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0416	.0343	192.5
2	.0972	.0899	316.5
3	.1572	.1499	407
4	.2269	.2196	503.5
5	.3039	.2966	582
6	.3942	.3869	676.5

GLICEROL pH=4 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0518	.0445	192.5
2	.1316	.1243	316.5
3	.2143	.207	407
4	.3109	.3036	503.5
5	.3948	.3875	582
6	.4914	.4841	676.5

GLICEROL pH=4 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.4E-03	0	0
1	.0627	.0553	192.5
2	.1591	.1517	316.5
3	.2459	.2385	407
4	.3597	.3523	503.5
5	.5609	.5535	676.5

GLICEROL pH=4 55C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0591	.0518	744.5
2	.1169	.1096	1080
3	.2305	.2232	1510.25
4	.372	.3647	1875
5	.4823	.475	2159
6	.5928	.5855	2395.75

GLICEROL pH=4 45C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0828	.0755	744.5
2	.1611	.1538	1080
3	.3027	.2954	1510.25
4	.4521	.4448	1875
5	.5871	.5798	2159
6	.6884	.6811	2395.75

GLICEROL pH=4 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.4E-03	0	0
1	.0986	.0912	744.5
2	.1917	.1843	1080
3	.3489	.3415	1510.25
4	.5046	.4972	1875
5	.6285	.6211	2159
6	.7409	.7335	2395.75

GLICEROL pH=4 45C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.2E-03	0	0
1	.0394	.0322	7.5
2	.1866	.1794	16.25
3	.2916	.2844	23.75
4	.3864	.3792	31.5
5	.7647	.7575	48
6	.9897	.9825	54.5

PROPILENGLICOL pH=6 65C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.2E-03	0	0
1	.0359	.0287	7.5
2	.1356	.1284	16.25
3	.2843	.2771	23.75
4	.4221	.4149	31.5
5	.6928	.6856	40.5
6	.8378	.8306	48
7	1.0458	1.0386	54.5

PROPILENGLICOL pH=6 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.6E-03	0	0
1	.0317	.0271	7.5
2	.1855	.1809	16.25
3	.2716	.267	23.75
4	.4393	.4347	31.5
5	.7519	.7473	40.5
6	.9158	.9112	48

PROPILENGLICOL pH=6 65C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.8E-03	0	0
1	.0784	.0716	15
2	.2196	.2128	25
3	.4361	.4293	39.55
4	.6628	.656	51
5	.8804	.8736	63.63
6	1.0278	1.021	73.5

PROPILENGLICOL pH=6 60C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.7E-03	0	0
1	.0781	.0734	15
2	.2467	.242	25
3	.5183	.5136	39.55
4	.9798	.9751	63.63
5	1.1946	1.1899	73.5

PROPILENGLICOL pH=6 60C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.7E-03	0	0
1	.0691	.0614	15
2	.2657	.258	25
3	.5185	.5108	39.55
4	1.0219	1.0142	63.63
5	1.2782	1.2705	73.5

PROPILENGLICOL pH=6 60C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.2E-03	0	0
1	.0408	.0336	26.5
2	.1252	.118	50
3	.2409	.2337	74.5
4	.4049	.3977	99
5	.5708	.5636	123.5
6	.7474	.7402	147
7	.8989	.8917	171.5

PROPILENGLICOL pH=6 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.2E-03	0	0
1	.0513	.0441	26.5
2	.1453	.1381	50
3	.2997	.292	74.5
4	.4578	.4506	99
5	.6712	.664	123.5
6	.8511	.8439	147
7	1.0135	1.0063	171.5

PROPILENGLICOL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.6E-03	0	0
1	.044	.0394	26.5
2	.1629	.1583	50
3	.336	.3314	74.5
4	.5484	.5438	99
5	.7778	.7732	123.5
6	.9611	.9565	147
7	1.1155	1.1109	171.5

