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 Maestría

Fibra dietaria de durazno (Prunus persica L.): influencia de la técnica de obtención en las propiedades químicas, físicas y funcionales

Nieto Calvache, Jhon Edinson

2013-10-10

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:
Nieto Calvache, Jhon Edinson. (2013-10-10). Fibra dietaria de durazno (Prunus persica L.): influencia de la técnica de obtención en las propiedades químicas, físicas y funcionales. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:
Nieto Calvache, Jhon Edinson. "Fibra dietaria de durazno (Prunus persica L.): influencia de la técnica de obtención en las propiedades químicas, físicas y funcionales". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2013-10-10.

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

Maestría en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de Alimentos

Fibra dietaria de durazno (*Prunus persica* L.): influencia de la técnica de obtención en las propiedades químicas, físicas y funcionales.

Tesis presentada para optar al título de Magíster de la Universidad de Buenos Aires en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de Alimentos

Autor: Jhon Edinson Nieto Calvache

Directora de tesis: Dra. Lía Noemí Gerschenson

Co-Directora de tesis: Dra. Marina de Escalada Pla

Lugar de trabajo: Departamento de industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Buenos Aires, 2013

Fibra dietaria de durazno (*Prunus persica* L.): influencia de la técnica de obtención en las propiedades químicas, físicas y funcionales.

Resumen:

Se estudió la optimización de las condiciones de proceso en relación a la obtención de fracciones enriquecidas en fibra dietaria a partir de residuos de duraznos (*Prunus persica* L.). Se evaluó la influencia de la relación etanol/muestra durante la extracción de la fibra y de la temperatura de secado con microondas, sobre las propiedades funcionales evaluadas: capacidad de atrapamiento de agua, de retención de agua, de hinchamiento, porcentaje de retención de agua, capacidad de absorción de aceite, volumen específico, fracción soluble en agua y rendimiento de las fracciones obtenidas. El análisis mediante la metodología de superficie de respuesta, permitió encontrar las condiciones de extracción y secado óptimas que maximizaron los resultados para cada una de las propiedades estudiadas. Una nueva extracción de fibra utilizando las condiciones optimizadas, complementada con la caracterización química, la observación microscópica y la determinación del tamaño de partícula, mostró que el producto obtenido presentaba alto contenido de material de la pared celular y buenas propiedades funcionales en comparación con datos de bibliografía. Adicionalmente se observó un importante contenido de compuestos fenólicos totales. La conservación de las estructuras tisulares observada a través de microscopía, ya sea por los cortos tiempos de exposición y/o por el mecanismo diferencial del secado con microondas, el bajo tamaño de partícula, el alto valor de volumen específico del producto y la naturaleza hidrofílica de esta fibra, contribuirían al alto valor de las propiedades estudiadas, lo cual se traduciría en buena funcionalidad fisiológica.

Palabras claves: Fibra dietaria, técnica de obtención, microondas, composición química, propiedades funcionales.

Dietary fiber from peach (*Prunus persica* L.): influence of obtention technique in chemical, physical and functional properties.

Abstract:

The optimization of the process conditions for obtaining dietary fiber enriched fractions from peach (*Prunus persica* L.) waste was studied. The influence of ethanol/sample ratio during extraction and of the microwave drying temperature on the functional properties, was evaluated. Functional properties evaluated were: water holding capacity, water retention capacity, swelling capacity, percentage of water retained, oil holding capacity, specific volume, water soluble fraction and the yield from fractions obtained. Response surface analysis allowed to find out the extraction and drying conditions that maximized results for each of the properties studied. Using the optimized conditions, a new fraction was obtained and its chemical characterization, microscopic evaluation and particle size determination, showed that the product obtained presented a high content of cell wall material and interesting functional properties compared with literature data. Additionally it showed an important total phenolic content. The preservation of tissue structures, observed through microscopy, due to the short exposure times and/or to the differential mechanism of microwave drying, the low particle size, the high value of specific volume and the hydrophilic nature of this fiber, probably contributed to the high values of the observed properties, which would result in a good physiological functionality.

Key words: Dietary fiber, obtention technique, microwaves, chemical composition, functional properties.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias a la intervención de muchas personas, quienes de manera directa o indirecta, colaboraron en mi formación profesional. Mi mayor agradecimiento a todas ellas y mis disculpas a aquéllas que, inadvertidamente, pude haber omitido.

A Dios, por el regalo de la vida y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres, hermanos, novia, familiares y amigos, por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

A la Doctora, Lía Noemí Gerschenson, por darme la oportunidad de realizar la investigación en su grupo. Además por su apoyo, acompañamiento y compromiso durante todo el proceso de estudios y culminación de la tesis, por su amistad, por su valiosa voluntad de trabajo y por ser un gran ejemplo de persona.

A la Doctora, Marina de Escalada Pla, por su amistad, paciencia y carisma para enseñar, por todo el esfuerzo y dedicación durante la realización de este trabajo científico, por el apoyo y apremio recibido a lo largo de esta tesis. Mi más grande aprecio.

A mis compañeras de grupo, investigadoras, becarias doctorales, tesistas de maestría y grado, por su valiosa amistad, compañerismo y manifestaciones de aprecio hacia mí. De corazón gracias a todas.

Al Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires por facilitar el uso de sus instalaciones.

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN ***1***

1. INTRODUCCIÓN **2**

1.1. Aprovechamiento de residuos de la industria de frutas y vegetales 2
1.2. La preservación de frutihortícolas 3
1.2.1. Preservación de alimentos. Proceso de secado 3
1.2.2. La industria de conservas en Argentina. El durazno 4
1.3. Descripción botánica del durazno 4
1.4. Situación de la producción de durazno a nivel internacional 6
1.5. El concepto de "fibra dietaria" y su evolución en el tiempo 8
1.5.1. Definición actual sobre fibra dietaria 9
1.6. Métodos para análisis de fibra 12
1.6.1. Métodos gravimétricos 12
1.6.2. Métodos colorimétricos y cromatográficos 12
1.7. Antecedentes sobre investigaciones en el tema de fibra dietaria en el mundo. 13
1.8. Situación actual sobre el consumo de fibra en el mundo. 14
1.9. La fibra y su funcionalidad en el ser humano 16
1.9.1. Los prebióticos 16
1.9.2. La fibra dietaria y su capacidad antioxidante 17
1.10. Composición y función de las paredes celulares 18
1.10.1. Estructura de la pared celular primaria 19
1.10.1.1. Celulosa 19
1.10.1.2. Hemicelulosas 20
1.10.1.3. Pectinas 20
1.11. Usos tecnológicos de la fibra dietaria 21
1.12. Propiedades de la fibra dietaria 21
1.12.1. Tamaño de partícula y volumen aparente global 22
1.12.2. Características del área superficial 22
1.12.3. Propiedades de hidratación 23
1.12.4. Solubilidad 23

2. OBJETIVO **24**

CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS ***25***

1. MATERIALES Y MÉTODOS **26**

1.1. Reactivos 26
1.2. Obtención de fracciones enriquecidas en fibra 26
1.3. Evaluación del rendimiento 27
1.4. Propiedades de hidratación y de absorción de aceite 27
1.4.1. Capacidad de hinchamiento (Swelling capacity, SC) 27
1.4.2. Capacidad de atrapamiento de agua (Water holding capacity, WHC) 27
1.4.3. Capacidad de retención de agua (Water retention capacity, WRC) y porcentaje de agua retenida (Retention of water, RW) 28
1.4.4. Capacidad de absorción de aceite (Oil holding capacity, OHC) 28
1.5. Propiedades físicas 29
1.5.1. Tamaño de partícula 29
1.5.2. Densidad 29
1.5.3. Volumen específico 29

1.6. Composición química 29
1.6.1. Humedad 29
1.6.2. Determinación de compuestos fenólicos 30
1.6.3. Obtención del residuo insoluble en alcohol (Alcohol insoluble residue, AIR) 30
1.6.4. Caracterización química del AIR 31

2. DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS USADAS EN LAS DETERMINACIONES QUÍMICAS 32
2.1. Determinación de carbohidratos totales 32
2.2. Determinación de ácidos urónicos 33
2.3. Determinación de proteínas 34
2.4. Determinación del grado de metilación 35
2.5. Determinación del grado de acetilación 36
2.6. Determinación de compuestos fenólicos de la pared celular 37

3. CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA 38

4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO 38

CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN 40

1. DESARROLLO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL 41
1.1. Análisis de las propiedades de hidratación, absorción de aceite, físicas y químicas 42
1.1.1. Volumen específico 43
1.1.2. Fracción soluble 44
1.1.3. Capacidad de absorción de aceite (OHC) 46
1.1.4. Rendimiento 47
1.1.5. Capacidad de hinchamiento (SC) 49
1.1.6. Capacidad de retención de agua (WRC) 50
1.1.7. Porcentaje de agua retenida (RW) 51
1.1.8. Capacidad de atrapamiento de agua (WHC) 53
1.2. Optimización de respuesta múltiple 54
1.3. Profundización de la caracterización de la fracción obtenida con las condiciones óptimas 59
1.3.1. Tamaño de partícula 59
1.3.2. Observación microscópica 59
1.3.3. Composición química 60

2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS REFERENTES A LAS PROPIEDADES DE LA FRACCIÓN RICA EN FIBRA DIETARIA AISLADA EN LAS CONDICIONES ÓPTIMAS 62

3. CONCLUSIONES 68

ANEXOS 69

1. ANEXO I - SECADO 70
1.1. INTRODUCCIÓN 70
1.1.1. El secado y los modelos empíricos 70
1.2. MATERIALES Y MÉTODOS 70
1.2.1. Curvas de secado 71
1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 71
1.3.1. Curvas de secado 72

ANEXO II **76**

TABLAS DE RESULTADOS COMPLETAS 76

BIBLIOGRAFÍA ***78***

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 79

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Aprovechamiento de residuos de la industria de frutas y vegetales

Durante las últimas décadas, el interés por parte de los consumidores por la adecuada nutrición y su influencia en el mantenimiento de la salud ha aumentado considerablemente. Este periodo se ha caracterizado por los costos crecientes y la disminución de la disponibilidad de materias primas, además de la preocupación por la contaminación ambiental. En consecuencia, existe un considerable énfasis en la recuperación, el reciclaje y la valoración de los desechos. Esto es particularmente válido para el procesamiento de alimentos en el cual los residuos, efluentes, desechos y subproductos tienen un alto contenido de componentes orgánicos que se pueden recuperar dando lugar a productos útiles de mayor valor (Askar, 1998; Laufenberg y col., 2003; Reddy y Yang, 2005).

Se considera un residuo, a los subproductos obtenidos en el procesado y que pueden tener aplicaciones para su aprovechamiento, de forma que, lo que en una industria se considera un subproducto o residuo, para otra puede constituir la materia prima, de la cual se obtendrá a su vez un producto principal y nuevos subproductos (Hermida, 1993). De igual forma, otra causa de generación de residuos es el rechazo de materias primas por parte del área de producción por el incumplimiento de los estándares de calidad por parte de la misma.

Los subproductos del procesamiento de alimentos vegetales representan un problema de disposición importante para la industria (Laufenberg y col., 2003). Como consecuencia del aumento de la producción, la eliminación representa un problema serio debido a que los materiales vegetales son generalmente propensos al deterioro microbiano. Por otro lado, los costos de secado, almacenamiento y envío de los residuos son factores limitantes desde el punto de vista económico para algunas alternativas de tratamiento. Por lo tanto, los residuos agroindustriales a menudo se utilizan como piensos (alimentación de animales) o como fertilizantes. O se disponen como desechos industriales. El problema de la eliminación de los subproductos se agrava aún más por restricciones legales. Por lo tanto, una utilización eficiente, de bajo costo y ambientalmente racional de estos residuos es cada vez más importante, especialmente desde el punto de vista de la rentabilidad y el empleo que estos pueden llegar a tener (Lowe y Buckmaster, 1995). Estos residuos de la industria del procesamiento de alimentos tienen algunas características comunes, tales como grandes cantidades de material orgánico, proteínas, hidratos de carbono y lípidos. Entonces, la transformación de los residuos vegetales de la industria alimentaria en

productos de valor agregado, puede contribuir a reducir la contaminación y recuperar valiosa biomasa y nutrientes (Laufenberg y col., 2003).

Es evidente la necesidad de buscar alternativas para el aprovechamiento de estos subproductos que se generan en los procesos de industrialización de alimentos. Por tal motivo, es necesario investigar y conocer las características de los mismos así como estudiar los modos de agregarles valor, por ejemplo convirtiéndolos en insumos de la industria alimentaria, farmacéutica o cosmética.

1.2. La preservación de frutihortícolas

La preservación de los alimentos, tiene por objetivo principal, brindar seguridad y calidad en los productos que llegan al consumidor. Los tratamientos de preservación actualmente en uso para productos frutihortícolas son variados. Se encuentran las tecnologías tradicionales (i.e.: congelación, deshidratación, esterilización comercial) y otras tecnologías alternativas, aún en proceso de estudio o en incipiente aplicación (i.e.: pulsos eléctricos, altas presiones, pulsos lumínicos, microondas) que han comenzado a aplicarse sobre alimentos de origen vegetal, a nivel internacional (Hayashi, 2002; Tewari y Juneja, 2007). También se utilizan las técnicas que combinan distintas formas de estrés microbiano (i.e.: tratamiento térmico suave, control de pH y de actividad de agua, agregado de preservadores químicos permitidos, uso de películas comestibles, irradiación) tendiendo a la optimización de la calidad de los alimentos (Leistner, 2002).

1.2.1. Preservación de alimentos. Proceso de secado

El escaldado, la pasteurización, la esterilización, el secado y la evaporación, son prácticas ampliamente empleadas en la industria alimentaria a fin de garantizar la seguridad microbiológica y estabilidad de los productos.

El secado es uno de los procesos que consume más tiempo y energía en la industria. Es por eso que los nuevos desarrollos en investigación están dirigidos a disminuir el tiempo de secado y el consumo de energía sin reducción de la calidad. Los nuevos métodos en estudio incluyen técnicas mixtas tales como el uso de secado por microondas con el secado solar para reducir el tiempo de proceso (Secmeler, 2003). Las condiciones de secado o los equipos pueden ser modificados para aumentar la eficiencia global. También se pueden utilizar técnicas híbridas de secado, por ejemplo, combinando vacío o secado convectivo con tecnologías tales como microondas, radiofrecuencia y calentamiento infrarrojo (Raghavan y col., 2005).

Durante las últimas dos décadas, ha habido un creciente interés en el secado por microondas para reducir los tiempos de proceso y aumentar la remoción de agua de

productos agrícolas. El secado con microondas tiene varias ventajas tales como, mayor velocidad de secado, tiempos de secado más cortos, disminución en el consumo de energía y mejor calidad de los productos (Sanga y col., 2000). La mejora de los procesos de secado mediante la reducción de consumo de energía y proporcionando alta calidad con un incremento mínimo de los costos, se ha convertido en el objetivo de los procesos de secado modernos (Raghavan y col., 2005). En tal sentido, varios estudios se han realizado para mejorar el secado por microondas investigando los efectos de varios niveles de potencia y temperaturas de secado (Adedeji y col., 2009; Andrés y col., 2004; Changrue y col., 2008; Clary y col., 2005, Cui y col., 2005; Knoerzer y col., 2006; Lu y col., 1999). De acuerdo con Murthy y Prasad (2005), una de las principales características en el uso del calentamiento por microondas es que los gradientes de temperatura y humedad son en la misma dirección, siendo opuesto al calentamiento convencional donde la humedad debe salir de la materia en contra gradiente de temperatura.

1.2.2. La industria de conservas en Argentina. El durazno

El sector de conservas vegetales argentino se concentra fuertemente en la provincia de Mendoza por disponerse de las condiciones medio ambientales que permiten la producción en cantidad y calidad de materias primas. Entre los productos elaborados se puede enumerar tanto a derivados de hortalizas (tomate, pimientos, legumbres, maíz, etc.) como a derivados de frutas (duraznos, membrillos, peras, manzanas, damascos, etc.), pero dada la mayor incidencia sobre el sector primario y, sobre el escenario mundial, es el durazno para industria, el que adquiere la mayor importancia relativa, y actúa como motor de cambios para el sector. En Argentina, se estimó que en el año 2012, la producción para la industria estaría cerca de las 156022 toneladas. Los residuos generados por el procesamiento y/o por su calidad fuera de estándar, históricamente ha llegado a un valor del 5-8 % de la producción total, según informe sectorial de la Dirección Nacional de Transformación y Comercialización de Productos Agrícolas y Forestales de Argentina (2011). Como dato adicional, los daños a los cultivos de durazno ocasionados por fenómenos meteorológicos como el granizo podían estar entre el 10 y el 100% en algunas regiones según informe de Cámara de Productores y Empacadores del NE de Bs.As (CAPROEM 2012). Por esta razón, los frutos dañados o que no cumplan con los requisitos en el procesamiento podrían ser utilizados como material para la extracción de productos enriquecidos en fibra dietaria (FD), contribuyendo a disminuir el impacto ambiental y mejorar la situación económica de esta cadena productiva.

1.3. Descripción botánica del durazno

Las principales características del durazno se resumen en la tabla 1.1.

Tabla 1.1. Descripción botánica del durazno.

Nombre común	Melocotonero, Duraznero, Pavía
Reino	Vegetal
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Dicotiledoneae
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Nombre científico (género y especie)	*Prunus pérsica*
Descripción de la planta	Árbol caducifolio que puede alcanzar hasta 6 m. de altura, con la corteza lisa, cenicienta, que se desprende en láminas. Ramillas lisas, lampiñas de color verde en el lado opuesto al sol. Hojas simples, lanceoladas de 7.5 a 15 cm. de longitud y de 2 a 3.5 cm. de ancho, acabadas en punta, con el margen finamente aserrado. Flores, por lo general, solitarias, a veces en parejas, casi sentadas de color rosa a rojo y de 2 a 3.5 cm. de diámetro. Fruto globoso de 5 a 7.5 cm de diámetro, amarillento con tonalidades rojizas en la parte expuesta al sol.
Reproducción	Sexual. Las flores son hermafroditas y son polinizadas por las abejas.
Medio donde habita	Terrestre, prefiere los suelos blandos con bastante materia orgánica, no soporta los excesos de humedad ni de sombra.
Tipo de ecosistema donde se encuentra	En los bosques y en otro tipo de ecosistemas que representen un medio adecuado para su sobrevivencia.
Distribución geográfica de la especie	Ampliamente distribuido; muy raramente asilvestrado y normalmente cultivado en frutales y huertas por sus frutos y en parques y jardines como ornamento.
Factores ambientales o físicos: (luz, temperatura, agua, humedad, salinidad, altitud, etc.)	Se recomienda plantar en terrenos húmedos, necesita de 10 a 12 horas de luz, la temperatura que necesita es entre 6℃ a 28℃ y una humedad de más de 60%.
Adaptación al ambiente para sobrevivir	Vegeta mejor en suelos francos, sueltos, permeables, neutros.

Adaptado de Narciso (2000).

Figura 1.1. Imagen común del fruto maduro de durazno

1.4. Situación de la producción de durazno a nivel internacional

En el contexto internacional, Argentina ocupa el sexto puesto mundial como productor de durazno para industria en un mercado concentrado y sin grandes variaciones en cuanto a la participación de cada país. Argentina si bien muestra algunas fortalezas exhibe también debilidades. Entre los aspectos positivos, se puede decir que se destaca entre los grandes productores como el país que tuvo uno de los mayores crecimientos en el último quinquenio, entre 7 y 8 % tanto en producción como en área plantada. En la temporada 2011/12, el área implantada fue de 6.882 hectáreas y la producción alcanzó las 156.000 toneladas, de acuerdo a información de la Dirección de Promoción de la Calidad de Productos Agrícolas y Forestales - Subsecretaría de Agregado de Valor y Nuevas Tecnologías. Argentina. (Franco, 2012)

En la figura 1.2, se muestra la evolución de la producción que han tenido algunos países como Argentina, Chile, Grecia, Estados Unidos, España y Sudáfrica, quienes son actualmente los principales productores de durazno a nivel mundial.

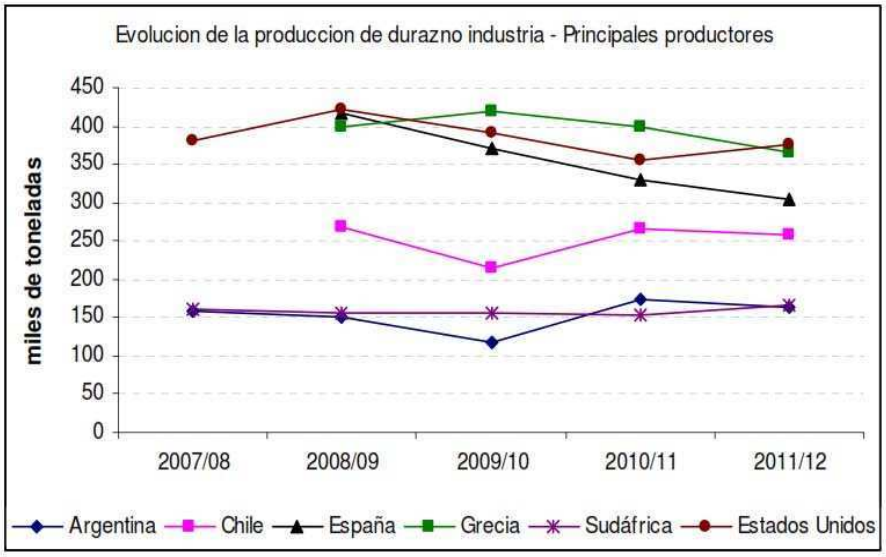

Figura 1.2. Evolución de la produccion de durazno para la industria. Principales productores en el mundo. (Franco, 2012)

Por otro lado, en cuanto al rendimiento en toneladas de fruto obtenido por cada hectárea de producción, Argentina presenta menor producción por hectárea que Chile, Sudáfrica y Estados Unidos como se observa en la figura 1.3.

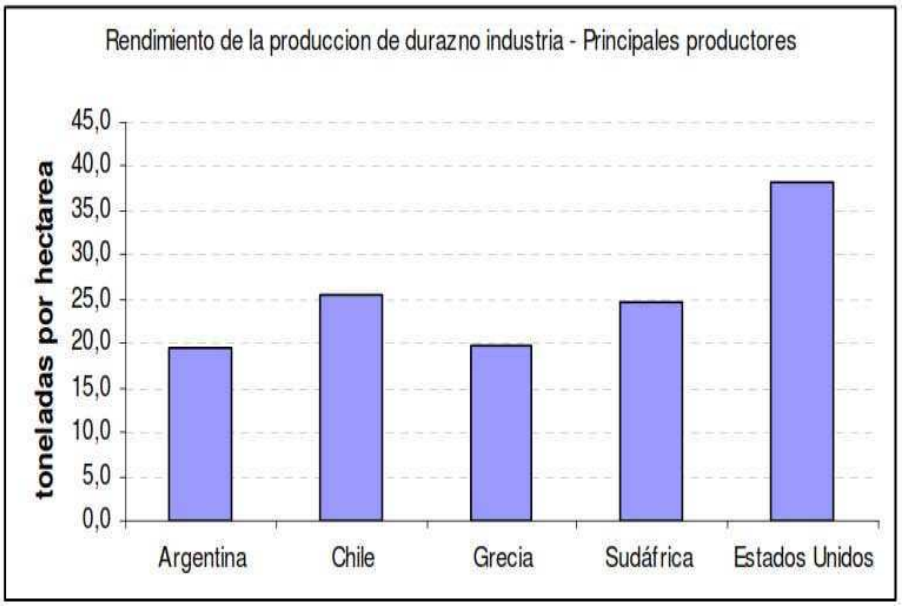

Figura 1.3. Rendimiento de la produccion de durazno para la industria. Principales productores en el mundo. (Franco, 2012)

Según el Plan Estratégico del Durazno Industria (2006), la provincia de Mendoza produce la mayor parte de durazno para la industria Argentina. La producción se encuentra distribuida entre los 4 oasis productivos de la misma y en cada uno de ellos se presentan características distintivas. En total suman 7.596,6 hectáreas, de las cuales, 6.407 son productivas; las restantes son de menos de 4 años y de más de 30. Esta superficie está distribuida en 1.550 propiedades, correspondientes a 1.362 productores aproximadamente, con lo cual, el tamaño medio de superficie implantada es de 4,9 hectáreas de durazno industria por productor. La superficie implantada con duraznos para industria se encuentra fundamentalmente concentrada en el oasis sur, donde además se concentra la mayor parte de los productores o sea 3.162 hectáreas y 1.111 propiedades con durazno para industria; con un tamaño promedio de explotación menor y en el extremo opuesto, se encuentra el Valle de Uco, el cual presenta una superficie implantada ligeramente superior a la de la zona Nor-Este (que cuenta con 2.136 hectáreas distribuidas en 292 propiedades) con 2.298 hectáreas y 147 propiedades, pero con el mayor tamaño promedio de explotación.

Teniendo en cuenta el crecimiento que muestra la producción de durazno para la industria en Argentina y la cantidad de residuos que pueden resultar como parte del proceso de industrialización, ya sea para conservas, jugos o néctares, se consideró de gran importancia el estudio del aprovechamiento de los residuos de este fruto como fuente de nutrientes, por ejemplo para la extracción de fibra dietaria.

1.5. El concepto de "fibra dietaria" y su evolución en el tiempo

De acuerdo con Sambucetti (2006) el término fibra dietaria de los alimentos (dietary fiber), con el que se denominó al residuo de los vegetales no digerible por el hombre, apareció en trabajos sobre nutrición en 1953, pero fue a partir de la década de los años 70 que este componente de los alimentos cobró suma importancia a raíz de los estudios realizados por Trowell, Burkit y otros autores. Sobre esa base, se desarrolló la hipótesis de que la falta de fibra en la dieta era la causa de los males que aquejaban al hombre actual, especialmente constipación, apendicitis, diverticulosis, cáncer de colon, obesidad, diabetes, arteriosclerosis e infarto de miocardio. La fibra era el residuo de los componentes de las plantas comestibles, resistente a la hidrólisis por acción de las enzimas endógenas del tracto digestivo humano que incluía, fundamentalmente, celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, mucílagos, lignina, y sustancias asociadas a éstas, en pequeñas cantidades, tales como ceras, cutina y suberina. Sin embargo, a medida que progresaron los estudios sobre el tema aparecieron productos que han sido aislados de la naturaleza o desarrollados por síntesis o semisíntesis, que se comportan como la fibra, pero no se adecuan a la definición tradicional.

Debido a la complejidad del tema por la diversidad de las estructuras, propiedades físicas, químicas y fisiológicas de estos compuestos, a la dificultad de poder utilizar un solo método para el análisis proximal de esta fracción, como así también a los distintos criterios analíticos, fisiológicos y aún de denominación que adoptaron distintos investigadores, ha sido muy difícil arribar a una definición y a un método analítico que logre identificar esta fracción. Tanto la definición como el método analítico son muy necesarios desde el punto de vista legal, en cuanto al rotulado nutricional de los alimentos y desde el punto de vista sanitario, para contar con datos reales ya sea para el diseño de dietas como para la investigación en estudios epidemiológicos. Como resultado del debate científico organizado por la AACC (American Association of Cereal Chemists) en el año 2001, surgió una nueva definición según la cual "*Fibra dietética es la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos, que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano con completa o parcial fermentación en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas. La fibra dietética promueve efectos benéficos que incluyen la laxación y/o disminución de la colesterolemia y/o de la glucemia".* Como se puede observar, esta definición amplía el concepto de la fibra a aquellos carbohidratos análogos o sea aquellos que se produjeran en el procesado de los alimentos, o por procesos químicos, físicos o enzimáticos. Además, se explicitan los beneficios fisiológicos que

deben aportar para ser considerados como fibra. Sin embargo, en la actualidad algunos países como Japón, Corea, Holanda, Nueva Zelanda consideran dentro de la fibra, a compuestos no digeribles provenientes de alimentos de origen animal (p.ej. quitina). Por lo tanto, el Programa Conjunto Sobre Normas Alimentarias FAO/OMS, presentó en el 2004 una propuesta de definición para su discusión y aceptación posterior a nivel internacional, en la que se tienen en cuenta las siguientes características y atributos que conformarían el concepto de la fibra dietética:

Materias comestibles no digeribles que se encuentran naturalmente en los alimentos, que se componen de polímeros de carbohidratos con un grado de polimerización no inferior a 3, o de polímeros de carbohidratos con un grado de polimerización ≥ 3, obtenidos de materia prima alimentaria por medios físicos, enzimáticos o químicos u obtenidos por síntesis. La fibra dietética no es digerida ni absorbida en el intestino delgado y acusa, al menos, algunos de los siguientes efectos fisiológicos beneficiosos:

- *Incrementa la defecación,*
- *Estimula la fermentación en el colon,*
- *Reduce el nivel de colesterol total y/o de colesterol LDL.*
- *Reduce los niveles de glucosa y/o insulina post-prandial*

Si bien en esta propuesta no se discrimina el origen vegetal o animal de la fibra, habría que tener en cuenta que el mensaje nutricional que ofrece este componente alimenticio al consumidor, tradicionalmente está asociado con los alimentos vegetales (Sambucetti 2006).

1.5.1. Definición actual sobre fibra dietaria

La definición actual para el término fibra dietética o dietaria (FD) se dio en el año 2009, por parte de la comisión del Codex Alimentarius (Codex Dietary Fiber Definition. ALINORM 09/32/REP), programa conjunto con la FAO/OMS sobre normas alimentarias, donde se establecieron los siguientes parámetros para clasificar a los componentes que estarán definidos como fibra dietaria:

Se entenderá por FD los polímeros de hidratos de carbono con diez o más unidades monoméricas, que no son hidrolizados por las enzimas endógenas del intestino delgado humano y que pertenecen a las categorías siguientes:

- polímeros de carbohidratos comestibles que se encuentran naturalmente en los alimentos en la forma en que se consumen;

- polímeros de carbohidratos obtenidos de materia prima alimentaria por medios físicos, enzimáticos o químicos, y que se haya demostrado que tienen un efecto fisiológico beneficioso para la salud mediante pruebas científicas generalmente aceptadas aportadas a las autoridades competentes;
- polímeros de carbohidratos sintéticos que se haya demostrado que tienen un efecto fisiológico beneficioso para la salud mediante pruebas científicas generalmente aceptadas aportadas a las autoridades competentes.

Las notas al pie en la definición de fibra dietaria del año 2009 fueron modificadas en el año 2010 (ALINORM 10/33/26, 10/33/REP) y dicen:

La fibra dietaria, si es de origen vegetal, puede incluir fracciones de lignina y/u otros compuestos asociados con los polisacáridos en la pared celular vegetal y si tales compuestos se han cuantificado mediante el método de análisis gravimétrico de la AOAC para el análisis de la fibra dietaria, estas sustancias quedan incluidas en la definición de fibra por cuanto están efectivamente asociadas con la fracción polisacárida u oligosacáridica de la fibra. Sin embargo, no pueden ser definidas como FD si se extraen y se reintroducen en un alimento que contiene polisacáridos no digeribles. Al combinarse con polisacáridos, estas sustancias asociadas pueden aportar efectos beneficiosos complementarios.

La decisión sobre si se deben incluir los carbohidratos entre tres y nueve unidades monoméricas debe recaer en las autoridades nacionales.

Una característica común de la mayoría, si no de todas, las definiciones de fibra es la no digestibilidad en el intestino delgado, es decir, una situación en la que algunos hidratos de carbono no digeridos pasan desde el íleon al colon (Buttriss y Stokes., 2008).

La Tabla 1.2 proporciona información sobre las fracciones de carbohidratos no digeribles involucrados en distintas definiciones de fibra (Buttriss y Stokes, 2008).

Tabla 1.2. Descripción de componentes propuestos de fibra dietaria y de sus fuentes principales.

Componente de la fibra	Descripción	Fuentes alimentarias
Celulosa	Polisacáridos que comprenden hasta 10 000 unidades de glucosa estrechamente empaquetadas, dispuestos linealmente, lo que la hace muy insoluble y resistente a la digestión por las enzimas humanas.	Principal componente de las paredes celulares de la mayoría de las plantas. Forma aproximadamente el 25% de la fibra de cereales y frutas y aproximadamente un tercio en hortalizas y nueces. Gran parte de la fibra en los salvados de cereales es celulosa.
Hemicelulosa	Polisacáridos que contienen otros azúcares distintos de la glucosa. Asociadas con la celulosa en las paredes celulares y presentes en las formas tanto solubles como insolubles en agua.	Forman aproximadamente un tercio de la fibra en verduras, frutas, legumbres y frutos secos. Las principales fuentes de la dieta son los cereales.
Pectinas	Polisacáridos compuestos por ácido galacturónico y una variedad de azúcares; solubles en agua caliente y forman geles al enfriar.	Encontrado en las paredes celulares y tejido intracelular de frutas y verduras. Las frutas contienen la mayor cantidad, sin embargo las pectinas también representan entre el 15-20% de la fibra en verduras, legumbres y frutos secos. La remolacha azucarera y la papa son fuentes.
Beta-glucanos	Polímeros de glucosa que, a diferencia de la celulosa, tienen una estructura ramificada que les permite formar soluciones viscosas.	Componentes principales del material de la pared celular en la avena y la cebada, en el trigo sólo está presente en pequeñas cantidades.
Almidón Resistente	Productos de degradación de almidón y almidón que no se absorben en el intestino delgado. Se han identificado cuatro clases: almidón físicamente inaccesible, RS1, gránulos de almidón nativo, RS2, almidón retrogradado, RS3, y almidón modificado químicamente, RS4.	Las legumbres son una de las principales fuentes de RS1 (debido a sus paredes celulares gruesas). Plátanos verdes proporcionan RS2, al igual que almidones altos en amilosa (producidos industrialmente). RS3 es producido durante la cocción, enfriamiento y almacenamiento de los alimentos (por ejemplo, patatas). La cuantificación exacta es difícil debido a los efectos de la cocción y el almacenamiento.
Oligosacáridos no digeribles (NDOs)	NDOs que comprenden de tres a diez unidades de azúcar de forma natural en plantas consumidas como alimentos, principalmente verduras, cereales y frutos secos. También se pueden obtener química o enzimáticamente a partir de mono o disacáridos o por hidrólisis enzimática de polisacáridos. En contraparte debido a que no son digeridos, presentan similares efectos físicos a los polisacáridos más grandes. Son típicamente fermentables y algunos tienen propiedades prebióticas [por ejemplo, fructanos tales como FOS obtenidos de inulinas con un grado de polimerización de 3-60 y análogos sintéticos sintetizados a partir de sacarosa]. Las propiedades fisiológicas se han confirmado para algunos NDOs y estos principalmente están mediando a través de cambios a la microflora intestinal (ya sea la composición o actividad).	Cebollas, achicoria y alcachofas Jerusalén son las fuentes más importantes en la dieta. En la actualidad, su uso en la alimentación de FOS y galacto-oligosacáridos está permitido en la mayoría de países europeos. (Ha habido discusión reciente sobre el grado de polimerización, se considera necesario para justificar su inclusión en la definición de fibra. En la propuesta actual de la Comisión Europea, solo sacáridos con tres o más unidades se incluyen, existiendo una preocupación sobre los efectos laxantes con moléculas más pequeñas.)
Otros compuestos de carbohidratos sintéticos	Derivados sintéticos de la celulosa (por ejemplo, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa) son no digeribles y, a diferencia de su padre (celulosa), son solubles. Pero difícilmente son fermentados por la microflora. La polidextrosa tiene un grado medio de polimerización de 12 y se sintetiza a partir de glucosa y sorbitol. Se fermenta parcialmente en el colon (~ 50% en los seres humanos) y tiene propiedades prebióticas y de saciedad.	La polidextrosa, se utiliza por ejemplo, en algunos productos energéticos reducidos como un agente de carga para reemplazar los azúcares en los alimentos y para proporcionar textura. Su contribución a la energía es inferior 1 kcal / g.
Gomas y mucilagos	Las gomas son hidrocoloides derivados de exudados de plantas. Los mucílagos están presentes en las células de las capas externas de semillas de la familia de plantago, ejemplo pysillium. Ambos son usados como agentes gelificantes, espesantes, estabilizantes y agentes emulsionantes.	Gomas: exudados vegetales (goma Arábica y tragacanto), semillas (Guar y algarrobo) y los extractos de algas (agar, alginatos, carrageninas). Mucílagos: por ejemplo, pysillium
Lignina	No es un polisacárido pero químicamente están unidos a las hemicelulosas en las paredes celulares de las plantas.	Los alimentos con un componente leñoso, por ejemplo el apio, y las capas externas de los granos de cereales.
Otros componentes menores	El ácido fítico (hexafosfato de inositol) está asociado con la fibra en algunos alimentos, especialmente granos de cereales. Puede reducir la absorción de minerales en el intestino delgado, ya que se unen fuertemente. Otros compuestos asociados con fibra incluyen taninos, arranques y fitoesteroles.	Los granos de cereales

1.6. Métodos para análisis de fibra

El método más antiguo cuyo origen data del siglo XIX, se basa en un tratamiento alcalino y ácido y expresa sus resultados como "Fibra cruda". Según los químicos textiles de aquella época, las fibras eran sustancias insolubles y resistentes en esas condiciones y, por lo tanto, no digeribles. De allí el empleo de la palabra fibra en nutrición. Este método subestima la verdadera cantidad de la fracción no digerible de las paredes celulares vegetales ya que se pierden totalmente las pectinas y gran parte de la celulosa, hemicelulosa y lignina.

En los últimos 30 años se han desarrollado dos tipos de métodos que permiten obtener mejores resultados, los cuales se diferencian de los obtenidos por el método antes mencionado, mediante su denominación como "Fibra dietética" (Sambucetti, 2006).

1.6.1. Métodos gravimétricos

Estos métodos miden el residuo que queda de la remoción de las proteínas y del almidón del alimento pre-desengrasado por medio de:

- Un tratamiento químico: Es el método de Van Soest, utilizado en algunas tablas extranjeras; los resultados se expresan como NDF (Fibra Detergente Neutro) y representan a la fracción insoluble de la fibra, ya que con el tratamiento se pierden los polisacáridos solubles.
- Un tratamiento con enzimas específicas que simulan la digestión de los alimentos en el humano (método de Asp; método de Prosky) y posterior precipitación de la fibra con alcohol al 78% v/v. Esta técnica determina la fibra total y mediante modificaciones permite diferenciar a la fibra soluble de la fibra insoluble. Incluye almidones resistentes RS3 o sea almidón retrogradado pero no determina los de tipo RS1 (almidón atrapado físicamente) y RS2 (ciertos tipos de gránulos crudos de almidón). Por su practicidad, se emplea en el análisis de rutina. (Sambucetti, 2006)

1.6.2. Métodos colorimétricos y cromatográficos

Son métodos que cuantifican los constituyentes monoméricos de la fibra. Después de un tratamiento enzimático para eliminar el almidón, al residuo se lo fracciona en componentes solubles e insolubles que luego son sometidos a hidrólisis ácidas selectivas para liberar a los azúcares de los polisacáridos no celulósicos y de la celulosa. Los azúcares se pueden cuantificar por métodos cromatográficos (Método de Englyst y método de Theander, o Método Upsala). Los ácidos urónicos componentes de pectinas y de algunos espesantes, se deben medir por métodos colorimétricos. (Sambucetti, 2006)

Varios de los métodos señalados fueron validados internacionalmente y propuestos como métodos oficiales por la AOAC (Association of Official Analytical Chemist). El método que tuvo mayor consenso en la comunidad científica para cuantificar los componentes de la fibra según la definición de Trowell (1976) y por su practicidad fue el método de Prosky. Sin embargo, actualmente resulta insuficiente para cuantificar compuestos que no son precipitados por el alcohol 78% v/v, por ejemplo, fructanos, polidextrosa, dextrinas resistentes, pero que poseen características comunes a la fibra.

Esta necesidad dio origen a nuevos métodos específicos para determinar nuevas fibras y se han incluido junto a los métodos desarrollados por la AOAC.

De acuerdo al estudio colaborativo desarrollado por la AACC, actualmente se aplica a la determinación de fibra soluble, insoluble y total, un método enzimático gravimétrico y cromatografía líquida (McCleary y col., 2011).

1.7. Antecedentes sobre investigaciones en el tema de fibra dietaria en el mundo.

Décadas atrás, la hipótesis de la FD surgió entre los investigadores que trabajaban en las relaciones entre la dieta y la incidencia de enfermedades crónicas. El concepto ha estimulado una gran cantidad de investigación y lanzado una nueva visión sobre la comprensión de la causa de algunas enfermedades comunes, especialmente las del intestino grueso en los países occidentales. Históricamente, el énfasis de las investigaciones se ha concentrado sobre el efecto de la fibra en relación con la cantidad, más que el tipo de fibra presente en la dieta. Los estudios más amplios se han llevado a cabo combinando experimentos *in vitro*, en animales y humanos, midiendo los efectos agudos y a largo plazo a nivel celular y de todo el cuerpo. Ellos han demostrado que las diferentes fuentes de fibra pueden tener distintos efectos metabólicos y fisiológicos. Se han estudiado las propiedades químicas y físicas, el destino durante el tránsito intestinal y la fermentación de la FD, para determinar sus efectos fisiológicos y metabólicos cuando se consumen. En particular, la implicancia de las propiedades fisicoquímicas de la FD sobre sus efectos agudos son ahora bastante bien comprendidos (Guillon y col., 2000).

Hay una creciente conciencia sobre la importancia de la fermentación en el colon en las funciones metabólicas intestinales en el hombre, pero nuestra comprensión de los factores que controlan la fermentación siguen siendo limitados. Los principales sustratos de la fermentación en el colon son FD, almidón resistente y las secreciones endógenas producidas por la mucosa intestinal. Por lo tanto, los hidratos de carbono complejos y, en particular, los de la pared celular de la planta, son importantes contribuyentes al conjunto de los sustratos fermentables. Tales fibras demuestran una amplia diversidad tanto en la velocidad y el grado de degradación como en la cantidad y el perfil de ácidos grasos de

cadena corta producidos (McBurney and Thompson, 1990; Titgemeyer y col., 1991; Salvador y col., 1993).

Gran parte de la evidencia disponible indica que las personas que consumen alimentos ricos en FD (por ejemplo, cereal de grano entero, frutas, verduras, y frijoles) tienen una menor prevalencia de importantes factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, obesidad y diabetes mellitus tipo 2 (Bazzano y col., 2003; Liese y col., 2003). Recientes estudios, también apuntan a una relación inversa entre la ingesta de alimentos ricos en fibra y el desarrollo de enfermedad coronaria y accidente cerebrovascular (Diehr y Beresford, 2003).

La FD se pueden dividir en dos clases de acuerdo a su comportamiento al dispersarse en agua: una fracción soluble y una insoluble (Periago y col., 1993). Cada fracción tiene diferentes efectos fisiológicos (Schneeman, 1987). La parte insoluble se relaciona tanto con la regulación como con la absorción del agua intestinal, mientras que la fracción soluble es asociada con la reducción del colesterol en la sangre y disminución de la absorción de glucosa (Periago y col., 1993). En términos de beneficios para la salud, los dos tipos de fibra se complementan. Un 70 a 50% de la fracción insoluble y un 30 a 50% de la soluble se considera una proporción equilibrada (Schneeman, 1987). La FD de salvado de cereales es un ingrediente típico en los productos formulados con alto contenido de FD en alimentos, pero la presencia de FD soluble en los cereales es muy baja (Tabla 1.3). Éste no es el caso de frutas donde la relación entre las fracciones de FD soluble e insoluble es más equilibrada (Saura-Calixto, 1993). Por lo tanto, existe un creciente interés en la búsqueda de nuevas fuentes de FD como la de las frutas y en el desarrollo de productos alimenticios con contenidos altos en FD.

Tabla 1.3. Contenido de fibra dietaria de algunos subproductos vegetales (% base seca) de acuerdo a Grigelmo y col. (1999).

Origen de la fibra	Fibra dietaria total	Fibra dietaria insoluble	Fibra dietaria soluble
Salvado de maíz	87,87	87,47	0,40
Salvado de trigo	44,46	41,59	2,87
Salvado de avena	10,24	7,07	3,17
Bagazo de cebada	43,11	41,42	1,69
Concentrado de fibra dietaria de durazno	33,17	21,93	11,27

1.8. Situación actual sobre el consumo de fibra en el mundo.

La ingesta diaria de FD se ha recomendado desde hace muchos años, incluso en las directrices de la American Heart Association y el Institute of Medicine (USA), debido

principalmente a los beneficios cardiovasculares, y otros beneficios para la salud. Un reciente análisis que combina más de 10 estudios para hacer frente a las enfermedades cardiovasculares reveló resultados significativos sobre los efectos benéficos de la fibra en las enfermedades cardiovasculares por lo que muchas organizaciones médicas recomiendan hoy el aumento de fibra en la dieta diaria (King y col., 2012).

La ingesta recomendada de FD en el Reino Unido se ha fijado en 18 g por día. Ello es consistente con la reciente recomendación de la FAO / OMS; sin embargo ese valor es inferior a las recomendaciones dadas en otras partes del mundo. Las recomendaciones de ingesta de FD varían considerablemente en todo el mundo y han variado a través del tiempo, lo que refleja las diferencias en la forma en que se definen los valores de las dietas de referencia, a las consideraciones sobre la definición y a los métodos de análisis de FD. Aún con estas limitaciones, es evidente que la recomendación del Reino Unido se encuentra entre los más bajos del mundo. Los valores de referencia en otras partes del mundo están en los rangos de 25-35 g, pero en algunos casos, llegan a ser de hasta 40 g / día (Lunn y Buttriss, 2007; Buttriss y Stokes, 2008).

La ingesta recomendada de fibra total adecuada para los adultos es de 25 a 38 g / día (14 g / 1.000 kcal / día), según el Instituto de Medicina y el Departamento de Agricultura de EE.UU. Para las personas de 50 años o más joven, la recomendación diaria es de 38 g para los hombres y 25 gramos para las mujeres, mientras que para los hombres y mujeres mayores de 50 años de edad es 30 g y 21 g / día, respectivamente, debido a un menor consumo de energía promedio. Sin embargo, el consumo promedio en la mayoría de los informes ha sido mucho menor, entre 13 y 14 g / día (King y col., 2012). Importantes esfuerzos de salud pública se han centrado en el aumento de la ingesta de fibra en la última década (Lichtenstein y col., 2006).

Las tendencias en los últimos estudios de adherencia a los hábitos de vida saludables han observado disminuciones en el consumo de frutas y hortalizas (King y col., 2009). Poco se sabe acerca de los patrones de ingesta de FD, un nutriente importante que se asocia a un menor riesgo cardiovascular y más recientemente, a la reducción de la todas las causas de mortalidad (Park y col., 2011).

Es bien sabido que la FD de algunas frutas, contiene una mayor proporción de fibra dietaria soluble (FDS) y compuestos bioactivos asociados que los cereales, lo cual genera propiedades peculiares relacionadas con la salud gastrointestinal y la prevención de enfermedades crónicas (Spiller, 2001). La fibra dietaria antioxidante, se define como un producto natural que combina los efectos beneficiosos de la FD y antioxidantes naturales, tales como compuestos polifenólicos (Saura-Calixto, 1998). Por un lado, la

fibra dietaria antioxidante se puede utilizar como un suplemento dietario para mejorar la salud gastrointestinal y prevenir enfermedades cardiovasculares (Pérez y col., 2008) y, por el otro, como un ingrediente en alimentos con la finalidad de evitar la oxidación de lípidos (Sánchez y col., 2006).

1.9. La fibra y su funcionalidad en el ser humano

La fibra dietaria promueve efectos que incluyen la laxación y/o disminución de la colesterolemia y/o de la glucemia (AACC, 2001).

1.9.1. Los prebióticos

Gibson y col., (1995) han definido a un prebiótico como un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y / o actividad de uno o un número limitado de bacterias en el colon. Posteriormente, se estableció que existe la necesidad de establecer claros criterios para clasificar un ingrediente alimentario como prebiótico. Esta clasificación requiere una demostración científica de que el ingrediente: (1) resiste la acidez gástrica, la hidrólisis por las enzimas de un mamífero y la absorción gastrointestinal; (2) es fermentado por la microflora intestinal; 3) estimula selectivamente el crecimiento y/o actividad de las bacterias intestinales asociadas con la salud y el bienestar. La resistencia, primer criterio, no necesariamente significa que el prebiótico es completamente indigestible, pero debe garantizar que una cantidad significativa del compuesto esté disponible en el intestino (grueso) para servir como sustrato de fermentación. Este concepto implica que algunos componentes de la dieta son capaces de resistir la hidrólisis de las enzimas digestivas y/o no se absorben en la parte superior del tracto gastrointestinal incluyendo el intestino delgado. En efecto, estos compuestos deben pasar hacia el intestino grueso, donde se encuentra la mayor parte de la microflora intestinal. Una amplia variedad de carbohidratos de la dieta, especialmente almidón resistente, fibra dietaria y los oligosacáridos no digeribles que tienen tales características y proporcionan sustratos disponibles para la fermentación bacteriana en el colon. La fermentación colónica de hidratos de carbono (poli y oligosacáridos) "no digeribles" o "resistentes" desempeña un papel importante, rescatando parte de su energía, controlando el tiempo de tránsito, el volumen de las heces y la frecuencia de las deposiciones, influyendo sobre nutrientes, especialmente en la biodisponibilidad de minerales, en la producción de ácidos grasos de cadena corta, de los que se sabe que desempeñan papeles fisiológicos tales como el control de la motilidad de la mucosa y la proliferación de células epiteliales, modulando la actividad inmune y funciones endócrinas (Roberfroid, 2000).

Sin embargo, los prebióticos son más que hidratos de carbono "no digeribles" o "resistentes" porque, cuando alcanzan el intestino grueso, tienen allí un metabolismo específico, lo que permitiría en última instancia conducir a un cambio notable en la composición de la microflora colónica, por ejemplo, estimulando selectivamente el crecimiento de bacterias como las bifidobacterias que son generalmente reconocidas como benéficas para la salud. Los prebióticos también reducirán el número y la actividad de organismos potencialmente patógenos. Pero debido a que el contenido intestinal realmente no es accesible en humanos para el análisis microbiológico, la microflora fecal se usa como un marcador sustituto y el efecto prebiótico se demuestra evaluando los cambios en la composición de la microflora fecal (Roberfroid, 2002).

Como es el caso con otras fibras, los prebióticos como la inulina y la oligofructosa son resistentes a la digestión en la parte superior del tracto intestinal y posteriormente fermentan en el colon. Tienen un efecto de volumen debido al incremento en la biomasa microbiana que resulta de su fermentación. Desde una perspectiva cuantitativa, el efecto "bulking", expresado como el aumento de la masa fecal diaria, se ha informado que varía entre 1,5 y 2 g / g de inulina u oligofructosa ingerida (Gibson, 1995; Van Loo, 1999) y es del mismo orden de magnitud de los efectos observados con pectina y goma guar. Otro efecto típico de la fibra dietaria es un aumento en la frecuencia de las deposiciones, como se observó cuando se incorporó inulina a la dieta de humanos saludables pero ligeramente constipados (Klessen y col., 1997).

1.9.2. La fibra dietaria y su capacidad antioxidante

La creciente demanda de alimentos sanos y nutritivos ha hecho del análisis de nutrientes un área importante en los estudios de la calidad.

Frutos como el durazno se pueden considerar como una buena fuente de fitoquímicos tales como polifenoles, carotenoides y vitaminas, que contribuyen significativamente a su sabor, color y valor nutricional y funcional.

De Escalada Pla y col., (2012) observaron un contenido importante de polifenoles totales en muestras de durazno. Actualmente hay un interés considerable en estos compuestos por su actividad biológica, debido a sus propiedades antioxidantes y su capacidad para aliviar enfermedades crónicas (Gardner y col., 2000; Rice y col., 1997; Vinson y col., 1998). Los compuestos fenólicos, en particular, son conocidos por reducir la incidencia de las enfermedades coronarias y del cáncer, así como por actuar como antimicrobianos, antialérgicos, antimutagénicos y antiinflamatorios (Kim y col., 2003).

Un creciente conocimiento sobre el impacto en la salud de los antioxidantes presentes en los alimentos junto con el supuesto de que una serie de conservantes sintéticos comúnmente usados pueden tener efectos peligrosos, ha dado lugar a múltiples investigaciones en el campo de los antioxidantes naturales. Así, se puede citar la investigación sobre el uso de complejantes naturales de radicales, presentes en el extracto de té verde (Buetler y col., 2002) o sobre el uso como aditivos conservantes alimentarios de los extractos obtenidos a partir de plantas aromáticas como el romero y la salvia (Karpinska y col., 2000; Zupko y col., 2001). Las reacciones de oxidación no son una preocupación exclusiva de la industria alimentaria. (Peschel y col., 2006). Se observa el aumento de las investigaciones sobre el uso de polifenoles y flavonoides como ingredientes beneficiosos contra el envejecimiento y la foto-protección en productos cosméticos (Katiyar y Elmets, 2001; Lupo, 2001).

Es bien sabido que en la actualidad, la industrialización de alimentos y la producción agrícola generan cantidades sustanciales de residuos ricos en componentes fenólicos, que podrían ser valiosas fuentes de antioxidantes naturales, los cuales pueden ser empleados como ingredientes en productos formulados. Algunos de estos subproductos han sido objeto de investigación y han demostrado ser eficaces fuentes de antioxidantes fenólicos (Balasundram y col., 2006; Peschel y col., 2006). Estudios epidemiológicos han indicado que el consumo de frutas y verduras se asocia con una reducción del riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas, tales como las enfermedades cardiovasculares y el cáncer por la presencia de fitoquímicos presentes en frutas y verduras, incluyendo compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales serían los compuestos bioactivos más importantes que contribuyen a los precitados beneficios para la salud (Yang y col., 2004).

1.10. Composición y función de las paredes celulares

Gran parte de lo que llamamos fibra dietaria constituye las paredes primarias de las células vegetales (Englyst y col., 2007; Ha y col., 2000). Las paredes celulares son materiales poco convencionales. Sus estructuras, funciones y propiedades muestran una amplia y compleja variación biológica (Knox., 2008; Moller y col., 2007). Si queremos entender las paredes celulares en toda su variabilidad, un buen punto de partida es su funcionalidad biológica dentro de la planta viva (Somerville y col., 2004). Las paredes celulares primarias de las plantas tienen las siguientes funciones:

* Sostener la membrana celular y evitar que se rompa bajo la presión de turgor osmóticamente contenida dentro de la célula (Cosgrove, 2005; Fricke y col., 2000);

- Expandir, bajo presión de turgor, a una velocidad y dirección controlada y precisa que, en última instancia, definirá la contribución de la célula para el crecimiento y la formación de la planta (Boyer, 2009; Cosgrove, 2005);
- Cooperar con las células adyacentes que tienen similar presión de turgor para construir un tejido tridimensional mecánicamente competente (Niklas, 2004; Somerville y col., 2004).

Las paredes celulares secundarias están compuestas principalmente por celulosa y lignina y por otras moléculas que varían según la célula (cutina, suberina, sales minerales, etc). Son generalmente más gruesas y tienen una mayor masa de polímero por unidad de volumen, es decir, menor contenido de agua, que las paredes celulares primarias. Se han encontrado en muchas semillas y su rol de tipo mecánico es secundario a funciones de almacenamiento de energía. La abundancia de un determinado polisacárido de pared celular las identifica, variando de una especie a otra (Buckeridge y col., 2000; Crombie y col., 1998, 2002; Edwards y col., 1999).

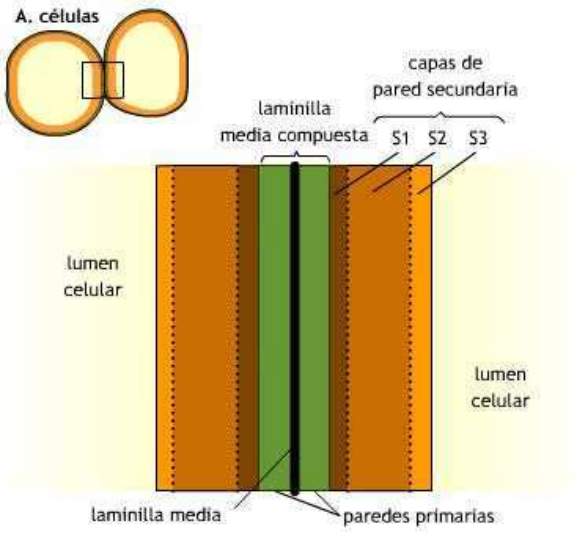

Figura 1.4. Esquema de la disposición de las paredes celulares. Adaptada de Moore y col. (1996).

1.10.1. Estructura de la pared celular primaria

Los polímeros que constituyen la pared celular primaria se clasifican normalmente de la siguiente forma:

1.10.1.1. Celulosa

Son cadenas de un glucano no ramificado con enlaces glucosídicos β(1,4), que forman microfibrillas mediante agregados por uniones puente hidrógeno cada una de 3 nm de diámetro aproximadamente (Jarvis., 2011).

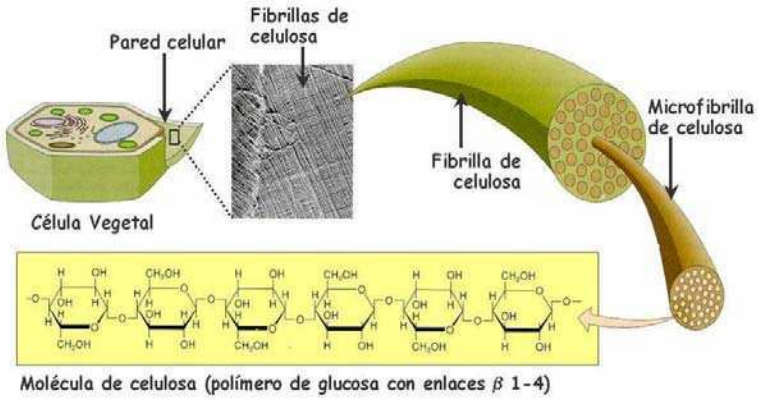

Figura 1.5. Esquema de la composición química de la celulosa y de la estructura de la pared. Adaptada de Moore y col. (1996).