PROPILENGLICOL pH=6 55C Aw=0.9

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.8E-03	0	0
1	.0432	.0364	92.5
2	.1169	.1101	187
3	.193	.1862	264
4	.2935	.2867	356.62
5	.4458	.439	456.2
6	.5915	.5847	528.67

PROPILENGLICOL pH=6 45C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.7E-03	0	0
1	.0388	.0341	92.5
2	.1046	.0999	187
3	.2039	.1992	264
4	.327	.3223	356.62
5	.5142	.5095	456.2
6	.6677	.663	528.67

PROPILENGLICOL pH=6 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.7E-03	0	0
1	.0356	.0279	92.5
2	.1035	.0958	187
3	.1972	.1895	264
4	.3363	.3286	356.62
5	.5214	.5137	456.2
6	.6944	.6867	528.67

PROPILENGLICOL pH=6 45C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.9E-03	0	0
1	.0287	.0218	65
2	.0568	.0499	113.5
3	.987	.9801	160
4	.1774	.1705	235
5	.2768	.2699	306
6	.4206	.4137	401
7	.5672	.5603	497
8	.7303	.7234	618.25

PROPILENGLICOL pH=5 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.2E-03	0	0
1	9.4E-03	3.2E-03	69.5
2	.0155	9.3E-03	136.5
3	.0305	.0243	235
4	.0632	.057	401
5	.1317	.1255	618.25
6	.2572	.251	954
7	.4145	.4083	1307
8	.5833	.5771	1664.5

PROPILENGLICOL pH=4 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0125	0	0
1	.0386	.0261	4.5
2	.083	.0705	9.5
3	.1901	.1776	14.75
4	.294	.2815	19.5
5	.4309	.4184	24
6	.6244	.6119	29.5
7	.8358	.8233	34.25

SORBITOL pH=6 65C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0229	0	0
1	.0712	.0483	4.5
2	.1292	.1063	9.5
3	.2612	.2383	14.75
4	.381	.3581	19.5
5	.5236	.5007	24
6	.7315	.7086	29.5
7	.9472	.9243	34.25

SORBITOL pH=6 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0243	0	0
1	.0738	.0495	4.5
2	.1318	.1075	9.5
3	.2589	.2346	14.75
4	.3824	.3581	19.5
5	.5317	.5074	24
6	.7426	.7183	29.5
7	.9235	.8992	34.25

SORBITOL pH=6 65C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0125	0	0
1	.025	.0125	19
2	.1252	.1127	33
3	.2251	.2126	51
4	.3574	.3449	68
5	.4595	.447	83
6	.6694	.6569	102
7	.7819	.7694	116

SORBITOL pH=6 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0229	0	0
1	.0984	.0755	19
2	.1809	.158	33
3	.3117	.2888	51
4	.4766	.4537	68
5	.5975	.5746	83
6	.8101	.7872	102
7	.9516	.9287	116

SORBITOL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0243	0	0
1	.109	.0847	19
2	.2022	.1779	33
3	.3526	.3283	51
4	.546	.5217	68
5	.7258	.7015	83
6	.9166	.8923	102
7	1.0169	.9926	116

SORBITOL pH=6 55C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0215	0	0
1	.0369	.0154	67
2	.0589	.0374	119.5
3	.1008	.0793	188
4	.1473	.1258	240
5	.2179	.1964	305.5
6	.2952	.2737	360.5
7	.3648	.3433	426

SORBITOL pH=6 45C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0229	0	0
1	.0783	.0554	67
2	.1065	.0836	119.5
3	.1761	.1532	188
4	.2458	.2229	240
5	.3407	.3178	305.5
6	.4336	.4107	360.5
7	.5433	.5204	426.5

SORBITOL pH=6 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0243	0	0
1	.0818	.0575	67
2	.2119	.1876	188
3	.2822	.2579	240
4	.3792	.3549	305.5
5	.4921	.4678	360.5
6	.6498	.6255	426

SORBITOL pH=6 45C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0168	0	0
1	.061	.0442	45
2	.1487	.1319	114
3	.2369	.2201	160
4	.3338	.317	206.5
5	.4999	.4831	279
6	.628	.6112	327.5
7	.708	.6912	374
8	.8709	.8541	449

SORBITOL pH=5 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.0157	0	0
1	.0532	.0375	114
2	.0801	.0644	184.5
3	.1188	.1031	279
4	.2006	.1849	449
5	.2347	.219	520
6	.2868	.2711	615
7	.3898	.3741	782.5

SORBITOL pH=4 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.1E-03	0	0
1	.0194	.0133	20.5
2	.0755	.0694	44
3	.2115	.2054	71
4	.3603	.3542	92
5	.5544	.5483	117
6	.7432	.7371	143.5

1;3 BUTILENGLICOL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	.021	0	0
1	.0514	.0304	20.5
2	.1386	.1176	44
3	.2778	.2568	71
4	.4099	.3889	92
5	.6115	.5905	117
6	.7972	.7762	143.5

PEG 200 pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.9E-03	0	0
1	.0234	.0155	20.5
2	.1145	.1066	44
3	.3149	.307	71
4	.4957	.4878	92
5	.726	.7181	117
6	.959	.9511	143.5

PEG 400 pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5E-03	0	0
1	.0407	.0357	7.5
2	.1736	.1686	16.25
3	.2725	.2675	23.75
4	.4553	.4503	31.5
5	.7268	.7218	40.5
6	.9138	.9088	48
7	1.0365	1.0315	54.5

KCL pH=6 65C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	3.8E-03	0	0
1	.0274	.0236	7.5
2	.1579	.1541	16.25
3	.2233	.2195	23.75
4	.7027	.6989	48
5	.9004	.8966	54.5

KCL pH=6 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.6E-03	0	0
1	.0285	.0239	7.5
2	.113	.1084	16.25
3	.1689	.1643	23.75
4	.309	.3044	31.5
5	.5876	.583	40.5
6	.774	.7694	48
7	.8236	.819	54.5

KCL pH=6 65C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5E-03	0	0
1	.1262	.1212	19.5
2	.4443	.4393	40.05
3	.5795	.5745	47
4	1.0623	1.0573	73.25
5	1.2761	1.2711	91.5

KCL pH=6 60C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	3.8E-03	0	0
1	.0878	.084	19.5
2	.3337	.3299	40.05
3	.4896	.4858	47
4	.9206	.9168	73.25
5	1.0728	1.069	91.5

KCL pH=6 60C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.6E-03	0	0
1	.0978	.0932	19.5
2	.3106	.306	40.05
3	.4172	.4126	47
4	.8157	.8111	73.25
5	.9837	.9791	91.5

KCL pH=6 60C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5E-03	0	0
1	.0313	.0263	26.5
2	.09	.085	50
3	.1976	.1926	74.5
4	.3743	.3693	99
5	.6283	.6233	123.5
6	.7484	.7434	147
7	.8826	.8776	171.5

KCL pH=6 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	3.8E-03	0	0
1	.0295	.0257	26.5
2	.0786	.0748	50
3	.1384	.1346	74.5
4	.3387	.3349	99
5	.4216	.4178	123.5
6	.5858	.582	147
7	.6894	.6856	171.5

KCL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.6E-03	0	0
1	.0178	.0132	26.5
2	.0505	.0459	50
3	.1023	.0977	74.5
4	.2518	.2472	99
5	.4008	.3962	123.5
6	.5773	.5727	147
7	.7401	.7355	171.5

KCL pH=6 55C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7E-03	0	0
1	.0534	.0464	217
2	.1699	.1629	404.5
3	.3551	.3481	640
4	.5298	.5228	883

KCL pH=6 45C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	3.8E-03	0	0
1	.0218	.018	92.5
2	.0726	.0688	262
3	.141	.1372	456.2
4	.3001	.2963	697.5
5	.4377	.4339	1005.5
6	.6016	.5978	1266