1.10.1.2. Hemicelulosas

Los componentes de las hemicelulosas de la pared celular primaria, en la mayoría de las plantas, son xiloglucanos y glucomananos (Harris y Smith, 2006; Moller y col, 2007), sin embargo arabinoxilanos y glucanos mixtos de enlaces β, están presentes en los cereales (Cui y Wang, 2009) y un pequeño número de otras plantas como la palma.

La hemicelulosa tiene un cierto grado de semejanza conformacional con la celulosa y se encuentra unida a las microfibrillas de celulosa mediante uniones puente hidrógeno, probablemente en una forma similar a la agregación de las cadenas de celulosa (Jarvis, 2009).

1.10.1.3. Pectinas

Los polisacáridos del grupo péctico tienen como característica distintiva, que son cadenas de galacturonano con enlaces α(1,4), parcialmente metil esterificados (Mohnen, 2008). Asociados al galacturonano péctico están otros polímeros o segmentos de polímeros, entre los más abundantes se encuentra el ramnogalacturonano I, altamente ramificado el cual consta de una cadena principal de restos alternantes de galactosa y ramnosa que tiene unidas cadenas laterales de arabinanos mediante enlaces α (1,5) / (1,3), y galactanos mediante enlaces β (1,4) (Popper, 2008 ; Willats y col., 2006). Otro tipo de cadena péctica menos abundante es el ramnogalacturonano II, similar en composición al ramnogalacturonano I pero conteniendo azúcares poco comunes como la apiosa y la metilfucosa. (Nakamura y col., 2002; O'Neill y col., 2004; Willats y col., 2004).

En la figura 1.6 se observa la estructura de la pared celular, apreciándose la presencia de proteínas.

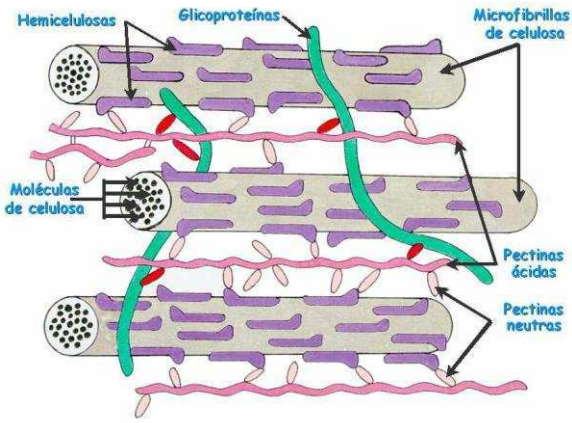

Figura 1.6. Esquema de la estructura de la pared. Adaptada de Moore y col. (1996).

1.11. Usos tecnológicos de la fibra dietaria

La FD proporciona otros beneficios además de los nutricionales ya que sus propiedades funcionales las vuelven importantes en distintos procesos tecnológicos. Los polisacáridos pueden estar naturalmente presentes o ser agregados a los sistemas alimenticios para controlar sus propiedades funcionales y proveer, por ejemplo, las texturas deseadas a los alimentos. Las propiedades funcionales dependen de la estructura, el peso molecular y la concentración de polisacáridos presentes (Wang y Cui, 2005). El aislamiento de productos enriquecidos en pectina a partir de los desechos de la industria alimentaria de origen vegetal constituye una alternativa interesante, ya que las pectinas son ampliamente utilizadas como modificadores de la textura en las industrias alimentaria y farmacéutica y, al mismo tiempo, también son reconocidas por su capacidad para retrasar la absorción de glucosa y la degradación enzimática de almidón (Fissore y col., 2011). Las principales propiedades que poseen están relacionadas con su solubilidad, capacidad viscosante, habilidad para formar geles, capacidad de retención de agua y de aceite, así como de unirse a minerales y moléculas orgánicas (Tungland y Meyer, 2002). Esto es importante en industrias, por ejemplo, de mermeladas, jaleas, dulces y otros productos donde el uso hidrocoloides como ingredientes es indispensable para la adecuada formulación de productos. El uso de FD de nuevas fuentes y la posibilidad de modificarlas mediante tratamientos enzimáticos ampliará el rango de aplicaciones posibles para la FD y proveerá herramientas para crear alimentos más saludables con características organolépticas mejoradas. (Laufenberg y col., 2003)

1.12. Propiedades de la fibra dietaria

Las propiedades físicas de la FD influyen en sus propiedades funcionales. Son necesarias, definiciones claras de las propiedades físicas y funcionales que son

nutricionalmente relevantes, para una mejor comprensión de los factores determinantes y de los métodos apropiados para su medición. Las propiedades funcionales también están relacionadas con la composición y la estructura química de los polisacáridos de vegetales. Procesos como el de secado pueden alterar las propiedades físico-químicas de los productos originales, modificando así sus propiedades funcionales (Femenia y col., 2000).

1.12.1. Tamaño de partícula y volumen aparente global

El interés en el conocimiento del tamaño de partícula se debe a que éste se encuentra controlando una serie de eventos que ocurren en el tracto digestivo (el tiempo de tránsito, la fermentación, la excreción fecal). El rango de tamaño de partícula involucrado depende del tipo de paredes celulares presentes en los alimentos y de su grado de procesamiento. El tamaño de partícula de la fibra puede variar en el tracto digestivo durante el tránsito, como resultado de la masticación, molienda en el estómago y la degradación bacteriana en el intestino grueso. Algunos componentes que intervienen en la cohesión de la matriz de fibra pueden ser solubilizados. La distribución del tamaño de partícula puede ser medido por diferentes métodos como tamizado o métodos basados en el cambio en la resistividad de un medio conductor o métodos ópticos tales como difracción láser, microscopía y análisis sistematizado de imágenes (Allen, 1989). Todos estos métodos se basan en principios diferentes y, por ello, presentarán valores diferentes para el mismo material, pero la clasificación para el rango de materiales se conservará. Todos los métodos tienen inconvenientes y limitaciones y no se recomienda un método en particular. Factores como la forma de las fibras, si es húmeda o seca, son de gran importancia ya que algunas fibras pueden hincharse en solución acuosa y, en consecuencia, aumentará su tamaño de partícula. La medición del tamaño de partícula en forma húmeda es más relevante cuando se evalúa el volumen aparente de la fibra en el tracto digestivo. En cualquier caso, cuando se informa valores de tamaño de partícula, el método utilizado y la forma de presentación de la fibra deben ser indicados.

1.12.2. Características del área superficial

La porosidad y la superficie disponible pueden influir en la fermentación de la FD (disponibilidad para la degradación microbiana en el colon), mientras que las características químicas de la capa superficial pueden desempeñar un papel importante en algunas propiedades fisicoquímicas (absorción o unión de algunas moléculas) que inciden en algunos efectos fisiológicos de la FD.

La porosidad y la superficie disponible para el desarrollo de las bacterias o para la actividad de las enzimas dependerán de la arquitectura de la fibra, la cual está

relacionada con el origen y su historia de procesamiento (Guillon y col., 1998). Las macromoléculas interactúan y se combinan dentro de las paredes celulares, pero también la cohesión del tejido influye en la porosidad de la matriz de fibra (poro grueso> 1 µm y microporo < 1µm). La porosidad será mayor en los tejidos de células con pocos puntos de unión que en los tejidos compuestos por células estrechamente unidas. No se sabe con precisión cómo los polisacáridos afectan la porosidad de la pared celular, aunque algunos autores (Carpita y col., 1979; Guillon y col., 1998) sugieren un papel importante de las pectinas.

La porosidad gruesa puede estimarse de manera aproximada por medición de la capacidad de sorción de agua a diferentes presiones de succión (Guillon y col., 1998; Robertson y Eastwood, 1980). Este método tiene limitaciones en cuanto a que requiere la aplicación de presiones y a que la eliminación de agua da como resultado una contracción de la matriz. Se pueden utilizar diferentes técnicas para evaluar la microporosidad: entre las cuales se encuentran las técnicas microscópicas que se basan en la observación de réplicas de las paredes fracturadas congeladas y su observación por microscopía electrónica (McCann y col., 1990).

1.12.3. Propiedades de hidratación

La capacidad de hidratación del material de la pared celular vegetal ha sido ampliamente estudiada en relación con las hipótesis sobre las propiedades fisiológicas de la FD. Ellas determinan, en parte, el destino de la FD en el tracto digestivo (inducción de fermentación) y dan cuenta de algunos de sus efectos fisiológicos (aumento del volumen fecal por parte de FD mínimamente fermentada). Las propiedades de hidratación de la fibra que se evalúan comúnmente son: la capacidad de retención de agua (WRC), el porcentaje de agua retenida (RW), la capacidad de atrapamiento de agua (WHC) y la capacidad de hinchamiento (SC). Estas propiedades proporcionan una visión general de la hidratación de la fibra, proveyendo información útil para los alimentos suplementados. La absorción de agua también proporciona información sobre el volumen de poros del sustrato. Todo ello ayudará a la comprensión del comportamiento de la fibra en los alimentos o durante el tránsito intestinal (Guillon y Champ, 2000).

1.12.4. Solubilidad

La solubilidad tiene profundos efectos sobre la funcionalidad de la fibra. También está bien establecido que los polisacáridos solubles viscosos pueden impedir la digestión y absorción de nutrientes del intestino.

La estabilidad relativa de las formas ordenadas y desordenadas determina si un polisacárido se disolverá o no. Si la estructura del polisacárido es tal que las moléculas

encajan en una matriz cristalina, el polímero es probable que sea energéticamente más estable en el estado sólido que en solución. Así, los polisacáridos lineales, tales como la celulosa con su conformación de cinta plana son insolubles, mientras que los polisacáridos con algunas irregularidades en su estructura, en la cadena principal o en las cadenas laterales, tienden a ser solubles (Guillon y Champ, 2000).

2. OBJETIVO

El objetivo de esta investigación fue:

Contribuir a la optimización del aprovechamiento de la materia prima frutihortícola, la disminución de la contaminación ambiental y la recuperación de valiosa biomasa.

El desarrollo de métodos de transformación de los residuos de la industrialización de *Prunus persica* L. por técnicas amigables con el medio ambiente y con el fin de obtener productos de mayor valor agregado tales como productos ricos en fibra dietaria.

El trabajo de investigación fue desarrollado analizando la influencia del tratamiento de obtención involucrado sobre las propiedades de hidratación, la capacidad de absorción de aceite, el rendimiento y el volumen específico de los productos enriquecidos en fibra obtenidos. Asimismo, se analizó la composición química, el tamaño de partícula y la estructura del producto obtenido con las condiciones de proceso óptimas y la incidencia de los mismos en las propiedades estudiadas.

CAPÍTULO II
MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES Y MÉTODOS

1.1. Reactivos

Para la preparación de todas las soluciones se utilizó agua desionizada (Milli-Q™). Los reactivos utilizados fueron de grado analítico marca Merck o Anedra (Argentina). Los reactivos utilizados como patrones fueron marca SIGMA (USA). El etanol utilizado para la extracción de la fibra fue de grado farmacopea.

1.2. Obtención de fracciones enriquecidas en fibra

Los productos enriquecidos en fibra, se obtuvieron a partir de duraznos (*Prunus pérsica* L.) frescos de la variedad Jungold, cultivados en la región de San Pedro, Buenos Aires, Argentina, los cuales fueron comprados en el mercado local. Se les extrajo el carozo, al igual que el jugo usando una juguera de uso doméstico (Philips, Argentina). Seguidamente, la cáscara y pulpa residual se trituraron con un molinillo de uso doméstico (Braun, Argentina) y se sometieron a una extracción con etanol (95 % v/v) en diferentes relaciones etanol/muestra según el diseño experimental (tabla 2.1), a una temperatura de extracción de 20,0°C por 15 minutos, utilizando un homogeneizador mecánico (Omni Mixer, USA) durante el tratamiento. Posteriormente, se filtró la mezcla para eliminar el etanol. El residuo obtenido fue sometido a una segunda trituración con igual equipo para facilitar el secado.

Las fracciones enriquecidas en fibra, se sometieron a deshidratación utilizando un equipo de microondas Ethos Plus (Milestone, Italia) trabajando a potencia máxima de 450 W y a diferentes temperaturas de muestra según el diseño experimental (tabla 2.1).

Se utilizó un programa de tratamiento basado en una rampa de 1 min para alcanzar la temperatura deseada, seguida de calentamiento a temperatura constante. Se programó el equipo para hacer intervalos de secado de 2 minutos y medio, más un minuto de ventilación y se registró la pérdida de peso, hasta obtener pesos constantes. Se consideró constancia de peso, cuando la diferencia de peso en el último intervalo fue menor del 10%. En el Anexo I de esta Tesis se adjunta información complementaria relativa al tratamiento de los datos experimentales de las corridas de secado.

Las fracciones obtenidas fueron molidas en un molinillo de uso doméstico (Braun, Argentina); posteriormente se tamizaron con una malla ASTM 40 con apertura de poro de 420 micrones. Las muestras de cada sistema, finalmente, se envasaron al vacío en bolsas Cryovac™ (Sealed Air Corporation; copolímero de cloruro de polivinilo y cloruro de polivinilideno) y se almacenaron en freezer (-18 °C) hasta su caracterización. Todas las determinaciones de las propiedades estudiadas se realizaron por triplicado.

1.3. Evaluación del rendimiento

El porcentaje de rendimiento de las fracciones enriquecidas en fibra se determinó como la relación de la cantidad de fibra seca resultante después del secado por microondas, respecto a la cantidad de cáscara y pulpa de durazno utilizada para la extracción.

$$Rendimiento\ (\%) = \frac{Fibra\ seca}{Cáscara\ y\ pulpa\ inicial} * 100$$

Donde *fibra seca*, *cáscara* y *pulpa inicial* son, respectivamente, la masa de fibra obtenida luego del secado y las masas de cáscara y pulpa usadas para la obtención de la fibra.

1.4. Propiedades de hidratación y de absorción de aceite

Existe una terminología unificada a nivel internacional para citar las propiedades de hidratación y de absorción de aceite que se basa en la expresión de sus nombres en inglés y son dichas siglas las que se utilizan en esta Tesis.

1.4.1. Capacidad de hinchamiento (Swelling capacity, SC)

Una cantidad de muestra seca de cada sistema con peso ≈0,1000 g, se colocó en una probeta graduada. Se agregaron 5 ml de agua y se lo dejó hidratar durante 18 horas a una temperatura constante de 25°C. Al cabo de este tiempo, se midió el volumen total alcanzado por la fibra hidratada (Robertson, 2000; Rhagavendra y col., 2004). El SC, se calculó según la siguiente expresión:

$$SC(ml/g) = \frac{V_h(ml)}{m_s(g)}$$

Donde V_h es el volumen ocupado por la muestra hidratada y m_s es el peso de la muestra seca.

1.4.2. Capacidad de atrapamiento de agua (Water holding capacity, WHC)

Una muestra seca de cada sistema de peso ≈0,1000 g, se colocó en un tubo de vidrio con marcación volumétrica y de fondo cónico. Se agregaron 5 ml de agua y se lo dejó hidratar durante 18 horas a una temperatura constante de 25ºC. Se dejó decantar, se separó el sobrenadante y la muestra fue transferida a un filtro de vidrio fritado (G4 IVA), previamente pesado, dejándola escurrir a presión atmosférica. Se registró el peso del residuo hidratado y se lo liofilizó para obtener, finalmente, el peso del residuo seco.

$$WHC\ (g/g) = \frac{m_h - m_s}{m_s}$$

Donde m_h es el peso del residuo hidratado y m_s es el peso del residuo seco

1.4.3. Capacidad de retención de agua (Water retention capacity, WRC) y porcentaje de agua retenida (Retention of water, RW)

Para esta determinación, se pesaron ≈ 0,065 g de muestra de fibra en un tubo eppendorf. Se hidrató con 2 ml de agua desionizada a 25°C durante 18 hs. Luego se centrifugó durante 30 min a 4800 RPM. Se separó el sobrenadante. Se pesó la fibra húmeda retenida en el filtro (R+W) y dicho *pellet* se sometió a liofilización. Luego, se pesó el residuo seco (R). De este modo:

$$WRC\ (g/g) = \frac{W}{R}$$

Donde W representa los gramos de agua y R representa los gramos de residuo seco.

Se calculó el RW porcentual como:

$$RW(\%) = \frac{W}{At} * 100$$

Donde RW es el porcentaje de agua retenida, W son los gramos de agua y At es el agua total agregada.

Complementariamente, la fracción de fibra soluble en agua, se determinó sobre el sobrenadante de la determinación anterior. El mismo se congeló y liofilizó determinándose el peso final de sólidos. Finalmente, la fracción soluble se calculó como:

$$Fracción\ soluble\ (\%) = \frac{M1}{M2} * 100$$

Donde M1 es la masa de sólidos en el sobrenadante y M2 es la masa de fibra pesada inicialmente en base seca.

1.4.4. Capacidad de absorción de aceite (Oil holding capacity, OHC)

La capacidad de absorción de aceite se midió mezclando en un tubo eppendorf, una muestra de ≈0,2000 g con 1 ml de aceite de girasol. Se mantuvo el contacto durante 18 horas a 25°C. Se centrifugó 5 minutos a 3600 RPM. Se descartó el sobrenadante y se pesó el pellet.

La capacidad de absorción de aceite se calculó como los gramos de aceite retenido por gramo de muestra.

1.5. Propiedades físicas

1.5.1. Tamaño de partícula

La distribución del tamaño de partícula puede ser medida por diferentes métodos: tamizado, métodos basados en la resistividad de un medio conductor o métodos ópticos (Difracción laser, microscopia y análisis computarizado de imagen).

La distribución del tamaño de las partículas de fibra se determinó a través de la dispersión de luz láser (Mastersizer 2000E ver. 5.20, Malvern, Worcestershire, UK) que producen las mismas estando en una suspensión de etanol de 96%v/v (Guillon y col., 1998). Cada determinación informa el promedio de diez mediciones.

1.5.2. Densidad

Para esta determinación se utilizaron probetas graduadas de 5 ml de capacidad. Las mismas se llenaron con una cantidad de muestra adecuada para ocupar el volumen de la probeta luego de impactar el fondo de la misma contra la mesada hasta obtener constancia del nivel de polvo. Posteriormente, se pesaron los tubos en una balanza analítica y la diferencia de pesos entre el tubo de la probeta cargada con la muestra y el tubo vacío permitió conocer la masa de la muestra.

Este parámetro se calculó como:

$$\rho\ (g/cm^3) = \frac{m}{V}$$

Donde ρ representa la densidad, m representa los gramos de muestra y V representa el volumen ocupado por dicha muestra.

1.5.3. Volumen específico

El volumen específico se determinó como la función inversa de la densidad:

$$V\ (cm^3/g) = \frac{1}{\rho}$$

1.6. Composición química

1.6.1. Humedad

La humedad se determinó en la muestra seca utilizando una masa de ≈ 0,5 g, mediante secado en una balanza infrarroja (analizador de humedad MB45 Ohaus Corporation, USA) hasta peso constante. La determinación se hizo, al menos, por duplicado.

Adicionalmente se determinó la actividad de agua (aw) de la muestra de fibra seca utilizando un higrómetro AQUA LAB Series 3 Quick (Start Decagon Devices, Inc., USA). Este ensayo se realizó, al menos, por duplicado.

1.6.2. Determinación de compuestos fenólicos

El contenido de fenoles totales fue determinado a través de los reactivos de Folin-Ciocalteu (Bunzel y col., 2000; Singleton y Rossi, 1965) después de la hidrólisis de la fracción de fibra para liberar grupos fenólicos vinculados. Brevemente, se describe a continuación. Una cantidad de ≈0,5500 g de muestra se mezcló con 30 ml de NaOH 2M y la solución se mantuvo durante 18-24 horas a temperatura ambiente (25°C), bajo vacío y al abrigo de la luz. Finalizada la hidrólisis alcalina, se agregó a cada muestra 5,7 ml de HCl (pH < 2).

Para la determinación de compuestos fenólicos no ferúlicos, se procedió de acuerdo con Budini y col. (1980); Parr y col. (1997). Una cantidad de ≈0,9000 g de muestra de fibra seca se mezcló con 50 ml de HCl (2 M) y se colocó en baño de agua caliente (90ºC) durante 30 minutos (las muestras permanecieron tapadas, durante la hidrólisis ácida). Finalizada la hidrólisis ácida y una vez enfriadas las muestras, los sobrenadante fueron separados por centrifugación. Todas las hidrólisis fueron realizadas, al menos, por duplicado.

Los sobrenadantes obtenidos de las hidrólisis alcalina y ácida, previamente descriptas, fueron separados por centrifugación y utilizados para evaluar el contenido de fenoles totales y no ferúlicos, respectivamente, utilizando la técnica de Folin-Ciocalteau. El contenido de fenoles totales fue informado como ácido gálico equivalente (AGE) de acuerdo con Shui y Leong (2006).Todos los ensayos se realizaron, al menos, por duplicado.

El contenido de fenoles no ferúlicos, fue calculado a partir de la diferencia matemática del contenido de fenoles totales en las fracciones correspondientes a la hidrólisis alcalina e hidrólisis ácida (Latorre y col., 2010).

1.6.3. Obtención del residuo insoluble en alcohol (Alcohol insoluble residue, AIR)

El residuo insoluble en alcohol o AIR, permite concentrar los componentes de la pared celular para realizar una caracterización adecuada de los mismos, de manera de conocer la composición de las fracciones en estos componentes.

El AIR se obtuvo de acuerdo con de Escalada Pla y col. (2010). Para ello, ≈10 g de las fracciones enriquecidas en fibra se mezclaron con 35 ml de solución de etanol al 95% v/v a ebullición y se homogeneizó con un agitador magnético, durante 15 min bajo agitación

constante. El residuo obtenido se siguió extrayendo con 35 ml de solución de etanol a ebullición al 80% v/v, 15 min y dos veces con 25 ml de solución de etanol en ebullición al 80% v/v, durante 15 min. Finalmente, el residuo insoluble se separó y se lavó con 10 ml de solución de etanol 80% v/v y con 10 ml de etanol al 95 % v/v. Entre cada tratamiento con etanol, la suspensión se filtró y se descartó el solvente. El material se dejó bajo campana durante toda la noche para la eliminación del etanol y fue finalmente liofilizado. Luego, el AIR se molió y tamizó (tamiz ASTM USA, malla 40) y se almacenó a -18ºC, envasado al vacío, en bolsas de Cryovac™ hasta los posteriores usos.

1.6.4. Caracterización química del AIR

Sobre el AIR obtenido se hicieron las determinaciones de: lignina, celulosa, hidratos de carbono totales no celulósicos (HC), ácidos urónicos y proteínas.

Para la determinación del contenido de lignina, celulosa, hidratos de carbono totales no celulósicos (HC) y ácidos urónicos, se realizó una serie de hidrólisis ácidas secuenciales de acuerdo a Ng y col (1998).

La determinación de la lignina se realizó dispersando ≈0,3 g de AIR en 2,08 ml de solución de ácido sulfúrico 72% p/p, durante 3 horas a temperatura ambiente. Se ajustó la concentración de esta dispersión a 1 M en ácido sulfúrico, agregando el volumen necesario de agua desionizada (≈ 25 ml), y cada muestra fue calentada a 100°C durante 2,5 horas en un baño de agua. Cada dispersión fue enfriada, centrifugada durante 10 min a 12000 g y, finalmente, se separó el sobrenadante. Se lavó el *pellet* tres veces con agua desionizada y finalmente se liofilizó. El residuo obtenido se pesó e informó como lignina.

Se llevó a cabo un segundo procedimiento con otra porción de ≈0,3 g de AIR, a la cual se le agregó 2,08 ml de solución 72% p/p de ácido sulfúrico; se dispersó el material e inmediatamente se agregó agua para alcanzar una dilución 1M seguida de calentamiento por 2,5 horas a 100ºC. El residuo final obtenido fue lavado tres veces con agua desionizada y posteriormente se liofilizó. El *pellet* pesado corresponde a celulosa y lignina. El sobrenadante se neutralizó cuidadosamente y sobre el mismo se determinó el contenido de hidratos de carbono totales no celulósicos (HC) por el método del fenol-sulfúrico (Dubois y col., 1956) usando glucosa como estándar y el contenido proteico mediante el método de Lowry y col. (1951) usando albúmina de suero bovino (BSA) como estándar.

El tercer procedimiento de hidrólisis se llevó a cabo con una nueva porción de ≈0,3g de AIR, la cual fue tratada según la técnica aplicada durante el segundo procedimiento pero en este caso, se procedió con una hora de calentamiento a 100ºC en un baño de agua.

Se separó el sobrenadante para la cuantificación del contenido de ácidos urónicos por el método espectrofotométrico reportado por Filisetti-Cozzi y Carpita (1991), usando ácido galacturónico como estándar.

El grado de metilación se evaluó a partir del método espectrofotométrico de metanol de acuerdo a Wood y Siddiqui (1971), previa saponificación de los ésteres correspondientes según Fissore y col. (2007). El grado de metilación (GM) se calculó como la relación porcentual entre el número de moles de metanol y el número de moles de ácido galacturónico (AGU) por gramo del AIR.

Los grupos acetilos se determinaron según el método de Naumenko y Phillipov (1992). El grado de acetilación (DA) se calculó como la relación porcentual entre los moles de grupo acetilo y los moles de HC en las muestras.

2. DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS USADAS EN LAS DETERMINACIONES QUÍMICAS

2.1. Determinación de carbohidratos totales

Los sobrenadantes neutralizados, obtenidos de las distintas hidrólisis ácidas (Item 1.6.4), fueron utilizados para cuantificar el contenido de hidratos de carbono según Dubois y col. (1956). Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica se tomó un volumen de 10µl de muestra previamente diluido (1/3) y se llevó a volumen final (2000 µl) con H_2O desionizada (Milli-Q^{TM}). Se agregaron 50 µl de la solución de fenol (Merck, Buenos Aires, Argentina) (80 % p/p), se homogeneizó y luego se agregaron 5000 µl de H_2SO_4 (c).

La solución se dejó enfriar y se homogenizó nuevamente. Finalmente se leyó la absorbancia a 490 nm. El color desarrollado es proporcional al contenido de azúcares presentes. Para la cuantificación se realizó una curva de calibración con una solución estándar de D-glucosa (0,00128 g de glucosa / 250ml).

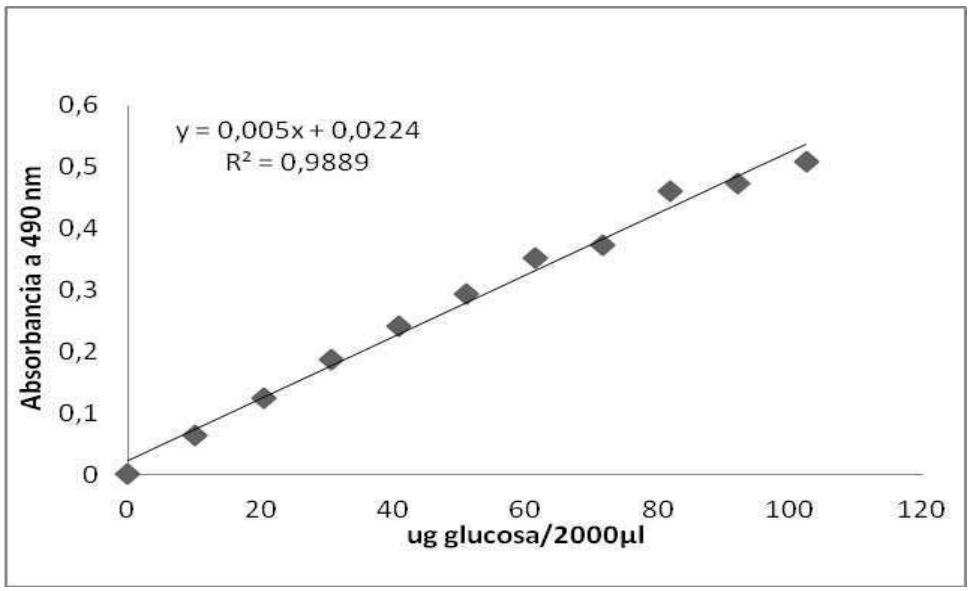

Figura 2.1. Curva de calibración para la determinación del contenido de carbohidratos totales

2.2. Determinación de ácidos urónicos

La determinación se realizó sobre el sobrenadante neutralizado, correspondiente al tercer procedimiento de hidrólisis ácida (Item 1.6.4) según el método de Filisetti-Cozzi y Carpita (1991). Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica se tomó una alícuota de 20µl de muestra y se llevó a volumen final (400 µl) con agua desionizada (Milli-Q^{TM}); se agregaron 40 µl de ácido sulfámico (4 M; pH=1,6). Luego se añadieron 2400 µl de la solución de tetraborato de sodio (0,075 M en solución en ácido sulfúrico concentrado) y se colocaron las muestras tapadas en un baño de agua a 100 ºC durante 20 minutos. La reacción se detuvo rápidamente colocando las muestras en un baño de agua con hielo. Se añadieron 80 µl de solución de m-hidroxidifenilo 0,15 % (p/v) en NaOH 0,5 % (p/v). A partir de los 10 minutos de contacto, el color se desarrolló completamente. La absorbancia fue leída a 525 nm.