KCL pH=6 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.6E-03	0	0
1	.0166	.012	92.5
2	.055	.0504	262
3	.1156	.111	456.2
4	.1923	.1877	697.5
5	.3963	.3917	1005.5

KCL pH=6 45C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0789	.0716	44
2	.3846	.3773	91
3	.874	.8667	162.37
4	1.0433	1.036	192.5
5	1.2872	1.2799	235

KCL pH=5 65C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.4E-03	0	0
1	.0559	.0495	44
2	.2044	.198	91
3	.6757	.6693	162.37
4	.9034	.897	192.5
5	1.0419	1.0355	216.5

KCL pH=5 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	8.6E-03	0	0
1	.0382	.0296	44
2	.1784	.1698	91
3	.5582	.5496	162.37
4	.7663	.7577	192.5
5	.8754	.8668	216.5
6	1.005	.9964	235

KCL pH=5 65C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0242	.0169	39.5
2	.0612	.0539	71.5
3	.1444	.1371	111.83
4	.3976	.3903	264

KCL pH=5 60C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.4E-03	0	0
1	.0219	.0155	39.5
2	.0421	.0357	71.5
3	.0723	.0659	111.83
4	.1314	.125	160.5
5	.2062	.1998	214.5
6	.2948	.2884	264

KCL pH=5 60C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	8.6E-03	0	0
1	.0175	8.9E-03	39.5
2	.0311	.0225	71.5
3	.057	.0484	111.83
4	.1226	.114	160.5
5	.1725	.1639	214.5
6	.241	.2324	264

KCL pH=5 60C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0407	.0334	146
2	.1169	.1096	312.5
3	.2299	.2226	480
4	.3177	.3104	643.5
5	.4057	.3984	816

KCL pH=5 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.4E-03	0	0
1	.0335	.0271	146
2	.0959	.0895	312.5
3	.1801	.1737	480
4	.287	.2806	643.5
5	.3744	.368	816

KCL pH=5 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	8.6E-03	0	0
1	.0311	.0225	146
2	.0865	.0779	312.5
3	.1584	.1498	480
4	.2444	.2358	643.5
5	.3373	.3287	816
6	.4324	.4238	1009

KCL pH=5 55C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.3E-03	0	0
1	.0484	.0411	667.5
2	.1288	.1215	1388.5
3	.2573	.25	2179.5
4	.3632	.3559	2843.5
5	.4716	.4643	3568.75
6	.5708	.5635	4236

KCL pH=5 45C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.4E-03	0	0
1	.0395	.0331	667.5
2	.1054	.099	1388.5
3	.2145	.2081	2179.5
4	.3124	.306	2843.5
5	.4329	.4265	3568.75
6	.5324	.526	4236

KCL pH=5 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	8.6E-03	0	0
1	.0373	.0287	667.5
2	.0917	.0831	1388.5
3	.1781	.1695	2179.5
4	.2758	.2672	2843.5
5	.3857	.3771	3568.75
6	.4857	.4771	4236

KCL pH=5 45C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.4E-03	0	0
1	.0423	.0349	115.75
2	.1074	.1	216.5
3	.2427	.2353	328.5
4	.4402	.4328	411
5	.624	.6166	499.5
6	.7322	.7248	597.75

KCL pH=4 65C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.7E-03	0	0
1	.024	.0173	115.75
2	.0554	.0487	216.5
3	.1265	.1198	328.5
4	.1966	.1899	411
5	.3262	.3195	499.5
6	.4588	.4521	597.75

KCL pH=4 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.9E-03	0	0
1	.0184	.0115	115.75
2	.0447	.0378	216.5
3	.0919	.085	328.5
4	.1369	.13	411
5	.2109	.204	499.5
6	.3021	.2952	597.75

KCL pH=4 65C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.4E-03	0	0
1	.0868	.0794	368
2	.2322	.2248	606.5
3	.3788	.3714	800.12
4	.5054	.498	1013
5	.6105	.6031	1205.5
6	.7105	.7031	1468.5

KCL pH=4 60C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.7E-03	0	0
1	.0462	.0395	368
2	.1161	.1094	608.5
3	.2047	.198	800 12
4	.3094	.3027	1013
5	.3779	.3712	1205.5
6	.4806	.4739	1468.5

KCL pH=4 60C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.9E-03	0	0
1	.0404	.0335	368
2	.0994	.0925	608.5
3	.1753	.1684	800.12
4	.263	.2561	1013
5	.3525	.3456	1205.5
6	.4198	.4129	1468.5

KCL pH=4 60C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.4E-03	0	0
1	.0557	.0483	617
2	.1658	.1584	1216.5
3	.2917	.2843	1694.75
4	.3729	.3655	2178
5	.5025	.4951	2634.5
6	.5724	.565	3040.5

KCL pH=4 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.7E-03	0	0
1	.0346	.0279	617
2	.0984	.0917	1216.5
3	.1699	.1632	1694.5
4	.2552	.2485	2178
5	.3286	.3219	2634.5
6	.3913	.3846	3040.5

KCL pH=4 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.9E-03	0	0
1	.0266	.0197	617
2	.081	.0741	1216.5
3	.1411	.1342	1694.75
4	.2167	.2098	2178
5	.2848	.2779	2634.5
6	.3346	.3277	3040.5

KCL pH=4 55C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7E-03	0	0
1	.0395	.0325	1366
2	.1	.093	2634.5
3	.175	.168	4019
4	.2382	.2512	5469
5	.3617	.3547	6190
6	.4003	.3933	6768.75

KCL pH=4 45C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.9E-03	0	0
1	.0245	.0186	1366
2	.059	.0531	2634.5
3	.099	.0931	4019
4	.1557	.1498	5469
5	.1949	.189	7082
6	.2254	.2195	7560.75

KCL pH=4 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7E-03	0	0
1	.0163	9.3E-03	1366
2	.0437	.0367	2634.5
3	.078	.071	4019
4	.1151	.1081	5469
5	.1612	.1542	7082
6	.1951	.1881	7560.75

KCL pH=4 45C Aw=0.900

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6E-03	0	0
1	.0418	.0358	7.5
2	.1322	.1262	16.25
3	.2193	.2133	23.75
4	.3124	.3064	31.5
5	.6122	.6062	48
6	.7447	.7387	54.5

SULFATO DE Na pH=6 65C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.1E-03	0	0
1	.0328	.0257	7.5
2	.1199	.1128	16.25
3	.1821	.175	23.75
4	.3083	.3012	31.5
5	.5126	.5055	40.5
6	.6566	.6495	48
7	.7674	.7603	54.5

SULFATO DE Na pH=6 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.7E-03	0	0
1	.0577	.052	15
2	.1478	.1421	25
3	.2985	.2928	39.55
4	.6425	.6368	63.63
5	.7906	.7849	73.5

SULFATO DE Na pH=6 60C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.7E-03	0	0
1	.0467	.04	15
2	.1136	.1069	25
3	.2513	.2446	39.55
4	.3905	.3838	51
5	.534	.5273	63.63
6	.7009	.6942	73.5

SULFATO DE Na pH=6 60C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6E-03	0	0
1	.0492	.0432	26.5
2	.1372	.1312	50
3	.2588	.2528	74.5
4	.3593	.3533	99
5	.526	.52	123.5
6	.7079	.7019	147
7	.8057	.7997	171.5

SULFATO DE Na pH=6 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.1E-03	0	0
1	.046	.0389	26.5
2	.1243	.1172	50
3	.2293	.2222	74.5
4	.3401	.333	99
5	.4875	.4804	123.5
6	.6464	.6393	147
7	.7673	.7602	171.5

SULFATO DE Na pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.7E-03	0	0
1	.0381	.0324	92.5
2	.0952	.0895	187
3	.1514	.1457	264
4	.4727	.467	528.67