La curva de calibración se llevó a cabo con una solución estándar de ácido D-galacturónico (AGU) conteniendo 0.0252 g AGU en 25 ml de solución.

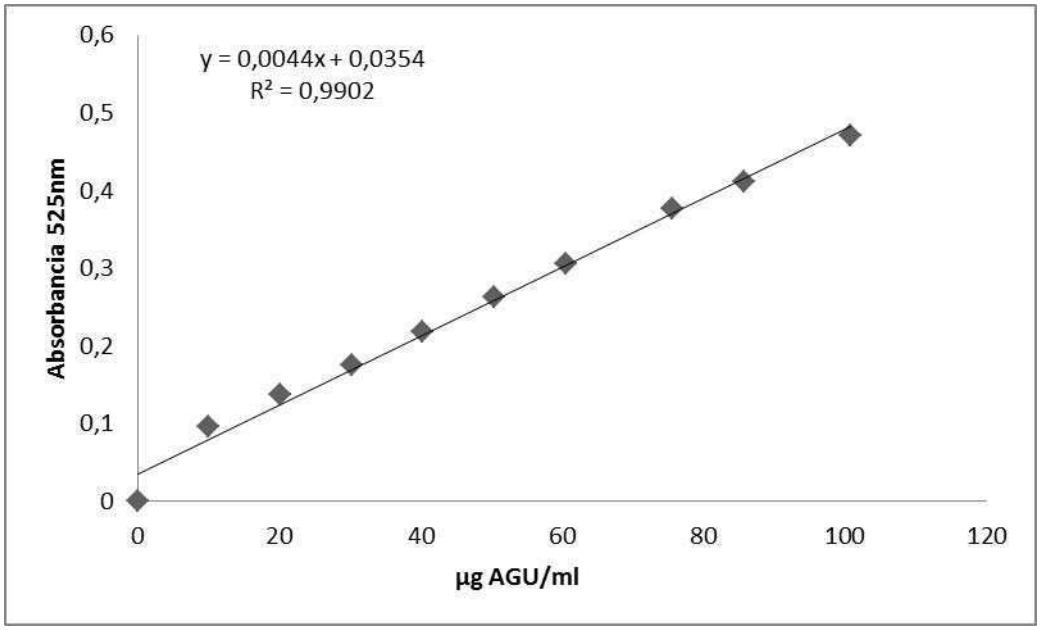

Figura 2.2. Curva de calibración para la determinación del contenido de ácidos urónicos

2.3. Determinación de proteínas

El contenido de proteínas fue determinado en los sobrenadantes neutralizados correspondientes a las hidrólisis ácidas (Item 1.6.4) de acuerdo con el método propuesto por Lowry y col. (1951). Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica: se tomó una alícuota de 50µl de muestra en una dilución 1:3 y se llevó a volumen final (100 µl) con agua desionizada (Milli-Q™) y se agregaron 1000 µl del reactivo A. Se colocaron las muestras tapadas en un baño de agua a 37 ºC y se mantuvieron durante 20 minutos; luego se retiraron del baño y se les agregó 100 µl del reactivo B. Nuevamente se colocaron las muestras en baño de agua a 37 ºC durante 20 minutos. Finalizado el tiempo de reacción se retiraron y se realizó la lectura a 660 nm a temperatura ambiente.

Los reactivos antes nombrados tienen la siguiente composición:

Reactivo A: Carbonato de sodio 2% (p/v) en solución de NaOH 0,1N; sulfato de cobre pentahidratado 1% (p/v) y tartrato de sodio y potasio 1% (p/v). Relación de mezcla de 100:1:1.

Reactivo B: Solución Folin Ciocalteau: agua desionizada Milli-Q™. Relación de mezcla (1:1).

La curva de calibración se realizó con una solución acuosa de albúmina de suero bovino o BSA (SIGMA Protein Standard; SIGMA, USA) en concentración de 400 µg BSA /ml.

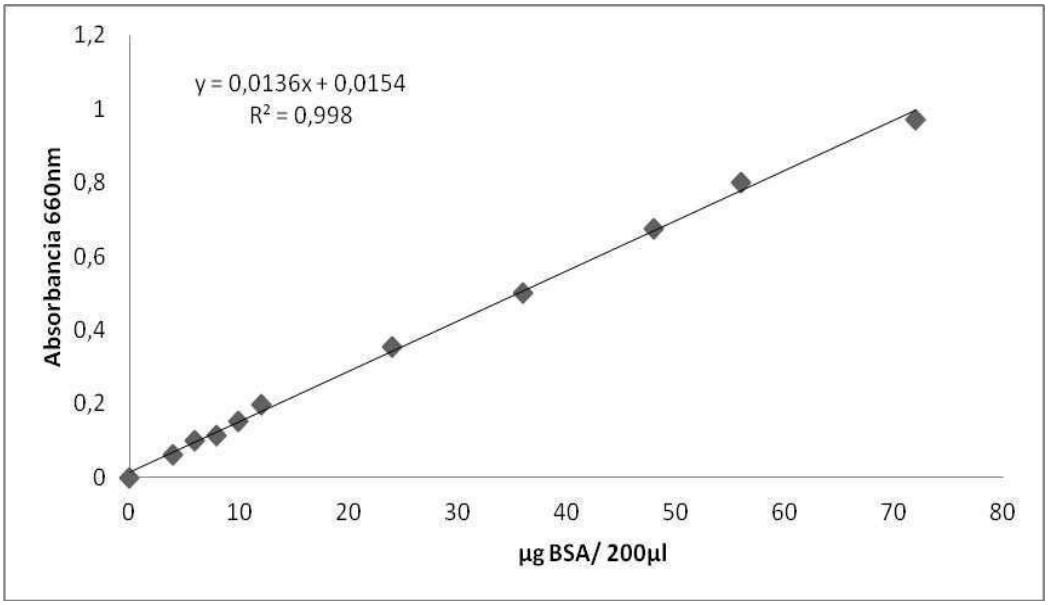

Figura 2.3. Curva de calibración para la determinación del contenido de proteínas

2.4. Determinación del grado de metilación

Se llevó a cabo una saponificación inicial de cada muestra previa a la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica.

Para la etapa inicial de saponificación de las muestras, se colocó una masa (≈ 0,028 g) de AIR en contacto con 10 ml de NaOH (0,5 N), en tubo falcon tapado y se homogeneizó cada 10 minutos durante el período de 1 hora a temperatura ambiente. Simultáneamente, se preparó un blanco de muestra (≈ 0,028 g) con 10 ml de agua desionizada MilliQ™. Luego los sobrenadantes fueron separados por centrifugación. Se tomó una alícuota de 500 µl del tubo testigo y se agregaron 250 µl de H_2SO_4 (5,5 N) y 250 µl de NaOH (1,5N); del blanco de muestra se tomó una alícuota de 500 µl y se le agregaron 250 µl de H_2SO_4 (5,5 N) y 250 µl de NaOH (1,5 N). Las muestras saponificadas y los blancos de muestra (muestras sin saponificar) pasaron luego a la etapa de la reacción colorimétrica.

Para la reacción colorimétrica y medición espectrofotométrica se agregó a cada muestra, 200 µl de $KMnO_4$ 2% (p/v) y se dejó enfriar las muestras durante 15 minutos en un baño de agua con hielo. Luego, se agregaron 200 µl de AsO_3H_2Na 0,5 M (solución en H_2SO_4 0,12 N) y 600 µl de agua desionizada (MilliQ™); se agitó vigorosamente y se dejó reaccionar durante el período de una hora a temperatura ambiente. Finalizado el tiempo de reacción se agregaron 2000 µl de una solución de 2,4-pentadiona 0,02 M disuelta en solución buffer acetato de amonio 2 M/ácido acético 0,05 M. Finalmente se colocaron las muestras en un baño de agua a 60 ºC durante 15 minutos; finalizado el tiempo de reacción, se retiraron las muestras y se colocaron en baño de agua fría con hielo para

detener la reacción. Una vez alcanzada la temperatura ambiente en las muestras, se leyó la absorbancia a 412 nm.

Para la determinación de concentración de metanol, se utilizó una curva de calibración de una solución estándar de metanol (86,9 μg CH_3OH/ ml H_2SO_4 1N).

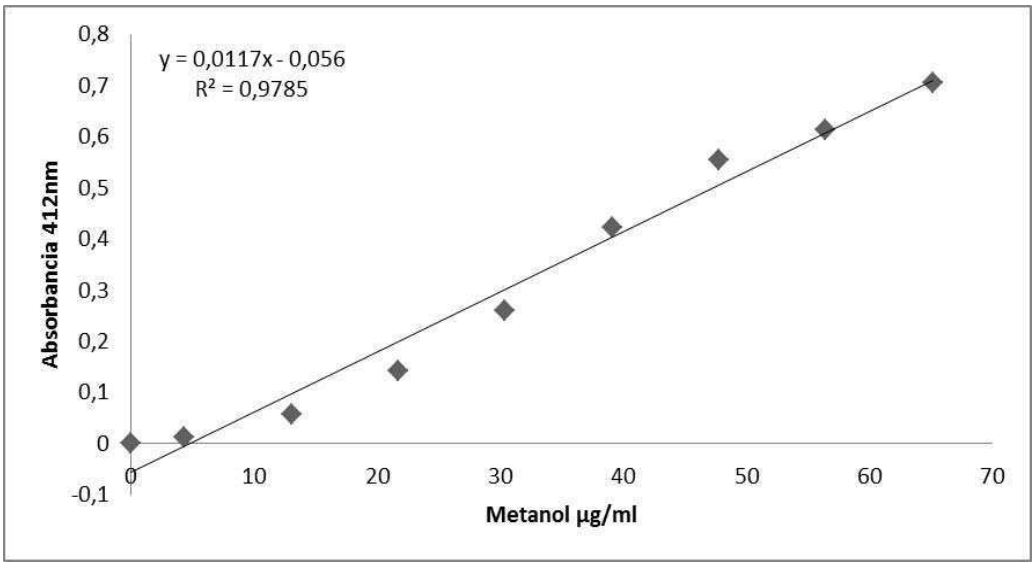

Figura 2.4. Curva de calibración para la determinación del contenido de metanol.

2.5. Determinación del grado de acetilación

Los grupos acetilos fueron determinados según el método de Naumenko y Phillipov (1992). El grado de acetilación (GA) se calculó como la relación porcentual del número de moles de acetilo y número de moles de HC.

Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica, se tomó una masa adecuada de muestra (≈ 0,1418g) y se agregaron 5000 μl de una mezcla de clorhidrato de hidroxilamina (0,125 M) y NaOH (0,25 M) en relación (1:1). La suspensión se agitó durante 1 hora. De la solución obtenida se tomaron 1000 μl, se agregaron 1000 μl de HNO_3 0,125M y 3000 μl de una solución de $Fe(NO_3)_3$ 0,01 M; se agitó y se dejó en reposo 10 minutos a temperatura ambiente para asegurar el desarrollo completo de la reacción. Se leyó la absorbancia de la solución coloreada obtenida a 495 nm. Se utilizó como blanco de reacción un volumen de 1000 μl de una mezcla de clorhidrato de hidroxilamina (0,125 M) y NaOH (0,25 M) (relación 1:1), 1000 μl de HNO_3 (0,125 M) y 3000 μl de $Fe(NO_3)$ (0,01 M).

Para la curva de calibración se usó como estándar pentaacetato de glucosa (0,027 g/25ml) (SIGMA, USA).

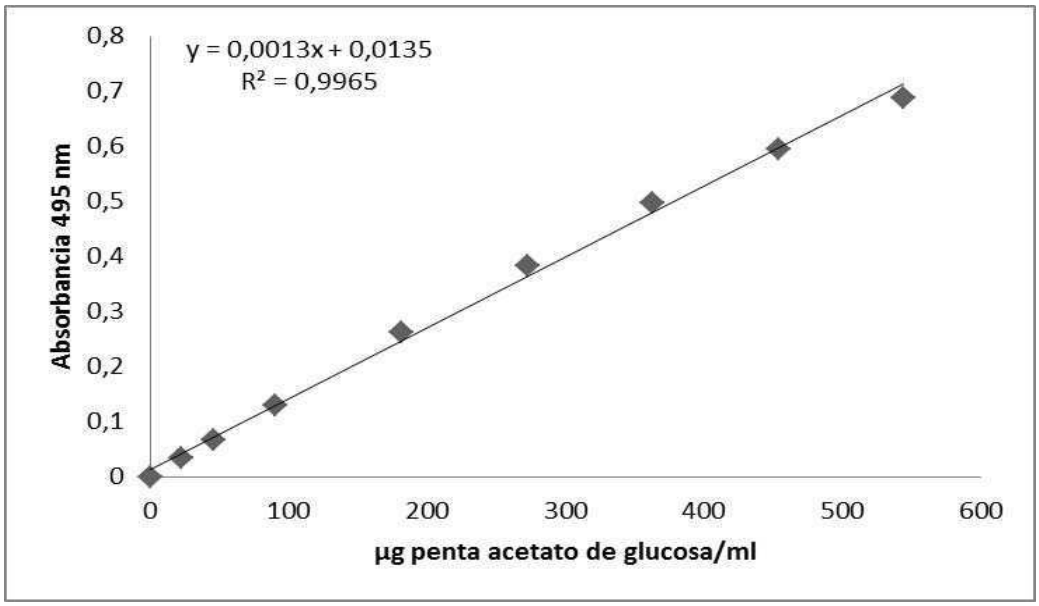

Figura 2.5. Curva de calibración para la determinación del contenido de acetilos

2.6. Determinación de compuestos fenólicos de la pared celular

Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica, se tomaron 40 µl de las muestras sometidas a hidrólisis adecuadas (Item 1.6.2) y se agregaron 1800 µl de una mezcla de reactivo Folin Ciocalteau y agua desionizada Milli-Q^{TM} (relación 1:10). Se agitó y se dejó reaccionar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Luego se agregaron 1200 µl de una solución de $NaHCO_3$ 7,5 % (p/v) y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora. Finalizada la reacción y completado el desarrollo del color, se evalúo la absorbancia a 765 nm.

Para la curva de calibración se usó como estándar una solución de 2 mg/ml de ácido gálico (Anedra, Argentina).

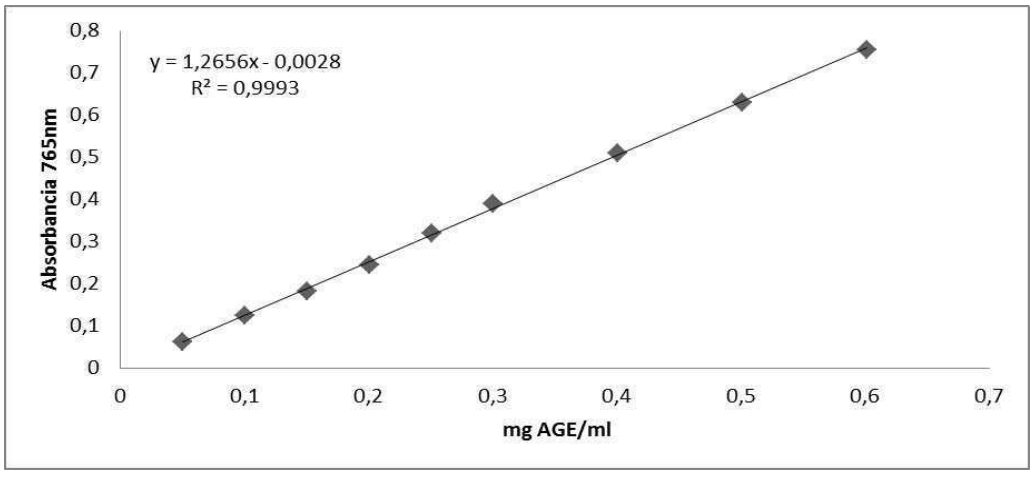

Figura 2.6. Curva de calibración para la determinación del contenido de fenoles. AGE: ácido gálico equivalente

3. CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA

Una porción de muestra de FD se analizó microscópicamente. Las imágenes de las muestras preparadas se tomaron usando un microscopio XL30-ESEM Philips de barrido electrónico, con una aceleración de voltaje de 20,0 KV y bajo vacío.

4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La influencia de la relación etanol/muestra y temperatura de secado en las propiedades, fue estudiada modulando dichas variables a través de un diseño central compuesto (CCD) de dos factores (relación etanol/muestra y temperatura de secado), con cinco niveles por factor (Montgomery, 2008), que se detalla en la tabla 2.1. Los niveles fueron definidos tomando como base trabajos previos (de Escalada Pla y col., 2010; González y col., 2010, Sette y col., 2011). Los puntos centrales se llevaron a cabo por triplicado.

Las respuestas (variables dependientes) analizadas para el diseño experimental fueron las propiedades de hidratación (WRC, WHC, RW, SC), la fracción soluble en agua, la capacidad de absorción de aceite (OHC), el rendimiento y el volumen específico.

Para el estudio se utilizó la metodología de superficie de respuesta (RSM) que es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas para el modelado y análisis de problemas en los cuales la respuesta de interés es afectada por diferentes variables y el objetivo es optimizar la respuesta (Montgomery, 2008). En general, la relación entre la respuesta de interés y las variables es desconocida pero puede ser aproximada por un modelo polinómico de bajo grado.

De acuerdo a lo antedicho, se ajustaron los datos experimentales a una función polinomial de segundo grado y se estimaron los coeficientes de la misma:

$$\psi = B_0 + B_1 x_1 + B_2 x_2 + B_{11} x_1^{\,2} + B_{22} x_2^{\,2} + B_{12} x_1 x_2$$

Donde ψ es la variable dependiente genérica examinada (respuesta); x_1 y x_2 son las variables independientes (relación etanol/muestra y temperatura); B_0 es el valor de la respuesta ajustada del punto central del diseño (0, 0); B_1 y B_2 son los coeficientes lineales de la regresión; B_{11} y B_{22} son los coeficientes cuadráticos de la regresión y B_{12} es el coeficiente del término de interacción entre las variables independientes.

Para evaluar la adecuidad del polinomio propuesto y la significancia de los parámetros del polinomio, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) estimando el coeficiente de determinación (R^2) y la falta de ajuste (P).

El análisis por superficie de respuesta se desarrolló mediante el estudio de la superficie ajustada para cada variable dependiente y se evaluó el valor óptimo de las mismas utilizando el procedimiento de la función deseabilidad (Barros Neto y col., 2003). Este procedimiento ha sido usado exitosamente como herramienta para establecer la composición óptima de una mezcla o las condiciones óptimas de proceso en distintas investigaciones (Puttongsiri y Haruenkit, 2010; Rahman y col., 2010).

Después de obtener y analizar los primeros resultados se incluyeron dos sistemas adicionales (sistemas 12 y 13) para retroalimentar el diseño inicial y con criterios a explicar en la sección de Resultados y discusión (Capítulo III). De ese modo, se pudo mejorar la evaluación de la relación etanol/muestra y temperatura de secado que optimizasen las propiedades de las muestras estudiadas. A posteriori, se caracterizó la fracción obtenida utilizando las condiciones óptimas determinadas de extracción y secado. Para ello, sobre el producto obtenido con dichas condiciones, se analizaron las propiedades de hidratación, la capacidad de absorción de aceite, el rendimiento y el volumen específico de la fibra de manera de verificar experimentalmente los resultados estadísticos. Adicionalmente, se realizó un análisis de la composición química, caracterización microscópica y de distribución del tamaño de las partículas de la muestra obtenida, de manera de complementar el análisis del producto.

Tabla 2.1. Niveles de los factores utilizados en el diseño experimental.

SISTEMA	Relación etanol/muestra (ml/g)	Temperatura de secado (°C)	Relación etanol/muestra codificada	Temperatura de secado codificada
1	5,0	70,0	+1	+1
2	5,0	50,0	+1	-1
3	3,0	70,0	-1	+1
4	3,0	50,0	-1	-1
5	4,0	60,0	0	0
6	4,0	40,0	0	-2
7	4,0	80,0	0	+2
8	2,0	60,0	-2	0
9	6,0	60,0	+2	0
10	4,0	60,0	0	0
11	4,0	60,0	0	0

El diseño experimental y su correspondiente análisis estadístico así como todo el tratamiento estadístico de datos se llevaron a cabo utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XV (V. 15.2.06, 2007).

CAPITULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. DESARROLLO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

El primer paso en el estudio fue el desarrollo del diseño experimental, para lo cual se utilizaron distintas relaciones etanol/muestra para la extracción de productos enriquecidos en fibra a partir de la materia prima, los cuales fueron secados con radiaciones de microondas a distintas temperaturas informadas en el capítulo II de esta Tesis. Ello condujo a la obtención de diversas fracciones que fueron caracterizadas evaluando las variables dependientes: propiedades de hidratación (WRC, WHC, RW, SC), la fracción soluble, la capacidad de absorción de aceite (OHC), el rendimiento y el volumen específico.

Los resultados de las mediciones obtenidas para todas las propiedades estudiadas en las fracciones, se resumen en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Respuestas del diseño experimental

Etanol/muestra (ml/g)[1]	Temperatura secado (°C)	WRC (g/g)[2]	RW (%)[3]	WHC (g/g)[4]	SC (ml/g)[5]	OHC (g/g)[6]	Volumen Específico (cm^3/g)	Rendimiento (%)	Fracción soluble (%)
5,0	70,0	19,1	46	31	25,4	1,46	2,30	5,3	14
5,0	50,0	23	58	41	33	1,7	2,30	5,1	14
3,0	70,0	21	49	36,7	29,35	1,89	2,82	5,9	12
3,0,	50,0	17,3	44	37,4	26,4	1,22	2,03	5,2	16
4,0	60,0	23,5	53,5	36,1	30	1,75	2,73	6,2	12
4,0	40,0	19	49	38	25	1,25	2,06	5,0	13
4,0	80,0	22,3	56	35,1	28,6	1,77	2,44	5,3	11
2,0	60,0	20	44	34	21,6	1,24	2,56	7,3	18
6,0	60,0	21	51,6	36	29,2	1,32	2,02	5,7	14
4,0	60,0	22,2	53	34	31,5	2,05	2,85	6,5	12
4,0	60,0	22,1	55	35	32,1	1,98	2,85	5,9	10,2

[1]Relacion etanol/muestra: ml de etanol por gramo de muestra.
[2]Capacidad de retención de agua: gramos de agua retenida después de la centrifugación por gramo de masa seca.
[3]Porcentaje de agua retenida: gramos de agua retenida después de la centrifugación por 100 gramos de agua añadida.
[4]Capacidad de atrapamiento de agua: gramo de agua retenida por gramo de masa seca.
[5]Capacidad de hinchamiento: ml de volumen de fibra hidratada por gramo de masa seca.
[6]Capacidad de retención de aceite: gramos de aceite retenido por gramo de masa seca.
En el Anexo II se informa la tabla completa con el desvío estándar para cada valor.

Para la evaluación del efecto de los factores relación etanol/muestra y temperatura de secado sobre las variables dependientes, se utilizó la metodología de superficie de respuesta (RSM). En la tabla 3.2 se resumen los resultados del análisis mediante RSM, mostrando los coeficientes del polinomio de segundo grado propuesto para describir la superficie, la significancia de cada efecto, el R^2 y el valor P correspondiente a la prueba de falta de ajuste.

Los niveles de significancia evaluados para los coeficientes fueron 0,1, 0,05 y 0,01 siendo aceptado el modelo matemático cuando tuvo, al menos, un efecto significativo. De acuerdo a ello, se observa que todas las respuestas ajustan al modelo propuesto. Adicionalmente, todos los R^2 presentan valores superiores al 70% y no se observa falta de ajuste ya que el valor P es superior a 0,05 (Barros Neto y col., 2003) en todos los casos. Por lo tanto, se puede formular una ecuación matemática para predecir la respuesta esperada a condiciones de temperatura y relación etanol/muestra en el rango evaluado.

Tabla 3.2. Coeficientes correspondientes a los términos del polinomio.

COEFICIENTE	WRC (g/g)	RW (%)	WHC (g/g)	SC (ml/g)	OHC (g/g)	Volumen Específico (cm3/g)	Rendimiento (%)	Fracción Soluble (%)
constante	-57,45	-95,3	-0,1694	-102,8 **	-10,83	-9,22 **	-3,37	70,23
TÉRMINOS LINEALES								
A:Etanol	16,81	39,75 **	14,17	29,08 **	2,72	2,08 **	-0,4256 *	-16,13
B:Temperatura	1,45	2,07	0,3658 **	2,41	0,2293	0,2549 **	0,3490	-0,7471
TÉRMINOS CUADRÁTICOS								
AA	-0,5214	-1,485 **	-0,0979	-1,46 **	-0,1595 **	-0,1259 **	0,0974	1,11 **
BB	-0,0048	-0,0025	0,0032	-0,0111 **	-0,0010	-0,0014 **	-0,0024 *	0,0020
INTERACCIÓN DE TÉRMINOS								
AB	-0,2046 **	-0,4259 **	-0,2205 **	-0,2652 **	-0,0237 *	-0,0197 **	-0,0115	0,1097
EVALUACIÓN DE AJUSTE								
R^2	74,84	77,10	71,28	85,77	93,01	87,94	72,74	80,42
Falta de ajuste (P)	0,1849	0,0776	0,1583	0,1557	0,8417	0,1065	0,1714	0,3530

Niveles de significancia para el sistema: *α: 0,1; **α: 0,05; ***α: 0,01

1.1. Análisis de las propiedades de hidratación, absorción de aceite, físicas y químicas

Las propiedades de hidratación, retención de grasa o aceite, características de superficie y porosidad, tamaño de partícula y volumen específico de la fibra dietaria son estudiadas por su influencia en los efectos fisiológicos y / o funcionalidad tecnológica de la fibra (Guillon y Champ, 2000).

Muchos de los métodos utilizados para evaluar las propiedades de la fibra fueron desarrollados y aplicados hace décadas. Sin embargo, las modificaciones posteriores y las diferentes condiciones de los distintos estudios limitan la comparación entre ellos. Es importante destacar que la consistencia de la terminología y de los métodos es importante cuando se comparan las propiedades y cuando se evalúan los efectos de los tratamientos tecnológicos sobre la modificación de las mismas (Tosh y Yada, 2010).

Todas las propiedades objetivo de esta investigación se evaluaron por el método de RSM. Para la optimización de cada propiedad se pidió maximizar cada una de ellas dado la importancia que ellas tienen para la funcionalidad de las fracciones.

1.1.1. Volumen específico

De acuerdo con la tabla 3.2, el R^2 estadístico fue de 87,94, lo que indica que el modelo propuesto así ajustado explica el 87,94% de la variabilidad del volumen específico. El valor P de falta de ajuste, fue de 0,1065, un valor mayor que 0,05, por lo tanto el modelo resultó adecuado para los datos observados con un nivel de confianza del 95%. Tanto en esta tabla como en el diagrama de Pareto estandarizado (figura 3.1), se observa que son significativos al nivel de 0,05 todos los efectos lineales, cuadráticos y la interacción entre la relación etanol/muestra (A) y la temperatura de secado (B).

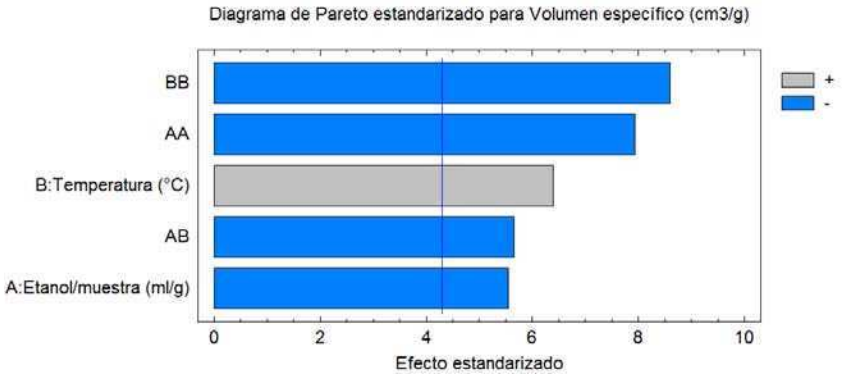

Figura 3.1. Diagrama de Pareto Estandarizado para el volumen especifico. Nivel de significancia de 0,05.

En el gráfico de Pareto el efecto lineal debido al factor etanol/muestra resulta negativo, mientras que el coeficiente del término lineal del polinomio que representa la superficie de respuesta resulta positivo. Esto se debe a que los efectos estandarizados mostrados en el gráfico de Pareto reflejan la influencia estadística de la relación etanol/muestra en el volumen específico calculado con los valores codificados. El polinomio propuesto, en cambio, provee un modo de cálculo de la respuesta en función de las variables, que a los fines prácticos, fue ajustado con los valores reales (sin codificar).

En la figura 3.2 se observa la superficie de respuesta obtenida para el volumen específico.