SULFATO DE Na pH=6 45C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	6.7E-03	0	0
1	.0357	.029	92.5
2	.1377	.131	187
3	.2219	.2152	264
4	.2951	.2884	356.62
5	.4516	.4449	456.2
6	.5942	.5875	528.67

SULFATO DE Na pH=6 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	8.6E-03	0	0
1	.0457	.0371	65
2	.1254	.1168	113.5
3	.2383	.2297	160
4	.408	.3994	235
5	.543	.5344	280.5
6	.6253	.6167	328.5
7	.7945	.7859	401
8	.8924	.8838	452.5

SULFATO DE Na pH=5 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.5E-03	0	0
1	.0139	6.4E-03	69.5
2	.0304	.0229	136.5
3	.0809	.0734	235
4	.1706	.1631	335.5
5	.3071	.2996	449
6	.4843	.4768	568.5
7	.6169	.6094	668.5
8	.7923	.7848	788

SULFATO DE Na pH=4 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.9E-03	0	0
1	.0621	.0562	8.75
2	.1722	.1663	14.83
3	.3199	.314	21.75
4	.5115	.5056	30.25
5	.8777	.8718	44.75

NaCL pH=6 65C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.9E-03	0	0
1	.0228	.0169	9
2	.0972	.0913	22
3	.1611	.1552	29.33
4	.3632	.3573	41.75
5	.434	.4281	49
6	.4605	.4546	50.25

NaCL pH=6 60C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.4E-03	0	0
1	.0429	.0385	22
2	.1465	.1421	46.58
3	.3212	.3168	72.5
4	.4451	.4407	93.5
5	.6658	.6614	116.17
6	1.0029	.9985	167.25
7	1.0944	1.09	189.5
8	1.2456	1.2412	214
9	1.306	1.3016	238.25

NaCL pH=6 55C Aw=0.950

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.9E-03	0	0
1	.0345	.0286	20.5
2	.1328	.1269	44
3	.2988	.2929	71
4	.459	.4531	92
5	.6697	.6638	117
6	.8957	.8898	143.5

NaCL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.9E-03	0	0
1	.0629	.057	121
2	.1405	.1346	193
3	.5769	.571	380.5
4	.9012	.8953	475.62
5	1.0413	1.0354	524.75

NaCL pH=6 45C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.8E-03	0	0
1	.1554	.1496	137.5
2	.3578	.352	210.92
3	.6128	.607	305
4	.9008	.895	397.5

NaCL pH=5 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5.8E-03	0	0
1	.0233	.0175	331.5
2	.0551	.0493	597.5
3	.1127	.1069	904.25
4	.2233	.2175	1343.5
5	.3249	.3191	1738
6	.449	.4432	2187.5

NaCL pH=4 55C Aw=0.925

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.4E-03	0	0
1	.0248	.0204	20.5
2	.0932	.0888	44
3	.2048	.2004	71
4	.302	.2976	92
5	.4698	.4654	117
6	.6096	.6052	143.5

SIN HUMECTANTE pH=6 55C

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	7.4E-03	0	0
1	.0819	.0745	111.5
2	.1976	.1902	194
3	.3525	.3451	282.5
4	.4085	.4011	331.83
5	.4832	.4758	380.75
6	.5997	.5923	473.75

SIN HUMECTANTE pH=5 55C

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	4.8E-03	0	0
1	.0169	.0121	111.5
2	.0307	.0259	194
3	.0916	.0868	380.75
4	.1504	.1456	499.5
5	.2355	.2307	647.5
6	.3592	.3544	816
7	.4811	.4763	1003.5
8	.6281	.6233	1219

SIN HUMECTANTE pH=4 55C

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	5E-04	0	0
1	.06	.0595	93.5
2	.2812	.2807	163.5
3	.5116	.5111	237
4	.7549	.7544	313.5
5	1.0205	1.02	404
6	1.1752	1.1747	470