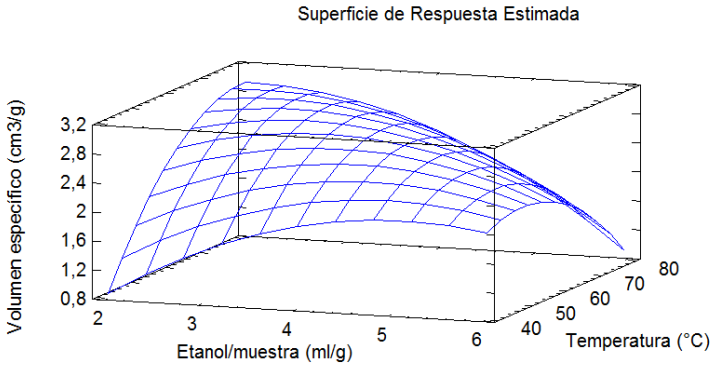

Figura 3.2. Superficie de respuesta, representando el efecto de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado con microondas sobre el volumen específico.

Se observó una evidente tendencia a bajas relaciones etanol/muestra, hacia el aumento del volumen específico de las muestras a medida que aumenta la temperatura de secado. A altas relaciones etanol muestra, la tendencia es inversa. A su vez, en el rango de variables de trabajo, se observa que a las más bajas temperaturas, se incrementa el volumen específico con el incremento de la relación etanol/muestra, observándose el efecto inverso a las altas temperaturas. La significancia de los términos cuadráticos de los dos efectos principales (figura 3.1) se corresponde con la evidente curvatura de la superficie de respuesta.

De acuerdo a la tabla 3.2, el polinomio que describe la ecuación de regresión del modelo ajustado, para el volumen específico es:

Volumen específico = -9,22 + 2,08 A + 0,2549 B - 0,1259 A^2 – 0,0014 B^2 - 0,0197A B

Los valores de las variables que optimizaron el volumen específico se estimaron en 2,1 ml de etanol por gramo de muestra y en una temperatura de 78,2°C. El valor máximo estimado fue de 2,96 cm^3/g.

1.1.2. Fracción soluble

El ajuste de los datos experimentales al polinomio propuesto se observa en la Tabla 3.2. El R^2 tomó un valor de 80,42, lo que significa que el modelo, así ajustado, explica un 80,42% de la variabilidad en la fracción soluble. En cuanto a la falta de ajuste, el valor P fue de 0,3530, un valor mayor que 0,05. Por lo tanto el modelo resultó adecuado para los datos observados con un nivel de confianza del 95%. Tanto en esta tabla como en el diagrama de Pareto estandarizado (figura 3.3), se observa que es significativo al nivel de 0,05 el efecto cuadrático de la relación etanol/muestra.

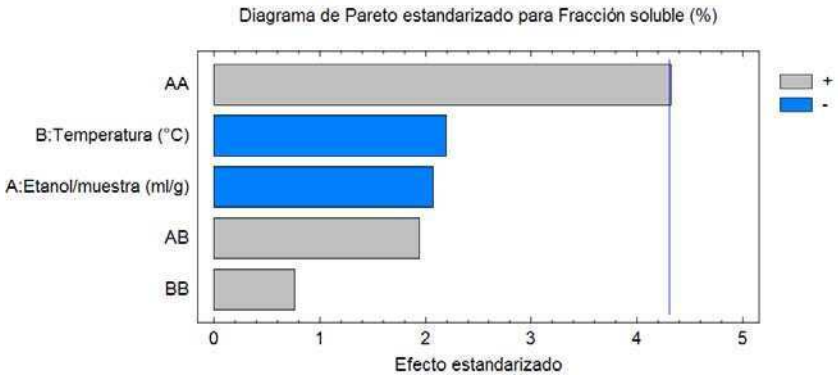

Figura 3.3. Diagrama de Pareto Estandarizado para la fracción soluble. Nivel de significancia de 0,05.

En la figura 3.4 se observa la superficie de respuesta obtenida para esta propiedad.

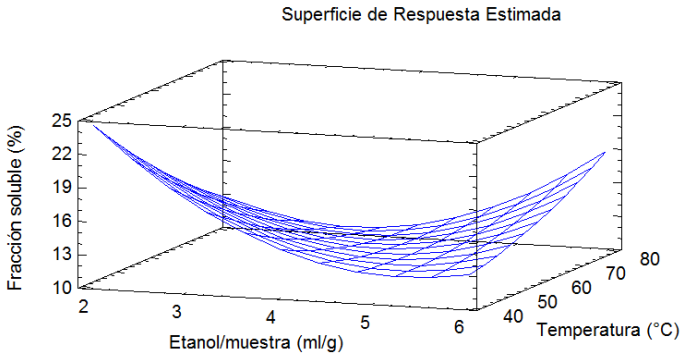

Figura 3.4. Superficie de respuesta, representando el efecto de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado con microondas sobre la fracción soluble.

La superficie de respuesta muestra un incremento de la fracción soluble con el descenso de la temperatura a bajas relaciones etanol/muestra. La tendencia es inversa con la temperatura a altas relaciones etanol/muestra. Por otra parte, a baja temperatura se observa un incremento de la fracción soluble con el descenso de la relación etanol/muestra; la tendencia es inversa a las altas temperaturas.

Cabe aclarar que el porcentaje de fracción soluble probablemente esté evaluando componentes solubles en agua tales como oligosacáridos o péptidos que puede llegar a tener una muestra tratada bajo las condiciones de aislamiento de nuestras fracciones. Queda para otra investigación futura hacer la caracterización de los componentes que constituyen esta fracción soluble en agua pero se supone que sus componentes enriquecen la composición y funcionalidad de las fracciones y por ello interesa su maximización.

De acuerdo a la tabla 3.2, el polinomio que describe la ecuación de regresión del modelo ajustado, para la fracción soluble es:

$$\text{Fracción soluble (\%)} = 70{,}23 - 16{,}13\ A - 0{,}7471\ B + 1{,}11\ A^2 + 0{,}0020\ B^2 + 0{,}1097\ A\ B$$

Los valores de las variables independientes que maximizaron la fracción soluble fueron una relación etanol/muestra de 2,0 ml/g y una temperatura de secado de 40,0 ℃. El valor optimizado para esta propiedad fue 24,46% de fracción soluble en agua.

1.1.3. Capacidad de absorción de aceite (OHC)

En la tabla 3.2 se observa que el polinomio propuesto ajusta adecuadamente los datos experimentales de OHC ya que el R^2 fue de 93,01. Esto nos dice que que el modelo, así ajustado, explica un 93,01% de la variabilidad del OHC. En cuanto a la falta de ajuste, se obtuvo un valor de P de 0,8417, mayor de 0,1, lo que indica que el modelo es adecuado para los datos observados a un nivel de confianza del 90%.

La figura 3.5 muestra en el diagrama de Pareto, los efectos más importantes para el OHC con un nivel de significancia de 0,1. En este gráfico se observa que existen dos efectos significativos, el efecto cuadrático de la relación etanol/muestra y el efecto de interacción de los dos efectos principales. La afectación es de forma negativa. Análogos resultados se observaron para los coeficientes del polinomio (tabla 3.2)

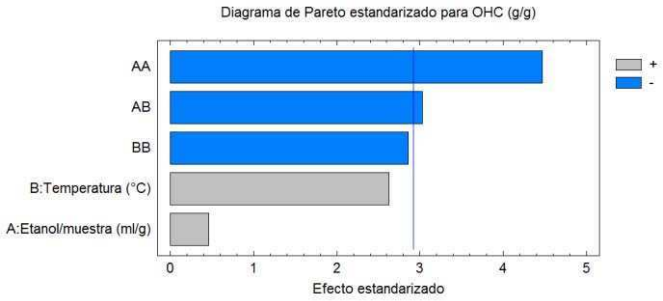

Figura 3.5. Diagrama de Pareto Estandarizado para OHC. Nivel de significancia de 0,1.

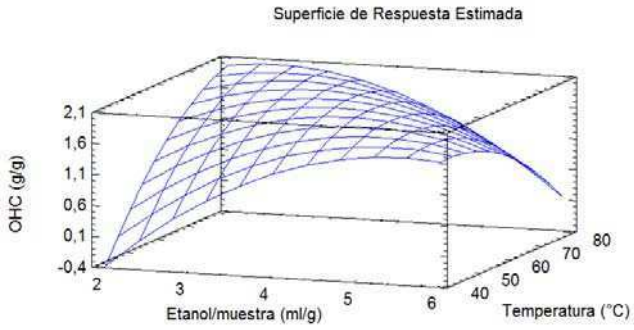

Figura 3.6. Superficie de respuesta, representando el efecto de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado con microondas sobre la capacidad de absorción de aceite.

La figura 3.6 muestra la superficie de respuesta para OHC, se observa que para valores bajos de la relación etanol/muestra, se produce un aumento de OHC con el aumento de la temperatura y que la tendencia con la temperatura se invierte para valores altos de la relación etanol/muestra. Por otra parte, a bajas temperaturas aumenta OHC con el aumento de la relación etanol/muestra y la tendencia con esta relación se invierte a altas temperaturas. En este caso, el valor negativo del coeficiente de interacción entre la relación etanol/muestra y la temperatura, estaría vinculado a estas tendencias.

Esta propiedad presentó una tendencia similar a la observada para el volumen específico. A temperatura alta y baja relación etanol/muestra, las fracciones de fibra tienden a mostrar mayores valores para OHC.

El polinomio que describe la ecuación de regresión del modelo ajustado, para la capacidad de absorción de aceite es:

$$OHC = -10,83 + 2,72\ A + 0,2293\ B - 0,1595\ A^2 - 0,0010\ B^2 - 0,0237\ A\ B$$

Los valores que maximizaron OHC, fueron 2,6ml de etanol por gramo de muestra y 80,0°C. El valor máximo estimado para dichas condiciones fue 2,04 g/g.

1.1.4. Rendimiento

En la tabla 3.2 se observa que el polinomio propuesto ajusta adecuadamente los datos siendo el R^2 de 72,74, lo que nos dice, que este modelo así ajustado, explica 72,74% de la variabilidad del rendimiento de las fracciones enriquecidas en fibra. En cuanto a la falta de ajuste, el valor P toma un valor de 0,1714 o sea mayor que 0,1 lo que indica que el modelo propuesto resultó adecuado para los datos observados con un nivel de confianza del 90%.

La figura 3.7, muestra el grafico de Pareto estandarizado y se puede observar que los efectos significativos sobre la respuesta fueron la relación etanol/muestra y el efecto cuadrático de la temperatura, ambos afectando de forma negativa. En la tabla 3.2 se observa que los coeficientes correspondientes son significativos al nivel del 0,1.

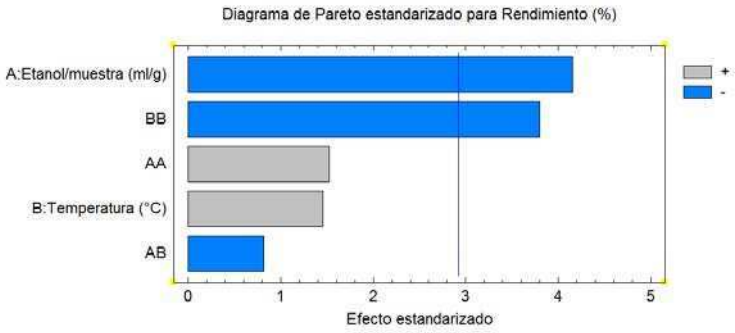

Figura 3.7. Diagrama de Pareto Estandarizado para el rendimiento. Nivel de significancia de 0,1.

En la figura 3.8 se observa la superficie de respuesta para el rendimiento, pudiéndose ver que el mismo desciende con el aumento de la relación etanol/muestra y esto se vincula al valor negativo del coeficiente que acompaña a dicho efecto en el gráfico de Pareto. En general, se observa un máximo de rendimiento a una temperatura intermedia en el rango estudiado y la curvatura observada está en relación a la significancia del efecto cuadrático de la temperatura (figura 3.7).

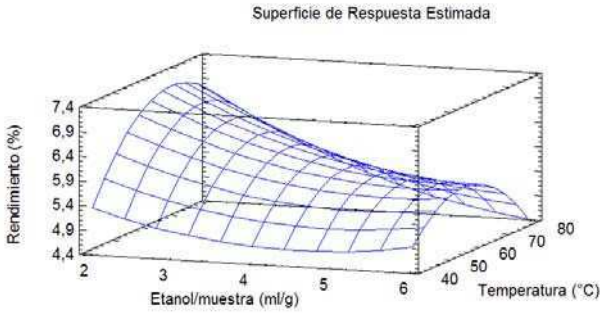

Figura 3.8. Superficie de respuesta, representando el efecto de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado con microondas sobre el rendimiento de la muestra.

El polinomio que describe la ecuación de regresión del modelo ajustado, para el rendimiento es:

$$\text{Rendimiento} = -3{,}37 - 0{,}4256\,A + 0{,}3490\,B + 0{,}0974\,A^2 - 0{,}0024\,B^2 - 0{,}0115\,A\,B$$

La optimización del rendimiento se obtuvo para bajas relaciones etanol/muestra de 2,0 ml/g, repitiéndose la misma tendencia que en las propiedades anteriores. Por otra parte, la temperatura de secado que maximizó el rendimiento fue de 67,2°C. EL valor óptimo estimado para esta propiedad fue 7,12% de rendimiento de fracciones enriquecidas en fibra, respecto a la cantidad de cáscara y pulpa inicial utilizada.

1.1.5. Capacidad de hinchamiento (SC)

En la tabla 3.2 se observa que los datos experimentales de esta propiedad ajustan al modelo propuesto con un R^2 de 85,77, lo que nos dice que este modelo explica 85,77% de la variabilidad del SC. En cuanto a la falta de ajuste, el valor P fue de 0,1557, o sea mayor que 0,05, lo que muestra ausencia de falta de ajuste y que el modelo fue adecuado para los datos observados al nivel de confianza del 95%.

Por otra parte el diagrama de Pareto (figura 3.9), muestra que hay cuatro efectos significativos para SC, de los cuales tres están afectando significativamente de forma negativa (efecto cuadrático de relación etanol/muestra y de temperatura y efecto de interacción relación etanol/muestra - temperatura) y un efecto lineal (relación etanol/muestra) de forma positiva, con un nivel de significancia de 0,05. En la tabla 3.2, se observa la significancia de los coeficientes correspondientes del polinomio.

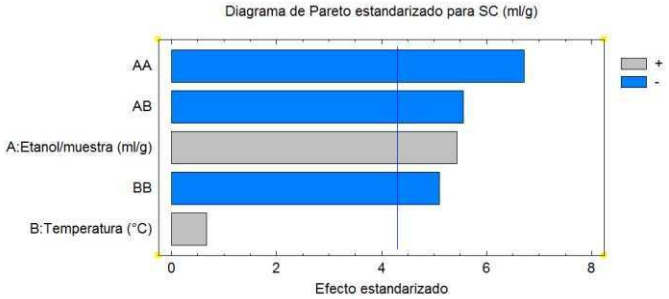

Figura 3.9. Diagrama de Pareto Estandarizado para SC. Nivel de significancia de 0,05.

En la figura 3.10 se observa la superficie de respuesta para esta propiedad. Se puede apreciar que para las bajas relaciones etanol/muestra, la capacidad de hinchamiento crece con el incremento de la temperatura de secado, revirtiéndose la tendencia para las altas relaciones etanol/muestra. A su vez, a bajas temperaturas, la SC aumenta con el aumento de la relación etanol/muestra y esta tendencia se invierte a las altas temperaturas.

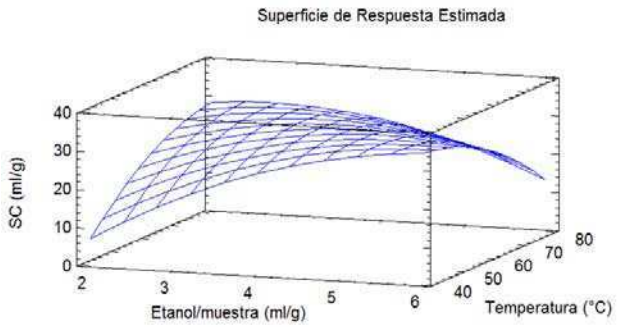

Figura 3.10. Superficie de respuesta, representando el efecto de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado con microondas sobre el SC.

El polinomio que describe la ecuación de regresión del modelo ajustado, para el SC es:

$SC = -102,8 + 29,08\ A + 2,41\ B - 1,46\ A^2 - 0,0111\ B^2 - 0,2652\ A\ B$

Los valores que maximizaron la capacidad de hinchamiento fueron, una relación de 6,0 ml de etanol por gramo de muestra y una temperatura de secado de 40,0°C. Es una tendencia diferente a la observada para las propiedades OHC, Rendimiento y volumen específico, donde prevalecía el uso de una baja relación etanol/muestra y altas temperaturas de secado. El valor óptimo estimado para esta propiedad fue 34,19 cm^3/g. Sin embargo en la superficie de respuesta estimada también se observan valores altos de esta propiedad cuando se usa un mínimo de etanol y altas temperaturas.

1.1.6. Capacidad de retención de agua (WRC)

En la tabla 3.2 se observa que los datos experimentales de esta propiedad ajustan al modelo propuesto con un R^2 de 74,84 lo que nos dice, que este modelo, así ajustado, explica 74,84% de la variabilidad de la capacidad de retención de agua. En cuanto a la falta de ajuste, el valor P fue de 0,1849 o sea, mayor que 0,05 por lo cual el modelo resultó adecuado para los datos observados al nivel de confianza del 95%.

El diagrama de Pareto estandarizado (figura 3.11), muestra que sólo la interacción entre las variables independientes estudiadas tienen un efecto significativo (nivel del 0,05) y negativo. Los resultados en cuanto a los coeficientes del polinomio son coincidentes (tabla 3.2)

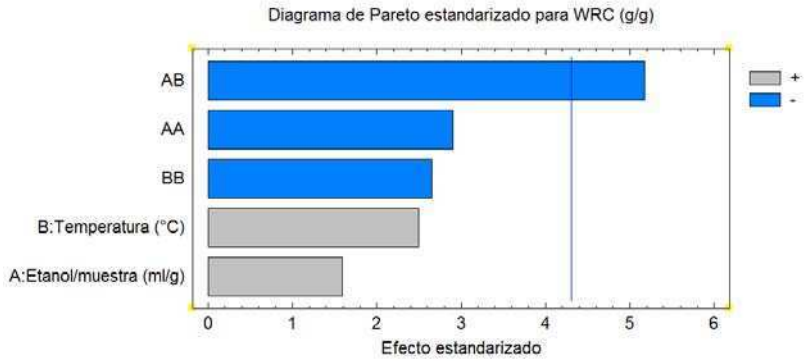

Figura 3.11. Diagrama de Pareto Estandarizado para la WRC. Nivel de significancia de 0,05.

La figura 3.12 muestra la superficie de respuesta para la propiedad WRC. Se observa que para bajas relaciones etanol/muestra, WRC aumenta con el aumento de temperatura de secado y que esta relación se invierte para altas relaciones etanol/muestra. A su vez, a bajas temperaturas de secado, WRC aumenta con el aumento de la relación etanol muestra y esta tendencia se invierte a altas temperaturas de secado.

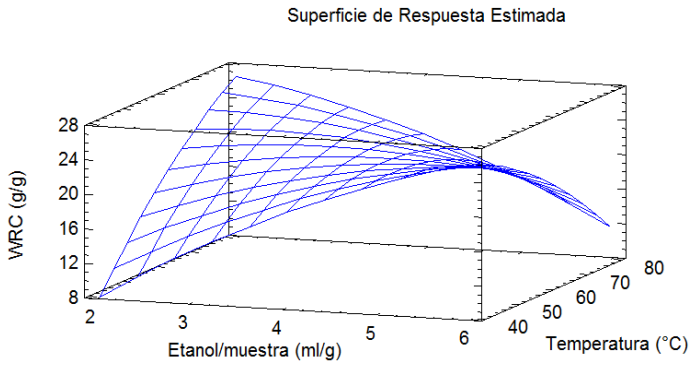

Figura 3.12. Superficie de respuesta, representando el efecto de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado con microondas sobre WRC.

El polinomio que describe la ecuación de regresión del modelo ajustado para esta propiedad es:

$$WRC = -57,45 + 16,81\ A + 1,45\ B - 0,5214\ A^2 - 0,0048\ B^2 - 0,2046\ A\ B$$

La relacion etanol/muestra que optimizó la WRC fue 2,0 ml/g y la temperatura de secado óptima se estimó en 80,0℃. Estos valores son similares a los encontrados para propiedades como el volumen especifico y OHC. El valor óptimo estimado estadísticamente para la WRC fue de 26,68 g/g. En la superficie de respuesta se aprecia que cuando se utilizan 6ml/g como relación etanol/muestra y una temperatura de secado de 40,0℃, también se obtienen valores altos de WRC, y estas condiciones coinciden con los valores óptimos encontrados para SC.

1.1.7. Porcentaje de agua retenida (RW)

En la tabla 3.2 se observa que los datos experimentales de esta propiedad ajustan al modelo propuesto con un R^2 de 77,10, lo que indica que el modelo, así ajustado, explica 77,10% de la variabilidad del porcentaje de agua retenida. En cuanto a la falta de ajuste, el valor P obtenido fue de 0,0766 o sea mayor que 0,05, por lo cual se concluye que el modelo fue adecuado para los datos observados con un nivel de confianza del 95%.

El diagrama de Pareto estandarizado (figura 3.13), muestra que el efecto de la interacción entre las variables independientes estudiadas (efecto negativo), el efecto cuadrático de la relación etanol/muestra (efecto negativo) y el efecto lineal de la relación etanol muestra (efecto positivo) son significativos (nivel del 0,05). En la tabla 3.2 se observan resultados análogos para los coeficientes del polinomio.

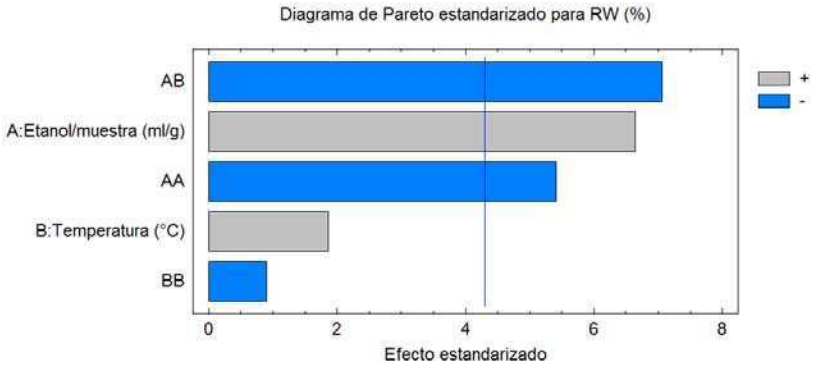

Figura 3.13. Diagrama de Pareto Estandarizado para RW. Nivel de significancia de 0,05.

En la figura 3.14 se observa la superficie de respuesta para esta propiedad. Puede notarse que a bajas relaciones etanol/muestra, RW aumenta con el aumento de la temperatura de secado, tendencia que se invierte para altas relaciones etanol/muestra. A su vez, a bajas temperaturas de secado, RW aumenta con el aumento de la relación etanol/muestra, tendencia que se invierte a altas temperaturas de secado.

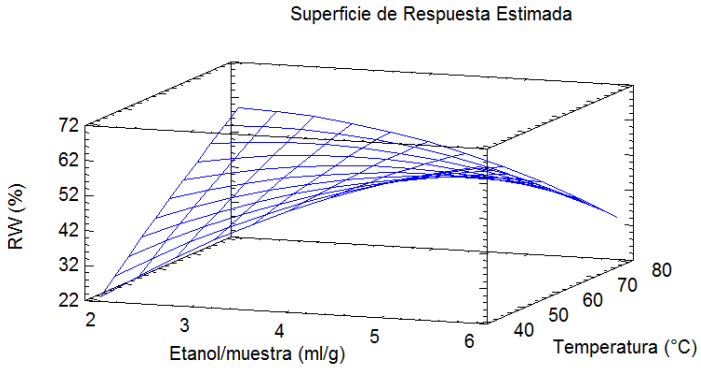

Figura 3.14. Superficie de respuesta, representando el efecto de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado con microondas sobre RW.

El polinomio que describe la ecuación de regresión del modelo ajustado para esta propiedad es:

$$RW = -95,3 + 39,75\ A + 2,07\ B - 1,485\ A^2 - 0,0025\ B^2 - 0,4259\ A\ B$$

Las condiciones que optimizaron el porcentaje de agua retenida fueron una relación etanol/muestra de 6,0 ml/g y una temperatura de secado de 40,0 ℃. El valor máximo estimado para esta propiedad con las condiciones optimizadas fue de 66,16%. Este es un valor que concuerda con las condiciones de proceso óptimas para el SC. Por otra parte, también se puede ver en la superficie de respuesta de RW que valores bajos de etanol y alta temperatura también dan lugar a un alto valor de esta propiedad al igual que para las propiedades WRC y volumen específico.

1.1.8. Capacidad de atrapamiento de agua (WHC)

En la tabla 3.2 se observa que los datos experimentales de esta propiedad ajustan al modelo propuesto con un R^2 de 71,28 por lo cual el modelo, así ajustado, explica 71,28% de la variabilidad de la capacidad de atrapamiento de agua. En cuanto a la falta de ajuste, el valor P fue de 0,1583 o sea mayor que 0,05 por lo cual el modelo fue adecuado para los datos observados con un nivel de confianza del 95%.

En el diagrama de Pareto estandarizado (figura 3.15), se observa los efectos más importantes sobre WHC. La temperatura y la interacción relación etanol/muestra con la temperatura, ambos son negativos.

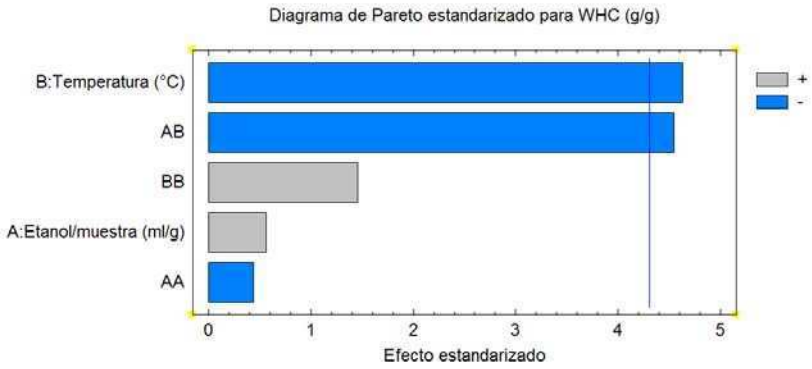

Figura 3.15. Diagrama de Pareto Estandarizado para WHC. Nivel de significancia de 0,05.

En la figura 3.16 se observa la superficie de respuesta para esta propiedad. Puede observarse que a bajas relaciones etanol/muestra WHC aumenta con el aumento de la temperatura de secado, tendencia que se invierte para altas relaciones etanol/muestra. A su vez, a bajas temperaturas de secado, WHC aumenta con el aumento de la relación etanol/muestra, tendencia que se invierte a altas temperaturas de secado.

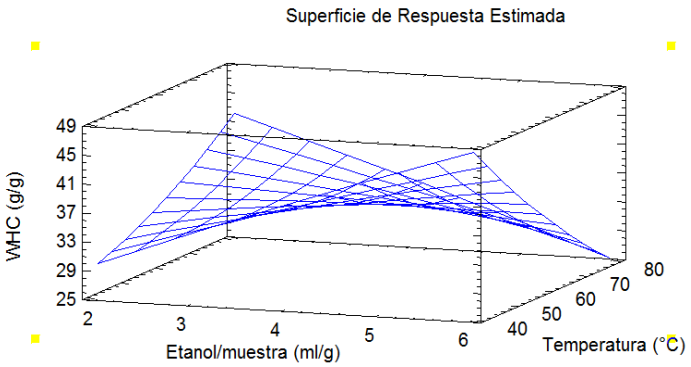

Figura 3.16. Superficie de respuesta, representando el efecto de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado con microondas sobre WHC.

El polinomio que describe la ecuación de regresión del modelo ajustado para esta propiedad es:

$$WHC = -0,1694 + 14,17\ A + 0,3658\ B – 0,0979\ A^2 + 0,0032B^2 - 0,2205\ AB$$

En el gráfico de Pareto, el efecto lineal debido al factor temperatura resulta negativo, mientras que el coeficiente del término lineal del polinomio que representa la superficie de respuesta resulta positivo. Esto se debe a que los efectos estandarizados mostrados en el gráfico de Pareto reflejan la influencia estadística de la temperatura en WHC calculado con los valores codificados. El polinomio propuesto, en cambio, provee un modo de cálculo de la respuesta en función de la relación etanol/muestra y la temperatura que, a fines prácticos, fue ajustado con los valores reales (sin codificar).

Una relación etanol/muestra de 6,0 ml/g y una temperatura de secado de 40,0℃ optimizaron el parámetro WHC. Estos valores son similares a los encontrados para SC y RW. El valor máximo para WHC estimado para estas condiciones fue de 48,20g/g. Por otro lado, también en la superficie de respuesta se observan valores altos de la propiedad cuando la relación etanol/muestra es cercana a la mínima y la temperatura es alta.

En la tabla 3.3 se resumen las condiciones evaluadas estadísticamente para optimizar (maximizar) los valores de las propiedades estudiadas y ajustadas al modelo polinomial.

Tabla 3.3. Resumen de la optimización de las respuestas estimada por el método RSM

Propiedad	Relación etanol muestra (ml/g)	Temperatura de secado (℃)	Valor óptimo
WRC (g/g)	2,0	80,0	26,68
RW (%)	6,0	40,0	66,16
WHC (g/g)	6,0	40,0	48,20
SC (cm^3/g)	6,0	40,0	34,19
OHC (g/g)	2,6	80,0	2,04
VOLUMEN ESPECÍFICO (cm^3/g)	2,1	78,2	2,96
RENDIMIENTO (%)	2,0	67,2	7,12
FRACCIÓN SOLUBLE (%)	2,0	40,0	24,46

1.2. Optimización de respuesta múltiple

La función optimización de respuesta múltiple permite calcular las configuraciones de los factores experimentales que permiten alcanzar las características deseadas considerando simultáneamente más de una variable dependiente. Esto se instrumenta a través de la construcción de la función de deseabilidad. La función deseabilidad es una de las

técnicas más usadas para la optimización multirespuesta y la idea básica de esta función es la transformación de un problema multirespuesta en un problema de respuesta única por medio de transformaciones matemáticas (Del Castillo y col., 1996). Para usar este procedimiento, los modelos deben ser previamente construidos y analizados para cada respuesta separadamente, especificando el objetivo del análisis es decir si se busca maximizar o minimizar la respuesta. En nuestro caso, la meta fue maximizar, dado que se consideró que ello mejora la funcionalidad de las fracciones aisladas. Finalmente la optimización de respuesta múltiple recupera información de cada uno de estos análisis para ejecutar la optimización conjunta (tutorial STATGRAPHICS Centurion XV 15.02.06).

De acuerdo a ello, en esta investigación, se realizó la optimización de respuesta múltiple con el objetivo de analizar las condiciones de proceso que optimizasen las propiedades (variables dependientes). Este análisis se realizó de tres formas: primero, optimizando las ocho propiedades WRC, RW, WHC, SC, OHC, volumen específico, rendimiento y fracción soluble (Grupo 1 de propiedades). Luego, se plantearon dos grupos, uno de ellos, (Grupo 2), constituido por las propiedades de hidratación WRC, RW, WHC y SC. El otro grupo (Grupo 3) comprende las propiedades, OHC, rendimiento, el volumen específico y la fracción soluble en agua. De este modo, se obtuvieron tres optimizaciones de respuesta múltiple. Los resultados de estos tres grupos de análisis se muestran en las figuras 3.17, 3.18 y 3.19.

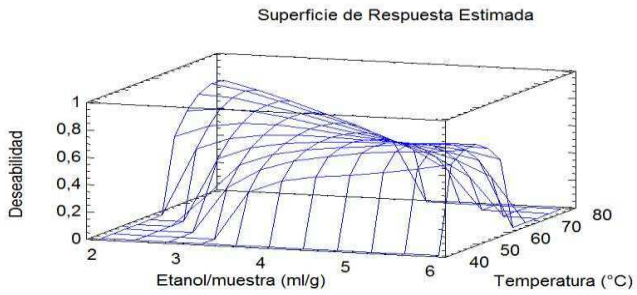

Figura 3.17. Optimización de respuesta múltiple. Grupo 1.

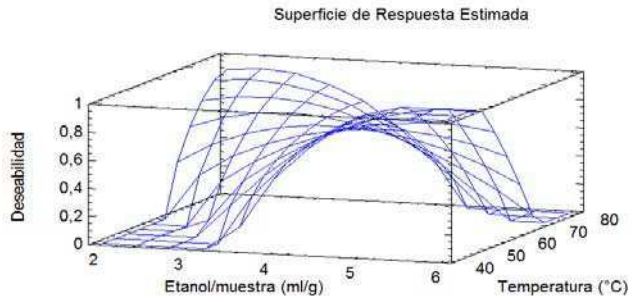

Figura 3.18. Optimización de respuesta múltiple. Grupo 2.

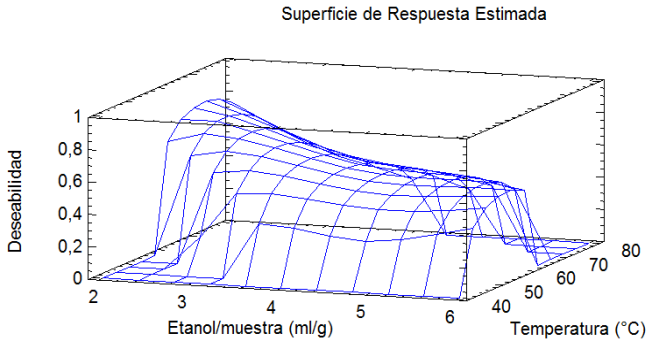

Figura 3.19. Optimización de respuesta múltiple. Grupo 3.

En la tabla 3.4 se resumen los valores óptimos estimados para la relación etanol/muestra y temperatura de secado y la deseabilidad alcanzada para los tres grupos de propiedades estudiadas.

Tabla 3.4. Resumen de la información correspondientes a la optimización de respuesta múltiple para distintos grupos de propiedades

	Etanol/muestra (ml/g)	Temperatura de secado (°C)	Deseabilidad
Grupo 1	2,0	78,2	0,83
Grupo 2	5,3	45,0	1,00
Grupo 3	2,0	70,9	0,82

Como se observa en la tabla 3.4, cuando se analizan todas las propiedades en conjunto (Grupo 1), la optimización tendiente a la maximización de las propiedades, propone el uso de una baja relación etanol/muestra y una alta temperatura de secado, siendo una tendencia muy similar al analizar las propiedades del Grupo 3. Sin embargo, cuando se realiza esta optimización para las propiedades del Grupo 2, se observa una tendencia distinta en las condiciones de proceso, siendo necesario el uso de una alta relación etanol/muestra y una baja temperatura de secado para maximizar las propiedades.

Por tal motivo, con las dos tendencias vistas de relación etanol/muestra y temperatura de secado (las del Grupo 1 y 3 y la del Grupo 2), se procedió a realizar dos nuevos procesos de obtención de FD utilizando las condiciones recomendadas para el Grupo 1 y para el Grupo 2 de propiedades por el modelo estadístico, de manera de hacer la verificación experimental correspondiente. Los resultados con estas nuevas condiciones se muestran en la tabla 3.5.

Tabla 3.5. Propiedades de las fracciones obtenidas con las relaciones etanol/muestra y temperaturas de secado correspondientes a la optimización por superficie de respuesta múltiple para los Grupos 1 y 2.

Grupo	Etanol/muestra (ml/g)	Temperatura Secado (°C)	WRC (g/g)	RW (%)	WHC (g/g)	SC (ml/g)	OHC (g/g)	Volumen Específico (cm^3/g)	Rendimiento (%)	Fracción soluble (%)
1	2,0	78,2	22	55	35	28	1,50	2,30	6,0	10
2	5,3	45,0	24,4	57,3	41	27,6	1,22	2,12	4,5	17

En el Anexo II se informa la tabla completa con los desvíos estándar para cada valor.

Con los datos obtenidos se retroalimentó el primer diseño experimental de once sistemas, dando lugar así a un nuevo diseño que consta de trece sistemas. El nuevo diseño experimental, se analizó por RSM, analizando los coeficientes del polinomio, la significancia de los mismos, el R^2 y la falta de ajuste para cada propiedad. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 3.6. Para este nuevo análisis, solo la fracción soluble presenta un valor de R^2 por debajo de 70%. Para las demás propiedades, el modelo así ajustado explica en un valor no menor del 70% la variabilidad de cada una de ellas. En cuanto a la falta de ajuste, los valores de P fueron superiores a 0,05 por lo cual el modelo propuesto fue adecuado para los datos observados al nivel de confianza del 95%.

Se realizó un análisis de superficie de respuesta múltiple, para encontrar las condiciones de relación etanol/muestra y temperatura de secado que optimizasen todas las propiedades, ello con excepción de la fracción soluble, resaltada en la columna de la tabla 3.6 en color gris, la cual se descartó por el bajo R^2 de su ajuste.

En la figura 3.20 se observa el gráfico de la optimización por respuesta múltiple.

Tabla 3.6. Resumen de los coeficientes correspondientes a los términos del polinomio. Diseño de trece sistemas.

Coeficiente	WRC (g/g)	RW (%)	WHC (g/g)	SC (ml/g)	OHC (g/g)	Volumen especifico (cm3/g)	Rendimiento (%)	Fracción Soluble (%)
Constante	-52,79	-85,5	11,90	-90,81	-9,092	-7,907	-0,5875	64,87
TÉRMINOS LINEALES								
A:Etanol muestra	15,75 *	36,63 **	10,84	24,76 **	2,166**	1,706 **	-1,297 **	-13,73
B:Temperatura	1,381 *	1,946	0,2047 **	2,278	0,2081 *	0,2375 **	0,3146 **	-0,7002 **
TÉRMINOS CUADRÁTICOS								
AA	-0,6491 *	-1,571 **	-0,3079	-1,46 **	-0,1742	-0,1475 ***	0,0703	1,012 *
BB	-0,0057 *	-0,0035	0,0014	-0,0118 **	-0,0012 *	-0,0015 ***	-0,0027	0,0018
INTERACCIÓN DE TÉRMINOS								
AB	-0,1658 **	-0,364 ***	-0,1329 **	-0,2 **	-0,0128	-0,0102 **	0,0064	0,0910
EVALUACIÓN DE AJUSTE								
R^2	72,67	80,21	73,33	73,37	85,3	83,09	76,34	64,47
Falta de ajuste (P)	0,2116	0,1197	0,1816	0,1358	0,5808	0,1128	0,234	0,2266

Niveles de significancia para el sistema: *α: 0,1; **α: 0,05; ***α: 0,01

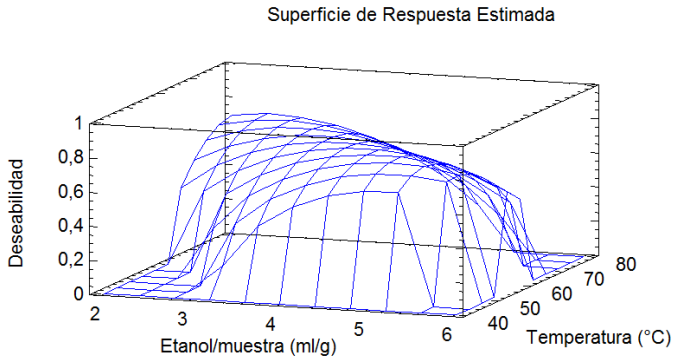

Figura 3.20. Optimización por respuesta múltiple de las propiedades WRC, RW, WHC, SC, OHC, volumen específico y rendimiento.

Se pudo así determinar las condiciones de proceso (sistema óptimo) que permitirían maximizar siete de las ocho propiedades planteadas inicialmente. Los valores obtenidos fueron una relación etanol/muestra de 4,6 ml/g y una temperatura de secado de 55,0 °C. La función deseabilidad presentó un valor de 0,75 y los valores de las propiedades estimadas estadísticamente, se muestran en la tabla 3.7.

Por último, se produjo un nuevo lote de fracciones enriquecidas en fibra dietaria de durazno utilizando las condiciones optimizadas de extracción y de temperatura de secado y se determinaron nuevamente todas las propiedades de dicha fracción para poder compararlas con los valores estimados en la optimización por respuesta múltiple. El resumen de los resultados se muestra en la tabla 3.7.

Tabla 3.7. Propiedades determinadas experimentalmente y estimadas por la optimización de respuesta múltiple para la extracción con una relación etanol/muestra de 4,6 ml/g y una temperatura de secado con radiaciones de microondas de 55,0 °C.

Propiedad	Valores experimentales	Valores estimados
WRC (g/g)	22,6 ± 0,8	22,69
RW (%)	54 ± 2	54,43
WHC (g/g)	35 ± 1	37,35
SC (ml/g)	31 ± 1	31,23
OHC (g/g)	1,9 ± 0,2	1,77
Volumen específico (cm^3/g)	2,81 ± 0,07	2,58
Rendimiento (%)	6,2 ± 0,3	5,60

Como se observa en la tabla, al comparar los datos obtenidos experimentalmente con los estimados por la optimización de respuestas múltiples, los valores son similares,

validando lo que se había predicho estadísticamente. Como dato adicional, el porcentaje encontrado de fracción soluble para el producto, tomó un valor de (11 ± 1) %.

Es importante destacar que los valores experimentales para las propiedades reportadas en la tabla 3.7, en general, no son tan altos como aquellos estimados por la superficie de respuesta (tabla 3.3) cuando se optimizaron las propiedades individualmente, pero salvo RW son mayores que los informados en la tabla 3.5 para las propiedades del el grupo 1 y valores de, rendimiento, SC, OHC, y volumen específico mayores que aquellos reportados para las propiedades del grupo 2; de igual forma, estos resultados se encuentran entre los valores más altos reportados en la tabla 3.1.

1.3. Profundización de la caracterización de la fracción obtenida con las condiciones óptimas

Para complementar el análisis sobre esta fracción enriquecida en FD y obtenida con las condiciones óptimas, se realizó su caracterización química, evaluación del tamaño de partícula y su observación microscópica.

1.3.1. Tamaño de partícula

Se realizó el análisis del tamaño de partícula, medido después del proceso de molienda final y tamizado. Se observó así un D [0,5] de (258 ± 9) µm y un diámetro de Sauter de (134 ± 1) µm. El D [0.5] indica que el 50% en volumen de las partículas medidas tuvieron un tamaño de partícula medio por debajo de 258 µm, mientras que el diámetro de Sauter o D [3,2] corresponde al diámetro medio de una esfera compacta no porosa con superficie equivalente. Estos datos pueden resultar muy importantes en la formulación de nuevos productos y en el diseño de procesos en los que se utilice este tipo de alimentos particulados. Además, el tamaño de partícula podría tener un rol importante, controlando un número de eventos que ocurren en el tracto digestivo como por ejemplo el tiempo de tránsito, fermentación, excreción fecal. Es importante tener en cuenta que el tamaño de partícula puede variar durante el tránsito en el tracto digestivo como resultado de la masticación, molienda en el estómago y degradación bacterial a lo largo del intestino.

1.3.2. Observación microscópica

Se realizó la observación microscópica de la fracción rica en FD y obtenida en las condiciones optimizadas. La figura 3.21, muestra imágenes del microscopio, tomadas con dos magnificaciones diferentes de 500x y 800x.

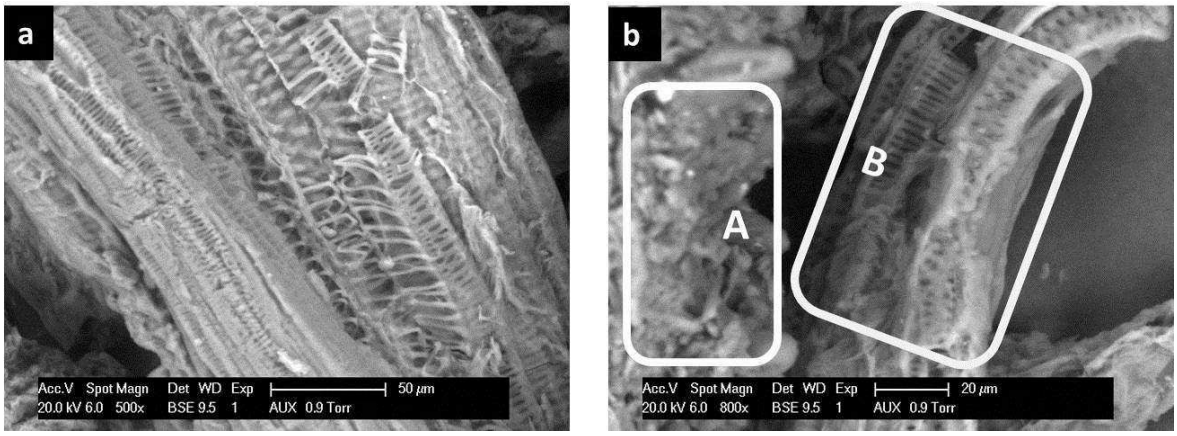

Figura 3.21. Microscopía electrónica de barrido de fracciones enriquecidas en fibra obtenidas a partir de *Prunus persica* L. Panel a: magnificación de 500x. Panel b: magnificación de 800x.

En todos los campos observados y, tanto a magnificaciones de 500x como de 800x, se observaron zonas de tejido vascular que persisten luego de los tratamientos de extracción y secado, indicando la conservación de partes de la estructura histológica. En la imagen de la izquierda (panel a), se observan fragmentos de vasos de conducción que componen los haces vasculares o el tejido conductor (xilema). En la imagen tomada a 800x (Panel b), se señalaron dos sectores (A y B). En el sector A, la estructura parece estar colapsada debido a los efectos del secado y/o a los tratamientos con etanol, pero en el sector B, que ocupa la mayor parte de la imagen, se puede apreciar la porosidad de las estructuras que componen dicho tejido la cual podría ser atribuida a la conservación de la integridad tisular durante la extracción y el secado.

1.3.3. Composición química

Se evaluaron las características químicas de la fracción rica en FD obtenida con las condiciones optimizadas.

Gran parte de lo que llamamos fibra dietaria está constituida por las paredes primarias de las células vegetales (Englyst y col., 2007; Ha y col., 2000). Las paredes celulares son materiales poco convencionales. Sus estructuras, funciones y propiedades muestran una amplia y compleja variación biológica (Knox, 2008; Moller y col., 2007). La estructura de la pared celular primaria está constituida, principalmente, por polímeros como la celulosa, la hemicelulosa y la pectina (Jarvis, 2009). La pared celular secundaria se forma después que la célula ha completado su crecimiento. Se deposita sobre la pared primaria hacia el interior de la célula. Está constituida principalmente por celulosa y muchas veces se lignifica. La pared secundaria es característica de tejidos duros como el xilema y el

esclerénquima (Gurni y Wagner, 2011). La composición química de la FD se resume en la Tabla 3.8.

El producto que se obtuvo con las condiciones optimizadas a partir de la pulpa y cáscara de *Prunus persica* de la variedad Jungold, luego de la extracción etanólica y el secado con microondas, presentó un contenido de AIR de 80g /100g fracción (base seca) valor alto que denota que la muestra está constituida principalmente por polímeros de la pared celular. De Escalada Pla y col. (2010) informaron valores entre 60 y 75 g de AIR por cada 100 g de fracción (base seca) para distintas fracciones aisladas a partir de residuos de la industrialización del membrillo.

La humedad final de la fracción aislada fue de 5,03 g/100g (base húmeda). El valor final de la actividad acuosa (a_w) fue de 0,366 ± 0,004, lo cual permite que el material en estudio se almacene de manera estable a temperatura ambiente.

Tabla 3.8. Composición química de la fracción enriquecida en fibra dietaria aislada en las condiciones optimizadas.

Componentes	g/100g de fracción
Humedad[1]	5,03 ± 0,04
Proteína[2]	7,0 ± 0,4
AIR[2,3]	80 ± 2
Lignina[2]	11 ± 2
HC[2,4]	65 ± 2
Celulosa[2]	11± 4
Ácidos Urónicos[2]	12 ± 1
Fenólicos totales[2]	0,71 ± 0,06
Fenólicos no ferúlicos[2]	0,474 ± 0,008

[1] g/100g de fracción, base húmeda
[2] g/100g de fracción, base seca.
[3]Residuo insoluble en alcohol.
[4]Hidratos de carbono no celulósicos.

Las fracciones enriquecidas en fibra aisladas de durazno estuvieron constituidas por: 11 g/100g (base seca) de lignina, 7,0 g/100g (base seca) de proteínas, 11 g/100g (base seca) de celulosa. Estos valores indican la presencia de los dos tipos de paredes celulares, primaria y secundaria. Los datos de lignina informados se encuentran en el orden de los reportados en bibliografía por otros autores. Por ejemplo, Grigelmo y col. (1999) encontraron valores entre 5,7-7,4 gramos de lignina por cada 100 gramos de concentrado de fibra del bagazo de durazno. Los hidratos de carbono no celulósicos (HC) fueron los componentes que estuvieron en mayor proporción, 65 g/100g de fracción (base seca) como puede observarse en la tabla 3.8, mostrando así una naturaleza química principalmente hidrofílica, asociándose adecuadamente con los resultados obtenidos para

las propiedades de hidratación. Dentro de los HC, se determinó que los ácidos urónicos están presentes con 12 g/100g de fracción (base seca). Las pectinas presentes fueron de alto grado de metilación, mayor a 50% y el grado de acetilación fue del 15,7%. Pagán y col. (2001), informaron un 7,5% de proteínas y un contenido de ácidos urónicos del 18,4% en el residuo seco de durazno luego de la extracción de jugo. De Escalada Pla y col., (2010) informaron valores entre 7 y 11 g de proteínas por cada 100 g (base seca) para distintas fracciones aisladas a partir de residuos de la industrialización de membrillo.

El contenido de compuestos fenólicos totales fue de 710 mg por cada 100 gramos de fibra seca. De ellos, el contenido de compuestos fenólicos no ferúlicos fue algo superior al 50%. El contenido de fenólicos totales en la fracción aislada fue sensiblemente mayor al contenido hallado en 100 ml de jugo de naranjas o de vino tinto, los cuales están en el orden de 62,56 y 195 mg / 100 ml, respectivamente de acuerdo a Bravo y col. (2007) . Sin embargo, fue inferior al valor de 1400 mg/100g fracción (base seca) informado por De Escalada Pla y col. (2010) para fracciones aisladas de membrillo y al de 1179 mg/100g fracción (base seca) informado por Latorre y col., (2013) para el residuo insoluble en alcohol de raíz de remolacha roja. El contenido de compuestos fenólicos es importante en relación a la actividad antioxidante que puede llegar a ejercer la adición de esta fracción como ingrediente de productos funcionales o como antioxidante natural para el propio alimento.

2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS REFERENTES A LAS PROPIEDADES DE LA FRACCIÓN RICA EN FIBRA DIETARIA AISLADA EN LAS CONDICIONES ÓPTIMAS

Las propiedades estudiadas en la fracción rica en fibra obtenida en las condiciones óptimas de proceso fueron evaluadas por su importancia en relación a los efectos fisiológicos de la fibra en la dieta, a la calidad nutricional de la fibra en los alimentos y a la funcionalidad como ingrediente en el desarrollo de productos alimenticios (de Escalada y col., 2007).

De acuerdo con Thibault y Ralet (2001), las propiedades de hidratación dependen de la estructura química y propiedades físicas (área superficial y tamaño de partícula) de las fibras y del entorno químico. Procesos tales como la molienda, secado, calentamiento o cocción por extrusión, causan modificaciones en las propiedades físicas de la fibra y también afectan sus propiedades de hidratación (Raghavendra y col., 2004; Thibault y col., 1992). Las fracciones de fibra ricas en pectinas tienden a mostrar valores más altos para la propiedades de hidratación que otras fibras, debido a la hidrofilia de las sustancias pécticas. Estas propiedades resultan de importancia para evaluar la utilidad de las fibras

como agente de relleno, hinchamiento y/o espesante en los alimentos de alta actividad de agua y los efectos en la dieta ya que dichas propiedades influirán en la funcionalidad de la fibra a lo largo del tránsito intestinal (Gómez y col., 2010).

En la tabla 3.9, se muestran valores propios de este trabajo (Residuo de durazno) y los informados por diferentes autores para algunas propiedades de hidratación y para la capacidad de retención de aceite de fracciones enriquecidas en FD aisladas de distintos tejidos vegetales por diferentes tratamientos. Se observa que los valores, obtenidos en el presente trabajo de investigación son, en varios casos superiores a los informados por otros autores. En cuanto a las propiedades de hidratación, es importante remarcar que su composición química (abundancia de polímeros hidrofílicos) podría haber influido en estos resultados.

Tabla 3.9. Algunas propiedades de hidratación y capacidad de retención de aceite para distintas fracciones enriquecidas en fibra dietaria

	Propiedades de hidratación			
Fracciones enriquecidas en FD aisladas de:	SC (ml/g)[1,2]	WHC (g/g)[1,3]	WRC (g/g)[1,4]	OHC (g/g)[1,5]
Residuo de durazno (M)	31,29 ± 0,95	35,08 ± 0,97	22,62 ± 0,79	1,93 ± 0,16
Pulpa de durazno (C)[6]	29 ± 2	24 ± 2	14,03 ± 0,4	1,81 ± 0,02
Cáscara de durazno (C)[6]	39 ± 3	25 ± 1	14 ± 2	2,03 ± 0,03
Pulpa de durazno (L)[6]	47 ± 4	59 ± 9	33 ± 2	2,29 ± 0,06
Cascara de durazno (L)[6]	43 ± 8	47 ± 2	31 ± 2	2,4 ± 0,1
Residuos de membrillo (C)[7]	11,6 ± 2	19 ± 3	9,3 ± 0,6	1,8 ± 01
Cascara de calabaza (C)[8]	22,0 ± 0,4	27 ± 2	26 ± 2	--
Pulpa de calabaza (C)[8]	25,0 ± 0,2	24 ± 6	23 ± 6	--
Kiwi maduro (C)[9]	25	--	7	6
Naranja (C)[10]	20	--	12	3

En la primera columna consta, entre paréntesis, el método de deshidratación empleado.

M: microondas; L: liofilización; C: secado por corriente de aire.

[1] Valor Promedio. Cuando está disponible, se informa el desvío estándar. [2]Swelling capacity: cm^3 de concentrado hidratado e hinchado por gramo de muestra seca. [3]Water holding capacity: gramo de agua por gramo de muestra seca. [4]Water retention capacity: gramos de agua retenida después de centrifugación por gramo de muestra seca. [5]Oil holding capacity: gramos de aceite de girasol retenido por gramo de masa seca. [6]de Escalada Pla y col. (2012). [7]de Escalada Pla y col. (2010). [8]de Escalada Pla y col. (2007). [9]Femenia y col. (2009). [10]Garau y col. (2007).

La capacidad de retención de agua (WRC) es la cantidad de agua que permanece en la fibra hidratada luego de la aplicación de una fuerza externa, ya sea presión o

centrifugación (Raghavendra y col., 2004; Tosh y Yada., 2010). Como se observa en la tabla 3.7 el valor experimental de WRC que presentó la fracción extraída con una relación etanol/muestra de 4,6 ml/g y temperatura de secado de 55,0 °C fue de 22,62 g/g, siendo éste un valor bastante similar al que se estimó por superficie de respuesta múltiple. De Escalada Pla y col. (2012) informaron que utilizando la cáscara o la pulpa de duraznos variedad Calred y una relación etanol/muestra de 3,5ml/g, los valores de WRC para fracciones ricas en fibra fueron de, aproximadamente, 14,03 g/g para tratamientos de secado con aire caliente a 30°C por 7 horas y de, aproximadamente, 32 g/g al usar como método de deshidratación, la liofilización (Tabla 3.9). Por lo tanto, el tratamiento de secado por microondas en las condiciones usadas, da lugar a valores más altos de WRC que los tratamientos de secado con aire caliente, pero menores que los encontrados en el secado por liofilización. Es de destacar que de Escalada y Pla y col. (2011) estudiaron la microestructura de fracciones ricas en fibra aisladas de cáscara o pulpa de *Prunus persica* variedad Calred (San Pedro, Buenos Aires, Argentina) y observaron una microestructura más conservada en el caso del secado por liofilización que en el caso del secado en corriente de aire caliente, atribuyendo las mejores propiedades funcionales de los productos liofilizados a dicha estructura conservada. Como se informó previamente, con el tratamiento de secado por microondas se observaron estructuras histológicas conservadas al igual que para las fracciones secadas por liofilización mientras que el secado en corriente de aire muestra estructuras más colapsadas. Esto podría mostrar un efecto específico de la forma de secado en la estructura pero es importante recordar que la diferente relación etanol/muestra usada así como la variedad distinta de durazno de ambos trabajos de investigación podrían afectar los resultados.

La WHC se define como el agua retenida por la FD sin la aplicación de fuerzas externas, excepto la gravedad y la presión atmosférica (Rhagavendra y col., 2004). Este parámetro también incluye la fracción de agua libremente asociada a la matriz de fibra y por lo tanto relacionada con el aumento del peso de las heces ya que se ha encontrado que el agua fuertemente unida no tiene ningún efecto sobre la masa de las deposiciones, mientras que el agua levemente asociada incrementa rápidamente el peso de las mismas (Caddem, 1987). El valor que presentó la fracción extraída con una relación etanol/muestra de 4,6 ml/g y temperatura de secado de 55,0 °C fue de 35,08 g/g (tabla 3.7), el cual fue muy similar al estimado por superficie de respuesta múltiple. Se observa en la tabla 3.9 que el WHC de la fracción aislada en este trabajo tiene un valor intermedio entre los reportados por de Escalada Pla y col. (2012) para fracciones ricas en FD aisladas de duraznos Calred y deshidratadas en corriente de aire o liofilizadas, siendo su valor superior al reportado por los mismos autores en el año 2010 para fracciones

aisladas de tejidos de membrillo. Asimismo, el valor obtenido en el presente trabajo es superior al informado por Grigelmo y col. (1999) para un concentrado de FD de durazno (12 g/g). En la tabla 3.10 se pueden ver datos de WHC informados por este último autor para otros productos ricos en FD, observándose que el valor obtenido en el presente trabajo es superior a los reportados para distintos subproductos agrícolas. El valor alto de WHC de las fracciones aisladas a partir de durazno en el presente trabajo, permite inferir que este material podría ser usado como ingrediente funcional, como por ejemplo en algunos productos alimenticios evitando fenómenos de sinéresis y podría tener importantes propiedades fisiológicas.