LiCL 1M pH=4.75 55C

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	2.7E-03	0	0
1	.0183	.0156	163.5
2	.0892	.0865	332
3	.1903	.1876	477
4	.2877	.285	656
5	.4337	.431	823
6	.5131	.5104	991

NaCL 1M pH=4.75 55C

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	2E-03	0	0
1	.0156	.0136	237
2	.0826	.0806	470
3	.1842	.1822	731.5
4	.2688	.2668	919
5	.3693	.3673	1159.5
6	.464	.462	1428.5

KCL 1M pH=4.75 55C

Nro	Suv	(S-Soluv	Horas
0	3.2E-03	0	0
1	.0124	9.2E-03	237
2	.0725	.0693	470
3	.1667	.1635	731.5
4	.2486	.2454	919
5	.3395	.3363	1159.5
6	.4432	.44	1428.5

CsCL 1M pH=4.75 55C

ABSORCION UV. SOLUCIONES GLUCOSA (0.274 M) - LISINA (0.00684 M)

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	1.19	.82	192.5
2	3.31	2.36	316.5
3	5.61	4.03	407
4	8.67	6.35	503.5
5	11.52	8.38	582
6	14.67	10.82	676.5

GLICEROL pH=4 55C Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.1	.54	90.5
2	3.72	2	185
3	9.25	5.25	311
4	16.44	10.11	428
5	21.74	13.46	503
6	27.42	17.63	593.5

GLICEROL pH=5 55C Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.45	.25	19
2	1.1	.53	33
3	2.22	.86	51
4	3.44	1.18	68
5	4.66	1.46	83
6	6.22	1.63	102
7	7.1	1.66	116

GLICEROL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.57	.21	26.5
2	1.58	.54	50
3	2.9	.83	74.5
4	4.32	1.07	99
5	6.2	1.31	123.5
6	7.85	1.38	147
7	9.63	1.34	171.5

PROPILENGLICOL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.77	.25	19
2	1.53	.58	33
3	2.61	.88	51
4	3.93	1.17	68
5	4.84	1.28	83
6	6.71	1.59	102
7	8.13	1.76	116

SORBITOL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	1.3	.95	617
2	4.43	3.39	1216.5
3	8.31	5.84	1694.5
4	12.21	9.2	2178
5	15.54	11.65	2634.5
6	18.38	14.11	3040.5

KCL pH=4 55C Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.33	.12	146
2	1.2	.48	312.5
3	2.54	1.18	480
4	4.32	2.19	643.5
5	6.22	3.2	816

KCL pH=5 55C Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.23	.07	26.5
2	.69	.19	50
3	1.36	.3	74.5
4	2.35	.38	99
5	3.36	.41	123.5
6	4.47	.43	147
7	5.35	.39	171.5

KCL pH=6 55 Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.34	.09	26.5
2	.96	.22	50
3	1.72	.34	74.5
4	2.37	.3	99
5	3.33	.39	123.5
6	4.47	.43	147
7	5.27	.46	171.5

SULFATO DE Na pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.33	.11	20.5
2	1.3	.4	44
3	2.61	.6	71
4	3.86	.76	92
5	5.35	.8	117
6	7.03	.77	143.5

NaCL pH=6 55C Aw=0.925

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.18	.12	111.5
2	.48	.28	194
3	1.68	.93	380.75
4	2.79	1.57	499.5
5	4.35	2.54	647.5
6	6.67	3.87	816
7	9.42	5.38	1003.5
8	12.72	7.41	1219

SIN HUMECTANTE pH=4 55C

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	1.01	.44	111.5
2	2.19	.81	194
3	3.96	1.49	282.5
4	4.62	1.78	331.83
5	5.66	2.33	380.75
6	7.77	3.5	473.75

SIN HUMECTANTE pH=5 55C

Nro	Abs290 x dil.	AbsD x dil.	Horas
1	.26	.12	20.5
2	1.07	.42	44
3	2.18	.72	71
4	3.02	.87	92
5	4.28	1.1	117
6	5.38	1.17	143.5

SIN HUMECTANTE pH=6 55C