Tabla 3.10. WHC de algunos subproductos agrícolas (g agua/g producto).

Subproductos agrícolas	WHC
Residuos del procesamiento de manzana	11,7
Residuos del procesamiento de naranja	16,2
Salvado de trigo	6,6
Salvado de trigo	10,0
Salvado de avena	5,5
Pomelo sin semillas	9,7
Cascaras de cítricos	3,6
Cascara de ananá	3,5
FD manzana	6,3
FD pera	6,8
FD naranja	12,4
FD durazno	12,6
FD alcaucil	13,2
FD espárragos	11,2

De acuerdo a Grigelmo y col. (1999).

Por otro lado el RW, hace referencia a la cantidad de agua absorbida (g) respecto a 100 g de agua añadida. Como se observa en la tabla 3.7 el valor experimental de RW que presentó la fracción extraída con una relación etanol/muestra de 4,6 ml/g y temperatura de secado de 55,0 ℃ fue de 53,87%. Esto quiere decir que la muestra retuvo 53,87g de agua cuando se lo trató con 100g de este líquido. De Escalada Pla y col., (2010) evaluaron esta propiedad para fracciones aisladas de residuos del membrillo los cuales fueron secados por convección con aire caliente a diferentes temperaturas, encontrando valores de RW entre 10 y 22 %, lo cual nos estaría indicando que las fracciones enriquecidas en FD aisladas de durazno en el presente trabajo presentan una mayor cantidad de agua retenida respecto a la agregada que aquellos. El agua retenida (RW) tiene importancia fisiológica y además, da información sobre la cantidad de agua requerida en procesos tecnológicos para la hidratación de la fibra (de Escalada Pla col., 2007).

El SC es el volumen ocupado por una muestra de fibra de peso conocido después de ser hidratada con agua durante un tiempo determinado. El SC encontrado para las fracciones de fibra (tabla 3.7) fue de 31,29 ml/g, siendo prácticamente el mismo que se había predicho por la optimización de respuesta múltiple. Éste es un valor que supera el informado por Robertson y col. (2000) como un valor típico para un concentrado de fibra dietaria de origen frutihortícola, el cual es de aproximadamente 20 ml/g y es superior al informado para fracciones aisladas de membrillo, cáscara de calabaza, kiwi y naranja (Tabla 3.9).

La capacidad de retener aceite de una fibra dietaria puede ser importante para aplicaciones en alimentos como, por ejemplo, en la prevención de pérdidas de grasa en la cocción (Anderson y Berry, 2001) y también en el organismo, donde la capacidad de absorber o unirse a los ácidos biliares y aumentar su excreción se asocia con la reducción del colesterol plasmático (Schneeman, 1999). Los valores para OHC encontrados en las fracciones de fibra de durazno (1,93 g/g) son comparables con el valor de 1,8 g/g informado por de Escalada Pla y col. (2010) para fracciones ricas en FD aisladas de residuos industriales de membrillo y superior al encontrado por Gómez y col. (2010) para fracciones aisladas de algas comestibles del noreste de la costa española (1,32-1,61 g/g).

En relación al rendimiento, en el presente trabajo, fue de 6,20 gramos de fracción enriquecida en FD por cada 100 gramos de residuo de durazno. Este valor equivale a la fracción en base seca resultante después de los tratamientos con etanol y secado con microondas realizados al residuo inicial de durazno. Este valor está dentro del orden de los valores encontrados por otros autores para distintos tejidos vegetales (Escalada Pla y col., 2010 y 2012; Grigelmo y col. 1999).

El volumen específico es la medida inversa de la densidad aparente (ρ). La densidad aparente depende del contenido de agua, las características químicas y físicas del sólido y la proporción del volumen de aire en el sólido. De acuerdo con Koç y col. (2008), estas características se ven afectadas por los tratamientos de secado y por los fenómenos de colapso de la matriz. El volumen específico tuvo un valor de 2,81 cm^3/g para la fracción aislada en las condiciones óptimas. De Escalada Pla y col. (2010; 2012) informaron valores de 1,8-2,0 cm^3/g para fracciones ricas en FD aisladas de residuos de la industrialización de membrillo y valores de 2,0-2,3 cm^3/g fracciones aisladas de piel o pulpa de durazno todas ellas secadas por convección en aire caliente; en cambio, las fibras provenientes de durazno liofilizadas presentaron volúmenes específicos de 2,5-2,9 cm^3/g.

Los rangos del tamaño de partícula dependen del tipo de pared celular presente en el alimento y de su grado de procesamiento. (Guillon y Champ, 2000). De Escalada Pla y col. (2010; 2012) observaron valores de tamaño de partícula D [0,5] de 230-274μm para las fracciones ricas en FD aisladas de residuos de la industrialización de membrillo y valores de tamaño de partícula D [0,5] de 300-390μm para fracciones aisladas de durazno Calred, siendo los menores valores los observados cuando el secado fue hecho por liofilización y los más altos cuando se utilizó secado en corriente de aire caliente. Es evidente que el diámetro de partícula en el caso de secado por microondas (258μm) presenta un valor más cercano al de las fracciones ricas en fibra obtenidas de duraznos Calred y secadas por liofilización. Como ya se dijo anteriormente, los volúmenes específicos también son semejantes para las fracciones aisladas de durazno y secas por liofilización o por radiaciones de microondas y es importante comentar que corresponde un menor tamaño de partícula a un mayor volumen específico (de Escalada y col., 2010)

Varios autores vincularon el tamaño de partícula a la capacidad de sorción de agua y de aceite (Chau y col., 2004; Raghavendra y col., 2004). De este modo, el pequeño tamaño de partícula y el alto volumen específico asociado a las fracciones aisladas en esta investigación podrían contribuir a las buenas propiedades de hidratación y de absorción de aceite observadas. Asimismo, como ya se comentó anteriormente, las estructuras histológicas de las fracciones aisladas se encuentran conservadas lo que dio lugar a una estructura porosa que permitiría una mayor interacción de la muestra con el agua y el aceite influyendo en las propiedades estudiadas.

3. CONCLUSIONES

En la presente investigación se estudió la optimización de las condiciones de proceso en relación a la obtención de fracciones enriquecidas en fibra dietaria a partir de duraznos (*Prunus persica* L.) variedad Jungold mediante el uso de la metodología de superficie de respuesta.

Las variables de proceso estudiadas fueron la relación etanol/muestra en la etapa extractiva y la temperatura de secado por radiaciones de microondas. Las condiciones optimizadas para la obtención de las fracciones ricas en fibra fueron una relación etanol/muestra de 4,6 ml de etanol (95 % v/v) por gramo de residuo de durazno a 20,0°C (tiempo 15 minutos) y una temperatura de secado de 55,0°C (equipo de microondas; potencia máxima de 450 W), condiciones que permitieron obtener rendimientos de 6,20 g por 100 g de residuo. Las propiedades de hidratación y absorción de aceite de la fracción obtenida mostraron valores altos que marcan su potencialidad para ser aplicada con fines tecnológicos así como para enriquecer alimentos en fibra dietaria.

La fracción enriquecida en fibra, obtenida del residuo de durazno estuvo constituida en un 80% por material de la pared celular. Los componentes mayoritarios fueron hidratos de carbono no celulósicos (65g/ 100 g fracción, base seca) dentro de los cuales, 12g/100g estuvieron constituidos por pectinas de alto grado de metilación. También se observó un interesante contenido de compuestos fenólicos, los cuales podrían otorgar actividad antioxidante a esta fracción.

El secado con radiaciones de microondas mostró resultados interesantes en cuanto a las propiedades de hidratación y de absorción de aceite, cuando se compararon con las obtenidas por otros mecanismos de secado, como por ejemplo el secado por corriente de aire caliente. En este sentido, la conservación de las estructuras tisulares observado a través de microscopía ya sea por los cortos tiempos de exposición y/o por el mecanismo diferencial de este secado, el bajo tamaño de partícula, el alto valor de volumen específico del producto; contribuirían al alto valor de las propiedades estudiadas. Así mismo, la naturaleza hidrofílica de esta fibra permitió que presentase muy buenas propiedades de hidratación, lo cual se traduciría en buena funcionalidad fisiológica.

ANEXOS

1. ANEXO I - SECADO

1.1. INTRODUCCIÓN

1.1.1. El secado y los modelos empíricos

Los modelos empíricos que han sido ampliamente utilizados en la literatura para describir la caída de las velocidades de secado son el de Newton, Henderson y Pabis y el de Page (Doymaz, 2004; Simal y col., 2005).

El modelo de Page (1949) se ha utilizado para describir la cinética de secado en lecho de diversas materias primas agrícolas como uvas, ciruelas, albaricoques, fresas, manzanas, kiwis, higos y grosellas por convección y microondas - convección (Bozkir, 2006; Contreras y col., 2008; Doymaz y Pala, 2002; Jasna y col., 2001; Karathanos y Belessiotis, 1999; Prabhanjan y col., 1995; Sharma y Prasad, 2001; Simal y col., 2005).

Dionissios y Ghiaus (2007) utilizaron un modelo en capa delgada y la ecuación de Page para modelar el secado de uvas sultana, hasta obtener la humedad adecuada para la estabilidad del producto. Se encontró buena concordancia entre las mediciones y las predicciones con esta ecuación.

Margaris y Ghiaus (2007) informaron resultados de experimentos realizados por secado con aire caliente de uvas sultana. Un modelo en capa delgada y la ecuación de Page se utilizaron para modelar dicho secado hasta el contenido de humedad requerido. Dichos autores evaluaron las constantes de secado a partir de la ecuación de Page y encontraron valores de la constante (k) de $4{,}7222.10^{-2}$ 1/h cuando las uvas se secaron a una temperatura media de 65°C, observándose un valor de la constante *n* de la ecuación de 1,1908.

1.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para todos los procesos de secado se registró la pérdida de peso de las muestras a través del tiempo hasta alcanzar un peso constante.

La potencia máxima de trabajo para todos los puntos del diseño fue de 450W. Se programaron en el equipo diferentes intervalos de tiempo de secado para registrar dicha variación en el peso. La duración de cada intervalo de secado se determinó teniendo en cuenta la temperatura de secado utilizada. Por ejemplo, en los sistemas del punto central donde la temperatura de secado fue de 60,0°C, estos intervalos fueron cada dos minutos y medio. El equipo se programó para que en 30s se alcanzasen los 60,0°C, luego se mantuvo esa temperatura durante un minuto más y, finalmente, se programó un minuto de ventilación, antes de abrir la compuerta del equipo por razones de seguridad.

Si bien durante el minuto de ventilación el magnetrón dejó de funcionar, se contabilizó este tiempo de secado porque en este lapso de tiempo, la temperatura dentro del equipo tiende a mantenerse.

1.2.1. Curvas de secado

La pérdida de agua a lo largo del proceso de deshidratación fue evaluada registrando el peso de la muestra a distintos intervalos de tiempo. Los datos fueron ajustados utilizando la ecuación de Page (Ahmed y col., 2001).

$$MR = \frac{(m - m_e)}{(m_0 - m_e)} = \exp(-k\, t^n)$$

Donde, *MR* es la variación del contenido de humedad, *m* representa el contenido de humedad a un dado tiempo *t* (% en base seca), m_0 el contenido de humedad inicial (% en base seca), m_e el contenido de humedad en el equilibrio (% en base seca), *t* es el tiempo en minutos, *k* y *n* son los parámetros de Page (Ahmed y col., 2001; Page, 1949).

La humedad de equilibrio (m_e), se determinó a partir de los últimos tres puntos de la zona asintótica de la curva de secado, para intervalos igualmente espaciados.

$$m_e = \frac{m_1 * m_3 - (m_2)^2}{m_1 + m_3 - 2 * m_2}$$

Donde:

m_1 es la humedad en base seca al tiempo t
m_2 es la humedad en base seca al tiempo t+dt
m_3 es la humedad en base seca al tiempo t+2dt

1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones de potencia y temperatura, tal como se adquirieron con el utilitario del equipo de microondas para un dado experimento de una dada condición de secado (60,0°C), se observa en la figura I.1, a modo de ejemplo. Si bien la muestra no mantiene exactamente el perfil de temperatura programada a lo largo del proceso, se observó una buena aproximación para cada uno de los procesos propuestos.

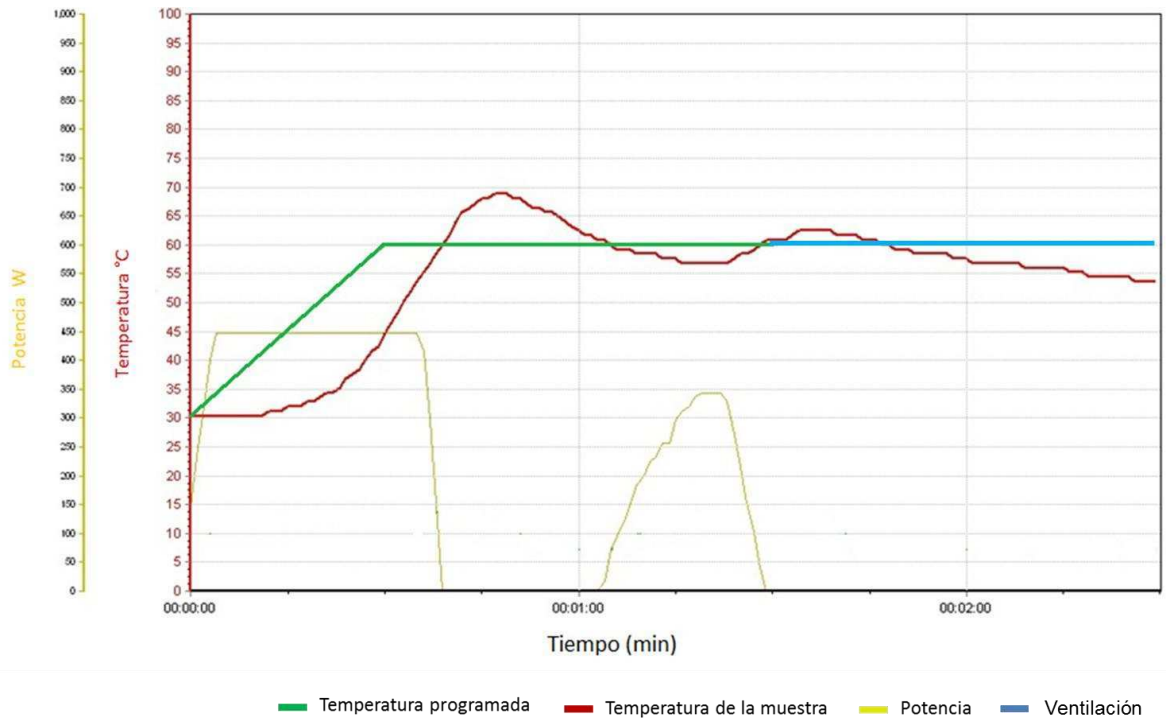

Figura I.1. Parámetros del proceso de secado registrados dentro del microondas realizado a una temperatura programada de 60,0 ℃, durante un intervalo de dos minutos y medio.

La línea verde proyecta la temperatura programada en el microondas. La línea roja describe la temperatura (℃) alcanzada por la muestra durante el calentamiento. La línea amarilla representa la potencia (W) que regula el alcance y mantención de la temperatura propuesta.

1.3.1. Curvas de secado

La figura I.2 muestra las curvas de secado de los once sistemas del diseño experimental (Tabla 2.1 del capítulo II). En las mismas se observa el registro de la variación del contenido de humedad (MR) a través del tiempo.

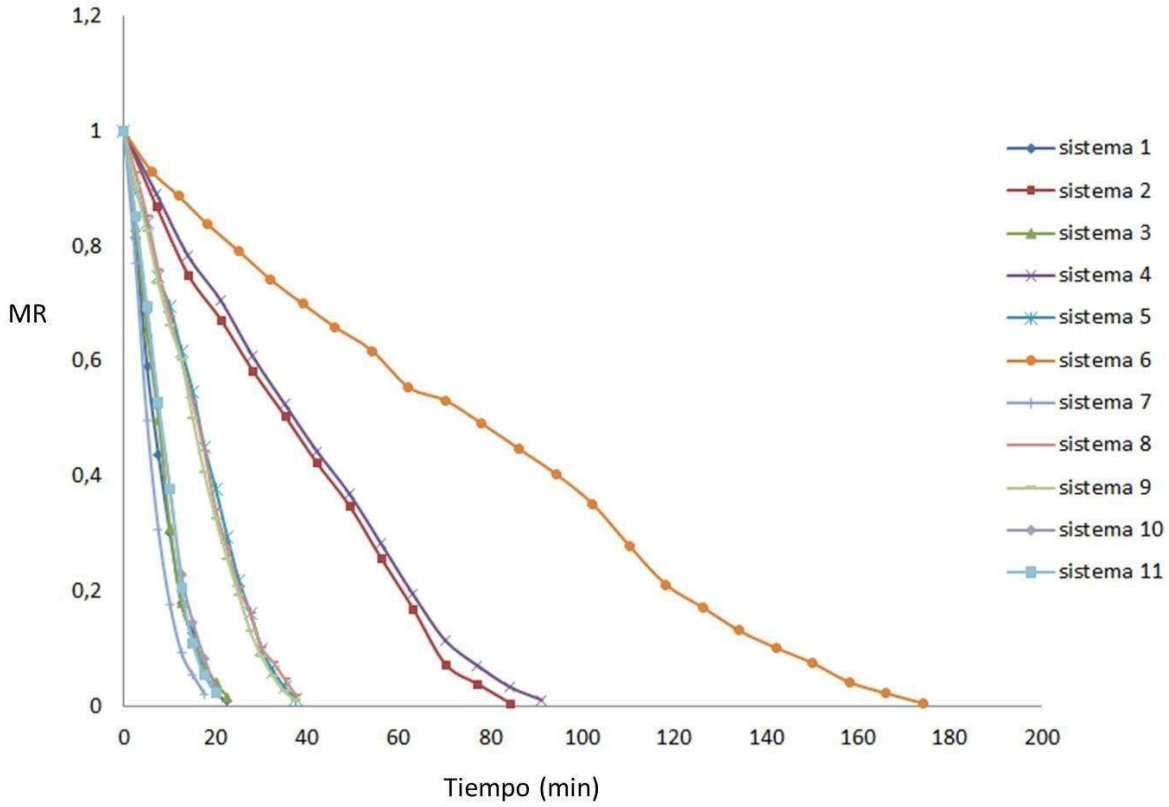

Figura I.2. Curvas de secado de los once sistemas del diseño. MR: variación del contenido de humedad a través del tiempo.

La humedad inicial del durazno (cáscara y pulpa), fue de 79,66g agua/100g residuo húmedo.

Las curvas de secado mostraron una directa incidencia de la temperatura sobre el tiempo de secado como se puede observar en la figura I.2. Por ejemplo en el sistema 6, donde se usó la menor temperatura de secado o sea 40,0℃, se necesitaron alrededor de 180 minutos para alcanzar valores de humedad constante, mientras que en el sistema 7 donde se utilizó la mayor temperatura o sea 80,0℃, se requirió un tiempo de 20 minutos. Los sistemas 2 y 4 secados a 50,0℃ requirieron alrededor de 100 minutos para alcanzar dicha humedad.

La ecuación de Page describió adecuadamente el proceso de secado, En la tabla I.1 se resumen los valores obtenidos para las variables n y k y los correspondientes R^2 para los diferentes sistemas del diseño experimental, presentando valores de R^2 entre 97,74 y 99,97.

Tabla I.1. Resumen de los parámetros de ajuste de la ecuación de Page

SISTEMA	Etanol muestra (ml/g)	Temperatura de Secado °C	Tiempo de secado (min)	R^2	k^1 $(min)^{-n}$	n^1
1	5,0	70,0	25	99,86	$0,058 \pm 0,005^a$	1,33 ± 0,04
2	5,0	50,0	91	98,01	$0,004 \pm 0,002^b$	1,4 ± 0,1
3	3,0	70,0	25	99,83	$0,040 \pm 0,004^c$	1,46 ± 0,05
4	3,0	50,0	98	98,79	$0,004 \pm 0,002^b$	1,5 ± 0,1
5	4,0	60,0	40	98,91	$0,029 \pm 0,004^c$	1,57 ± 0,07
6	4,0	40,0	182	97,74	$0,0009 \pm 0,0004^b$	1,5 ± 0,1
7	4,0	80,0	20	99,97	$0,077 \pm 0,003^a$	1,35 ± 0,02
8	2,0	60,0	40	99,49	$0,0010 \pm 0,002^b$	1,57 ± 0,07
9	6,0	60,0	40	99,23	$0,012 \pm 0,003^{b,d}$	1,54 ± 0,08
10	4,0	60,0	22,5	99,75	$0,032 \pm 0,005^c$	1,52 ± 0,06
11	4,0	60,0	22,5	99,62	$0,026 \pm 0,005^{c,d}$	1,62 ± 0,09

[1]Constantes de la ecuación de Page. Se informan los valores estimados y el error estándar del ajuste. Letras diferentes representan diferencias significativas ($p<0,05$).

No se observaron diferencias significativas para el exponente n, mostrando valores dentro del rango (1,33 a 1,62); los valores de k variaron entre 0,0009 y 0,077 min^{-n}. Se observa una tendencia al aumento de k con el incremento de la temperatura de proceso.

Respecto a la fracción obtenida con las condiciones optimizadas, la figura I.3, muestra, a modo de ejemplo, los datos experimentales y la curva de ajuste con el modelo de Page a una temperatura de 55°C. Para esta curva los valores de n y k fueron 1,70 y 0,00411 , respectivamente. El valor del R^2 para este ajuste fue 99,59. Los tiempos de secado estuvieron acordes respecto a los sistemas antes reportados, siendo el tiempo aproximado de secado, de 50 minutos.

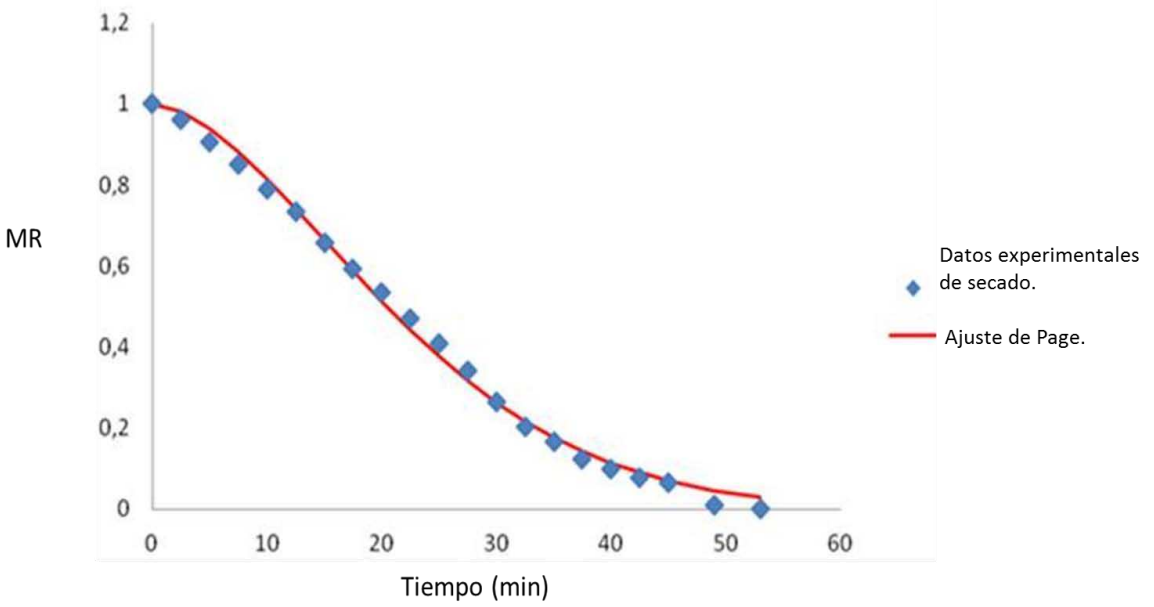

Figura I.3. Curvas de secado del sistema optimizado. MR: variación del contenido de humedad en función del tiempo.

ANEXO II

TABLAS DE RESULTADOS COMPLETAS

Tabla II.1. Respuestas del diseño experimental con sus respectivos desvíos estándar. (n = 3).

Etanol/muestra (ml/g)[1]	Temperatura secado (°C)	WRC (g/g)[2]	RW (%)[3]	WHC (g/g)[4]	SC (ml/g)[5]	OHC (g/g)[6]	Volumen Específico (cm^3/g)	Rendimiento (%)	Fracción soluble (%)
5,0	70,0	19,1 ± 0,7	46 ± 2	31 ± 2	25,4 ± 0,4	1,46 ± 0,02	2,30 ± 0,01	5,3 ± 0,2	14 ± 1
5,0	50,0	23 ± 1	58 ± 2	41 ± 2	33 ± 1	1,7 ± 0,1	2,30 ± 0,04	5,1 ± 0,2	14 ± 3
3,0	70,0	21 ± 2	49 ± 2	36,7 ± 0,2	29,35 ± 0,04	1,89 ± 0,02	2,82 ± 0,01	5,9 ± 0,2	12 ± 1
3,0,	50,0	17,3 ± 0,9	44 ± 3	37,4 ± 2,2	26,4 ± 0,8	1,22 ± 0,06	2,03 ± 0,01	5,2 ± 0,2	16 ± 2
4,0	60,0	23,5 ± 0,2	53,5 ± 0,5	36,1 ± 0,8	30 ± 2	1,75 ± 0,02	2,73 ± 0,01	6,2 ± 0,2	12 ± 1
4,0	40,0	19 ± 1	49 ± 2	38 ± 1	25 ± 1	1,25 ± 0,03	2,06 ± 0,02	5,0 ± 0,2	13 ± 2
4,0	80,0	22,3 ± 0,7	56 ± 1	35,1 ± 0,4	28,6 ± 0,2	1,77 ± 0,03	2,44 ± 0,04	5,3 ± 0,2	11 ± 1
2,0	60,0	20 ± 2	44 ± 2	34 ± 1	21,6 ± 0,5	1,24 ± 0,03	2,56 ± 0,01	7,3 ± 0,2	18 ± 2
6,0	60,0	21 ± 1	51,6 ± 0,2	36 ± 1	29,2 ± 1	1,32 ± 0,08	2,02 ± 0,01	5,7 ± 0,2	14 ± 2
4,0	60,0	22,2 ± 0,5	53 ± 2	34 ± 2	31,5 ± 0,6	2,05 ± 0,03	2,85 ± 0,02	6,5 ± 0,2	12 ± 2
4,0	60,0	22,1 ± 0,7	55 ± 2	35 ± 2	32,1 ± 0,7	1,98 ± 0,09	2,85 ± 0,01	5,9 ± 0,2	10,2 ± 0,6

[1]Relacion etanol/muestra: ml de etanol por gramo de muestra.
[2]Capacidad de retención de agua: gramos de agua retenida después de la centrifugación por gramo de masa seca.
[3]Porcentaje de agua retenida: gramos de agua retenida después de la centrifugación por 100 gramos de agua añadida.
[4]Capacidad de atrapamiento de agua: gramo de agua retenida por gramo de masa seca.
[5]Capacidad de hinchamiento: ml de volumen de fibra hidratada por gramo de masa seca.
[6]Capacidad de retención de aceite: gramos de aceite retenido por gramo de masa seca.

Tabla II.2. Propiedades de las fracciones obtenidas con las relaciones etanol/muestra y temperaturas de secado correspondientes a la optimización por superficie de respuesta múltiple para verificar las propiedades de los Grupos 1 y 2 con su desvío estándar. (n = 3).

Grupo	Etanol/muestra (ml/g)	Temperatura Secado (°C)	WRC (g/g)	RW (%)	WHC (g/g)	SC (ml/g)	OHC (g/g)	Volumen Específico (cm^3/g)	Rendimiento (%)	Fracción soluble (%)
1	2,0	78,2	22 ± 3	55 ± 4	35 ± 2	28 ± 2	1,50 ± 0,07	2,30 ± 0,01	6,0 ± 0,2	10 ± 3
2	5,3	45,0	24,4 ± 0,2	57,3 ± 0,8	41 ± 2	27,6 ± 0,4	1,22 ± 0,01	2,12 ± 0,01	4,5 ± 0,1	17 ± 1

BIBLIOGRAFÍA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC (2001). The definition of dietary fibre. Report of the dietary fibre definition committee to the board of directors of the american association of cereal chemists. *Cereals Food World*. 46, 112-126.

Adedeji, A.A., Ngadi, M.O., Raghavan, G.S.V (2009). Kinetics of mass transfer in microwave precooked and deep-fat fried chicken nuggets. *Journal of Food Engineering.* 91, 146–153.

Ahmed, J., Shivhare, U.S., Singh, G (2001). Drying characteristics and product quality of coriander leaves. *Food and Bioproducts Processing*. 79, 103-106.

Allen, T (1989). Granulométrie. *Technique de l'Ingénieur*. 1040–1066.

Anderson, E.T., Berry, B.W (2001). Identification of nonmeat ingredients for increasing fat holding capacity during heating of ground beef. *Journal of Food Quality*. 24, 291–299.

Andres, A., Bilbao, C., Fito, P (2004). Drying kinetics of apple cylinders under combined hot air-microwave dehydration. *Journal of Food Engineering.* 63, 71–78.

Askar, A (1998). Importance and characteristics of tropical fruits. *Fruit Processing*. 8, 273–276.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99, 191–203.

Barros, N.B., Spacino, S.I., Bruns, R (2003). Como Fazer Experimentos. Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria. Sao Paulo: *Ed. Unicamp*.

Bazzano, L.A., He, J., Muntner, P., Vupputuri, S., Whelton, P.K (2003). Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Intern Med*. 138, 891-897.

Bonfield, C. T (1985). Socioeconomic aspects of a fiber-deficient public diet. In G.V. Vahouny, and D. Kritchvsky (Eds.*), Dietary Fibre: Basic and Clinical Aspects*. New York: Plenum Press. (pp. 55-67)

Boyer, J. S (2009). Cell wall biosynthesis and the molecular mechanism of plant enlargement. *Functional Plant Biology*. 36, 383–394.

Bozkir, O (2006). Thin layer drying and mathematical modeling for washed dry apricots. *Journal of Food Engineering*. 77(1), 146–151.

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

Buckeridge, M.S., dos Santos, H.P., Tine, M.A.S (2000). Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*. 38, 141–156.

Budini, R., Tonelli, D., Girotti, S (1980). Analysis of total phenols using Prussian blue method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26 (6), 1236–1238.

Buetler, T.M., Renard, M., Offord, E.A., Schneider, H., Ruegg, U.T (2002). Green tea extract decreases muscle necrosis in mdx mice and protects against reactive oxygen species. *American Journal of Clinical Nutrition*. 75, 749–753.

Bunzel, M., Ralph, J., Marita, J., Steinhart, H (2000). Identification of 4-O-5´-coupled diferulic acid from insoluble cereal fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 48, 3166–3169.

Buttriss, J.L., Stokes, C.S (2008). Dietary fibre and health: an overview. Journal compilation, British Nutrition Foundation *Nutrition Bulletin*. 33, 186–200

Cadden, A.M (1987). Comparative effects of particle size reduction on physical structure and water binding properties of several plant fibers. *Journal Food Science.* 52(6):1595-1599.

Carpita, N., Salularse, D., Montezinos, D., Delmer, D. P (1979). Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. *Science*. 205, 1144-1147.

Changrue, V., Orsat, V., Raghavan, G.S.V (2008). Osmotically dehydrated microwaved-vacuum drying of strawberries. *Journal of Food Processing and Preservation.* 32, 798–816.

Chau, Chi.F., Wang, Yi.T., Wen, Yu.L (2004). Comparison of the characteristics, functional properties, and in vitro hypoglycemic effects of various carrot insoluble fiber-rich fractions. *LWT – Food Science and Technology.* 37, 155–160.

Clary, C.D., Wang, S., Petrucci, V.E (2005). Fixed and incremental levels of microwave power application on drying grapes under vacuum. *Journal of Food Science.* 70, 344–349.

Codex, Alimentarius (2009). Informe De La 30ª Reunión Del Comité Del Codex Sobre Nutrición y Alimentos Para Regímenes Especiales. Roma Italia.

Contreras, C., Martín-Esparza, M.E., Chiralt, A., Martínez-Navarrete, N (2008). Influence of microwave application on convective drying: Effects on drying kinetics, and optical and mechanical properties of apple and strawberry. *Journal of Food Engineering*. 88, 55–64.

Cosgrove, D.J (2005). Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 6, 850–861.

Crombie, H.J., Chengappa, S., Hellyer, A., Reid, J.S.G (1998). A xyloglucan oligosaccharide-active, transglycosylating beta-D-glucosidase from the cotyledons of nasturtium (*Tropaeolum majus L*) seedlings – purification, properties and characterization of a cDNA clone. *Plant Journal*. 15, 27–38.

Crombie, H. J., Chengappa, S., Jarman, C., Sidebottom, C., Reid, J. S. G (2002). Molecular characterisation of a xyloglucan oligosaccharide-acting alpha-Dxylosidase from nasturtium (Tropaeolum majus L.) cotyledons that resembles plant 'apoplastic' alphaD-glucosidases. *Planta*, 214, 406–413.

Cui, S.W., Wang, Q (2009). Cell wall polysaccharides in cereals: chemical structures and functional properties. *Structural Chemistry*. 20, 291–297.

Cui, Z.W., Xu, S.Y., Sun, D.W., Chen, W (2005). Temperature changes during microwave-vacuum drying of sliced carrots. *Drying Technology*. 23, 1057–1074.

De Escalada Pla, M.F., Ponce, N.M., Stortz, C.A., Gerschenson, L.N., Rojas, A.M (2007). Composition and functional properties of enriched fiber products obtained from pumpkin (*Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret*). *LWT – Food Science and Technology.* 40, 1176–1185.

De Escalada Pla, M.F., Uribe, M., Fissore, E., Gerschenson, L., Rojas, A.M (2010). Influence of the isolation procedure on the characteristics of fiber-rich products obtained from quince wastes. *Journal of Food Engineering*. 96, 239-248.

De Escalada Pla, M.F., Gonzales, P., Sette, P., Portillo, F., Rojas, A.M., Gerschenson, L (2012). Effect of processing on physico-chemical characteristics of dietary fibre concentrates obtained from peach (*Prunus Persica* L.) peel and pulp. *Food Research International.* 49, 184–192.

De Escalada Pla, M.F., González, P., Nieto, J., Eim, V., Gerschenson, L y Femenia, A. (2011). Efecto de la deshidratación sobre la estructura química y microscópica de la fibra dietaria de durazno. Proceeding del Congreso Ciencia y Tecnología de Alimentos-CYTAL 2011, realizado en Buenos Aires, Argentina del 19 al 21 de octubre de 2011. ISBN del CD 978-987-22165-4-2

Del Castillo, E., Montgomery, D.C., McCarville D.R (1996). Modified desirability functions for multiple response optimization. *Journal of Quality Technology*. 28(3), 337-345.

Demirel, D., Turhan, M (2003). Air-drying behavior of Dwarf Cavendish and Gros Michel banana slices. *Journal of Food Engineering*. 59, 1–11.

Diehr, P., Beresford, S.A (2003). The relation of dietary patterns to future survival, health, and cardiovascular events in older adults. *Journal Clinical Epidemiology.* 56(12):1224-1235.

Dionissios, P.M., Ghiaus, A.G (2007). Experimental study of hot air drying of Sultana grapes. *Journal of Food Engineering.* 79 (4), 1115–1121.

Dirección Nacional de Transformación y Comercialización de Productos Agrícolas y Forestales de Argentina (2011). Informe sectorial.

Doymaz, I. (2004). Effect of pre-treatments using potassium metabisulphide and alkaline ethyl oleate on the drying kinetics of apricots. *Biosystems Engineering*. 89(3), 281–287.

Doymaz, I., Pala, M (2002). The effects of dipping pretreatment on air-drying rates of the seedless grapes. *Journal of Food Engineering*. 52, 413–417.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Robers, P.A., Smith, F (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28, 350–356.

Eastwood, M. A. (1987). Dietary fiber and risk of cancer. *Nutrition. Rev*,7, 193.

Edwards, M.E., Dickson, C.A., Chengappa, S., Sidebottom, C., Gidley, M.J., Reid, J. S.G (1999). Molecular characterisation of a membrane-bound galactosyltransferase of plant cell wall matrix polysaccharide biosynthesis. *Plant Journal*. 19, 691–697.

Englyst, K. N., Liu, S., Englyst, H. N (2007). Nutritional characterization and measurement of dietary carbohydrates. *European Journal of Clinical Nutrition*. 61, S19–39.

Femenia, A., Bestard, M. J., Sanjuan, N., Rosselló, C., Mulet, A (2000). Effect of rehydration temperature on the cell wall components of broccoli (*Brassica oleracea* L. italica) plant tissues. *Journal of Food Engineering*. 46, 157–163.

Femenia, A., García, P.G., Simal, S., Rosselló, C (2003). Effects of heat and dehydration on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from Aloe barbadensis Miller. *Carbohydrate Polymers*. 51, 397–405.

Femenia, A., Sastre-Serrano, G., Simal, S., Garau, M. C., Eim, V., Rosselló, C (2009). Effects of air-drying temperature on the cell walls of kiwifruit processed at different stages of ripening. *LWT- Food Science and Technology*. 42, 106–112.

Filisetti-Cozzi, T.M.C.C., Carpita, N.C (1991). Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical Biochemistry.* 197, 157–162.

Fissore, E.N., Ponce, N.M.A., Stortz, C.A., Rojas, A.M., Gerschenson, L.N (2007). Characterization of fiber obtained from pumpkin (Cucumis moschata, Duch.) mesocarp through enzymatic treatment. *Food Science Technology International*. 16 (1), 1–7.

Fissore, E.N., Ponce, N.M.A., Matkovic, L., Stortz, C.A., Rojas, A.M., Gerschenson L.N (2011) Isolation of pectin-enriched products from red beet (Beta vulgaris L. var. conditiva) wastes: composition and functional properties. *Food Science and Technology International.* 17(6) 517–527

Franco, D (2012). Durazno en conserva. Área de Industria Agroalimentaria - Dirección de Promoción de la Calidad de Productos Agrícolas y Forestales - Subsecretaría de Agregado de Valor y Nuevas Tecnologías. Argentina.

Fricke, W., Jarvis, M. C., Brett, C. T (2000). Turgor pressure, membrane tension and the control of exocytosis in higher plants. *Plant Cell and Environment*. 23, 999–1003.

Garau, M.C., Simal, S., Roselló, C., Femenia, A (2007). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium v*. Canoneta) by-products. *Food Chemistry*. 104 (2007) 1014–1024.

Gardner, P.T., White, T.A.C., McPhail, D.B., Duthie, G.G (2000). The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*. 68, 471–474.

Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X., Cummings, J.H (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*. 108:975-82.

Gibson, G.R., Probert, H.M., Loo, J.V., Rastall, R.A., Roberfroid, M.B (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews.* 17, 259–275;

Gómez, E., Jimenez, A., Rupérez P (2010). Dietary fibre and physicochemical properties of several edible seaweeds from the northwestern Spanish coast. *Food Research International.* 43 (2010) 2289–2294

González, P., Sette, P., Portillo, F., Rojas, A., de Escalada Pla, M (2010). Caracterización de fibra dietaria procedente de duraznos (*Prunus persica L.*). XXVIII Congreso Argentino de Química. Universidad Nacional de Lanús, Buenos Aires, Argentina.

Guillon, F., Auffret, A., Robertson, J. A., Thibault, J.F., Barry, J.L (1998). Relationships between physical characteristics of sugar beet fibre and its fermentability by human faecal flora. *Carbohydrate Polymers*. 37, 185–197.

Guillon, F., Champ, M (2000). Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology*. Food Research International.* 33 (2000) 233-245

Gurni, A., Wagner M (2011). Guía de trabajos prácticos. Farmacobotánica. Unidades temáticas 1 y 2. Centro de estudiantes de Farmacia y bioquímica. Ciudad autónoma de Buenos Aires.

Grigelmo, M.N., Gorinstein, S., Martín, B.O (1999). Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. *Food Chemistry.* 65 (1999) 175±181

Ha, M.A., Jarvis, M.C., Mann, J.I (2000). A definition for dietary fibre. *European Journal of Clinical Nutrition*. 54, 861–864.

Harris, P.J., Smith, B.G (2006). Plant cell walls and cell-wall polysaccharides: structures, properties and uses in food products. *International Journal of Food Science and Technology*. 41, 129–143.

Hayashi, R (2002). Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology. Elsevier. Series: Progress in Biotechnology, London, U.K.

Hermida, J.R. (1993). "Tratamiento y aprovechamiento del orujo de aceituna" *Tecnologías Complementarias en la Industria Alimentaria*. 137-148.

Jarvis, M.C (2009). Plant cell walls: supramolecular assembly, signalling and stress. *Structural Chemistry*. 20, 245–253.

Jarvis, M.C (2011). Plant cell walls: Supramolecular assemblies*. Food Hydrocolloids.* 25 (2011) 257–262.

Jasna, P.K., Sander, A., Skansi, D (2001). Comparison of convective, vacuum and microwave drying chlorpropamide. *Drying Technology*. 19(1), 167–183.

Karathanos, V.T., Belessiotis, V.G (1999). Application of a thin-layer equation to drying data of fresh and semi-dried fruits. *Journal of Agricultural Engineering Research*. 74, 355–361.

Karpinska, M., Borowski, J., Danowska-Oziewicz M (2000). Antioxidative activity of rosemary extract in lipid fraction of minced meat balls during storage in a freezer. *Nahrung*. 44, 38–41.

Katiyar, S.K., Elmets C.A (2001). Green tea polyphenolic antioxidants and skin photoprotection. *Internal Journal of Oncology*. 18 (2001), pp. 1307–1313

Kim, D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food chemistry.* 81: 321-326.

King, D.E., Mainous, A.G.III., Carnemolla, M., Everett, C.J (2009). Adherence to healthy lifestyle habits in US adults. 1988-2006. *The American Journal of Medicine*. 122(6):528-534.

King, D., Mainous, A.G.III., Lambourne, C.A (2012). Trends in Dietary Fiber Intake in the United States, 1999-2008. *Eat Right. Original Research. 2212-2672.*

Klessen, B., Sykura, B., Zunft, H.J., Blaut, M (1997). Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. *American Journal of Clinical Nutrition.* 65:1397-402.

Knoerzer, K., Regier, M., Schubert, H (2006). Microwave heating: a new approach of simulation and validation. *Chemical Engineering and Technology.* 29, 796–801.

Knox, J.P (2008). Revealing the structural and functional diversity of plant cell walls. *Current Opinion in Plant Biology*. 11, 308–313.

Koç, B., Eren, I, Ertekin, F.K (2008). Modelling bulk density, porosity and shrinkage of quince during drying: The effect of drying method. *Journal of Food Engineering*. 85, 340-349.

Krishnakumar, V., Gordon, I (1996). Antioxidants – trends and developments. *International Food Ingredients*. 12, 41–44.

Latorre, M.E., Narvaiz, P., Rojas, A.M., Gerschenson, L.N (2010). Effects of gamma irradiation on bio-chemical and physico-chemical parameters of fresh-cut red beet *(Beta vulgaris* L. var. conditiva) root. *Journal of Food Engineering*. 98 (2), 178–191.

Latorre, M.E., de Escalada Plá, M., Rojas A.M., Gerschenson, L.N (2013). "Blanching of red beet (Beta vulgaris L. var. conditiva) root. Effect of hot water or microwave radiation on cell wall characteristics". *LWT - Food Science and Technology*. 50 (1), 193–203.

Laufenberg, G., Kunz, B., Nystroem, M (2003). Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresearch Technology*. 87, 167–198.

Leistner, L., Gould, G (2002). Hurdle Technologies: Combination Treatment for Food Stability, Safety and Quality. Kluwer-Springer. NY, USA.

Lichtenstein, A.H., Appel, L.J., Brands, M (2006). Diet and lifestyle recommendations revision 2006: A scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. Circulation. 114(1):82-96.

Liese, A.D., Roach, A.K., Sparks, K.C., Marquart, L., D'Agostino, R.B. Jr., MayerDavis, E.J (2003). Whole grain intake and insulin sensitivity: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 78(5):965-971.

Lowe, E.D., Buckmaster, D.R (1995). Dewatering makes big difference in compost strategies. *Biocycle*. 36, 78–82.

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

Lu, L., Tang, J., Ran, X (1999). Temperature and moisture changes during microwave drying of sliced food*. Drying Technology.* 17, 413–432*.*

Lunn, J., Buttriss, J.L (2007) Carbohydrates and dietary fibre. *Nutrition Bulletin.* 32: 21–64.

Lupo, M.P (2001). Antioxidants and vitamins in cosmetics. *Clinics in Dermatology.* 19: 467-473.

Margaris, D.P., Ghiaus, A.G (2007). Experimental study of hot air dehydration of Sultana grapes. *Journal of Food Engineering.* 79 (4), 1115–1121.

McBurney, M. I., Thompson, L. U. (1990). Fermentative characteristics of cereal brans and vegetable fibers. *Nutrition and Cancer*. *13*, 271–280.

McCann, M.C., Wells, B., Roberts, K (1990). Direct visualization of cross-links in the primary cell wall. *Journal of Cell Science*. 96, 323–334.

McCleary, B., DeVries, J., Rader, J., Cohen, G., Prosky, L., Mugford, D., Champ, M y Okuma, K (2011). Collaborative study report: Determination of insoluble, soluble and total dietary fibre (CODEX definition) by an enzymatic gravimetric method and liquid chromatography. Cereals Food World. 56(6), 238-247.

Mohnen, D (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*. 11, 266–277.

Moller, I., Sorensen, I., Bernal, A. J., Blaukopf, C., Lee, K., Obro, J., Filomena Pettolino., Alison Roberts., Mikkelsen, J.D., Knox, J.P., Bacic, A., Willats, W.G.T (2007). High throughput mapping of cell-wall polymers within and between plants using novel microarrays. *Plant Journal*. 50, 1118–1128.

Montgomery D.C (2008). Desing and Analysis of experiments. Jhon Wiley and Sons. New Jersey, USA. Séptima edición.

Moore, R., Clark, W.D., Vodopich, D.S (1996). "Botany". 2nd ed., páginas. 56, 60, 67. WCB/McGraw-Hill, Boston.

Murthy, G.S., Prasad, S (2005). A completely coupled model for microwave heating of foods in microwave oven. An ASAE Meeting Presentation Paper Number. 05, 60-62.

Nakamura, A., Furuta, H., Maeda, H., Takao, T., Nagamatsu, Y (2002). Analysis of the molecular construction of xylogalacturonan isolated from soluble soybean polysaccharides. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 66, 1155–1158.

Narciso-Baltierra, T (2000). Publicaciones Reino Vegetal. Durazno. Esc. Sec. Técnica No. 46. Michoacán Mexico.

Naumenko, I. V., & Phillipov, M. P. (1992). Colorimetric method for determination of acetyl groups in pectic substances. Akademi Nauk Republi Moldova Biologi i Khimie Nauki. 1, 56–59.

Ng, A., Parr, A.J., Ingham, L.M., Rigby, N.M., Waldron, K.M (1998). *"*Cell wall chemistry of carrots (*Daucus carota CV*. Amstrong) during maturation and storage"*. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 46, 2933-2939.*

Niklas, K. J (2004). The cell walls that bind the tree of life*. Bioscience.* 54, 831–841.

O'Neill, M. A., Ishii, T., Albersheim, P., Darvill, A. G (2004). Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide*. Annual Review of Plant Biology*. 55, 109–139.

Pagán J., Ibarz A., Llorca M., Pagán A., y Barbosa-Cánovas G.V (2001). "Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace". *Food Research International*. 34, 605-612.

Page G (1949). Factors influencing the maximum rates of air drying shelled corn in thin layer. M. Sc. Thesis, Purdue University. *Lafayette, IN, U.S.A.*

Park, Y., Subar, A.F., Hollenbeck, A., Schatzkin, A (2011). Dietary fiber intake and mortality in the NIH-AARP diet and health study. *Archives of internal medicine*. 171(12),1061-1068.

Parr, A.J., Ng, A., Waldron, K.W (1997). Ester-linked phenolic components of carrot cell walls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45 (7), 2468–2471.*

Pérez, J., Serrano, J., Tabernero, M., Arranz, S., Díaz, M.E., García, L (2008). Effects of grape antioxidant dietary fiber on cardiovascular disease risk factors. *Nutrition*. 24, 646-653.

Periago, M. J., Ros, G., López, G., Martínez, M.C., Rincón, F (1993). Componentes de la fibra dietética y sus efectos fisiológicos. *Rev. Esp. Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 33 (3), 229-246.

Peschel, W., Sánchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzia, I., Jiménez, D Lamuela-Raventós, R., Buxaderas, S., Codina, C (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*. 97, 137–150.

Plan estratégico para el Durazno industria (2006). *IDR*. La nueva ruralidad.

Popper, Z.A (2008). Evolution and diversity of green plant cell walls. *Current Opinion in Plant Biology*. 11, 286–292.

Prabhanjan, D.G., Ramaswamy, H.S., Raghavan, G.S.V (1995). Microwave-assisted convective air drying of thin layer carrots. *Journal of Food Engineering*. 25, 283–293.

Puttongsiri, T., Haruenkit, R (2010). Formulation of Chitosan-Oleic Acid Coating for Kiew Wan Tangerine by Response Surface Methodology. *Kasetsart Journal: Natural Science*. 44, 462 – 470.

Raghavan, G.S.V., Rennie, T.J., Sunjka, P.S., Orsat, V., Phaphuangwittayakul, W., Terdtoon, P (2005). Overview of new techniques for drying biological materials with emphasis on energy aspects. *Brazilian Journal of Chemical Engineering.* 22 (2).

Raghavendra, S.N., Rastogi, N.K., Raghavarao, K.S.M.S., Tharanathan, R.N (2004). Dietary fibre from coconut residue: effects of different treatments and particle size on the hydration properties. *European Food Research Technology*. 218, 563-567.

Rahman, N., Kamaruddin, A., Uzir, M. (2010). Continuous Biosynthesis of Farnesyl Laurate in Packed Bed Reactor: Optimization using Response Surface Methodology. *Journal of Applied Science*. 10, 1110-1115.

Reddy, N., Yang, Y (2005). Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications. *Trends in Biotechnology*. 23, 22–27.

Renard, C.M.G.C., Ginies, C (2009). Comparison of the cell wall composition for flesh and skin from five different plums. *Food Chemistry.* 114 (2009), 1042–1049.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 2, 152–159.

Roberfroid, M (2007). Prebiotics: The Concept Revisited. *The Journal of Nutrition*, 137, 830S-837S).

Roberfroid, M.B (2000) Fructo-oligosaccharide malabsorption: benefit for gastrointestinal functions. *Current Opinion in Gastroenterology*.16, 173-7.

Roberfroid, M.B (2002) Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease.* 34(SUPPL.2), S105-10

Roberston, J. A., Eastwood, M. A (1980). An examination of factors which may affect the water holding capacity of dietary fibre. *Bristish Journal of Nutrition*. 45, 83–88.

Robertson, J.A., de Monredon, F.D., Dysseler, P., Guillon, F., Amadò, R., Thibault, J.F (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *LWT - Food Science and Technology.* 33, 72-79.

Salvador, V., Cherbut, C., Barry, J.L., Bertrand, D., Bonnet, C., DelortLaval, J (1993). Sugar composition of dietary fibre and short chain fatty acid production during in vitro fermentation by human bacteria. *Bristish Journal of Nutrition. 70*, 189–197.

Sambucetti, M.E. 2006. La fibra de los alimentos, Capítulo 3 del libro Energía y Macronutrientes en la Nutrición del siglo XXI por MARIA LUZ PITA MARTÍN DE PORTELA) *La prensa médica Argentina.* Pag 181-192

Sánchez, I., Jiménez, A., Saura-Calixto, F., Borderías, A. J (2006). Effect of grape antioxidant dietary fiber on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chemistry*. 101, 372-378.

Sanga, E., Mujumdar, A.S., Raghavan, G.S.V (2000). Principles and application of microwave drying. In: Mujumdar, A.S. (Ed.), Drying Technology in Agriculture and Food Sciences. *Science Publishers, Inc*., Enfield, NH.

Saura-Calixto, F (1993). Fibra dietética de manzana: hacia nuevos tipos de fibras de alta calidad alimentaria. 242, 57-61.

Saura-Calixto, F (1998). Antioxidant dietary fiber product: A new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 484, 303-4306.

Schieber, A., Stintzing, F.C., Carle, R (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds–recent developments. *Trends in Food Science and Technology*. 12, 401–413.

Schneeman, B. O (1987). Soluble vs. insoluble fiber-different physiological responses. *Food Technology*. 41 (2), 81- 82.

Schneeman, B.O (1999). Fiber, inulin and oligofructose: Similarities and differences. *Journal of Nutrition*. 129(7), 1424S–1427S.

Shui, G., Leong, L. P (2006). Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*. 97, 277-284.

Schweizer, T. F., Würsch, P (1991). The physiological and nutritional importance of dietary fibre. *Experentia*. 47, 181-186.

Secmeler, O (2003). Comparison of microwave drying and microwave mixed-bed drying of red peppers. M.Sc Thesis, Dept. of Food Engineering, Middle East Technical University, Turkey.

Sette, P., Latorre, M.E., Soria, M., de Escalada Pla, M y Gerschenson, L (2011). Efecto de las condiciones de obtención sobre la funcionalidad de fibra dietaria de durazno. XIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Buenos Aires, Argentina.

Sharma, G., Prasad, S (2001). Drying of garlic (Allium sativum) cloves by microwave–hot air combination. *Journal of Food Engineering*. 50, 99–105.

Simal, S., Femenia, A., Garau, M. C., Rossello, C (2005). Use of exponential, Page's and difusional models to simulate the drying kinetics of kiwi fruit. *Journal of Food Engineering*. 60, 323 –328.

Simal, S., Femenia, A., Llull, P., Rosselló, C (2000). Dehydration of aloe vera: simulation of drying curves and evaluation of functional properties. *Journal of Food Engineering*. 43, 109–114.

Singleton, V.L., Rossi, J (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture.* 16, 144–153.

Somerville, C., Bauer, S., Brininstool, G., Facette, M., Hamann, T., Milne, J., Osborne, E., Paredez, A., Persson, S., Raab, T., Vorwerk, S., Youngs, H (2004). Toward a systems approach to understanding plant-cell walls. *Science*. 306, 2206–2211.

Spiller, G.A (2001). Handbook of dietary fiber in human nutrition. Boca Ratón: CRC Press.

Tewari, G., Juneja, V (2007). Advances in thermal and non-thermal food preservation. *Blackwell Publishing Limited*, Oxford, UK.

Thibault, J.F., Lahaye, M., Guillon, F (1992). Physicochemical properties of food plant cell walls. In T. F. Schweizer, and C. Edwards. Dietary Fibre, a component of food. *Nutritional function in health and disease*. ILSI Europe (pp. 21-39). Berlin: Springer-verlag.

Thibault, J.F., Ralet, M.C (2001). Pectins, their origin, structure and functions. In B. V. McCleary and L. Prosky (Eds.), *Advanced dietary fibre technology*. *Oxford: Blackwell Science Ltd.* (pp. 369–378).

Thomas, M., Guillemin, F., Guillon, F., Thibault, J-F (2003). Pectins in the fruits of Japanese quince (Chaenomeles japonica). *Carbohydrate Polymers.* 53 (2003), 361–372

Titgemeyer, E.C., Bourquin, L.D., Fahey, G.C., Garleb, K.A (1991). Fermentability of various fiber sources by human fecal bacteria in vitro. *American. Journal of Clinical. Nutrition. 53*, 1418–1424.

Tosh, S.M., Yada, S (2010). Dietary fibres in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications*. Food Research International.* 43 (2010) 450–460.

Trowell, H.C., Southgate, D., Wolever, T., Leeds A., Gassull, M., Jenkins D (1976). "Dietary fiber re-defined". *Lancet*. 1, 967.

Tungland, B.C., Meyer, D. (2002). "Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food". *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3, 73-92.

Van Loo, J., Franck, A., Cummings, J.H, Macfarlane, G.T., Englyst, H.N., Quigley, M.E (1999). Consensus document on the functional food properties of non digestible oligosaccharides (DGXII ENDO Project). *British Journal of Nutrition*. 81, 121-32.

Vinson, J. A., Hao, J., Su, X., Zubik, L (1998). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Vegetables. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 46, 3630–3634.

Wang Q., Cui S.W (2005). "Understanding the physical properties of food polysaccharides." En: S.W. Cui (Ed.), *Food Carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*, London: Taylor and Francis, United Kingdom.

Willats, W.G.T., McCartney, L., Steele-King, C.G., Marcus, S.E., Mort, A., Huisman, M (2004). A xylogalacturonan epitope is specifically associated with plant cell detachment. *Planta*. 218, 673–681.

Willats, W.G.T., Knox, P., Mikkelsen, J. D (2006). Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*. 17, 97–104.

Wood, P.J., Siddiqui, L.R (1971). Determination of methanol and its application for measurement of pectin ester content and pectin methyl esterase activity. *Analytical Biochemistry*. 39, 418–428.

Wong, J.M., Souza, R., Kendall, C.W., Emam, A., Jenkins, D.J. (2006). Colonic health: Fermentation and short-chain fatty acids. *Journal of Clinical Gastroenterology.* 40, 235-243.

Yang, J., Meyers, K.J., VanderHeide, J., Liu, R.H (2004). Varietaldifferences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 6787–6793.

Zupko, I., Hohmann, J., Redei, D., Falkay, G., Janicsak, G., Mathe, I (2001). Antioxidant activity of leaves of Salvia species in enzyme-dependent and enzyme independent systems of lipid peroxidation and their phenolic constituents. *Planta Medica*, 67, 366–368.