

Tesis Doctoral

Desarrollo de una metodología para la producción de concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya (*Carica papaya* L.), con propiedades fisicoquímicas y funcionales optimizadas para aplicaciones en la industria de alimentos

Nieto Calvache, Jhon Edinson

2017

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. (2017). Desarrollo de una metodología para la producción de concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya (*Carica papaya* L.), con propiedades fisicoquímicas y funcionales optimizadas para aplicaciones en la industria de alimentos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Nieto Calvache, Jhon Edinson. "Desarrollo de una metodología para la producción de concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya (*Carica papaya* L.), con propiedades fisicoquímicas y funcionales optimizadas para aplicaciones en la industria de alimentos". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2017. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n6135_NietoCalvache



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Industrias

Desarrollo de una metodología para la producción de concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya (*Carica papaya* L.), con propiedades fisicoquímicas y funcionales optimizadas para aplicaciones en la industria de alimentos

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área de Química Industrial

Jhon Edinson Nieto Calvache

Director de tesis: Dra. Lía Noemí Gerschenson

Director Asistente: Dra. Marina de Escalada Pla

Consejero de Estudios: Dra. Lía Noemí Gerschenson

Buenos Aires, 2017

Fecha de defensa: 17/03/2017

Desarrollo de una metodología para la producción de concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya (*Carica papaya* L.), con propiedades fisicoquímicas y funcionales optimizadas para aplicaciones en la industria de alimentos

Resumen de la tesis

En la presente investigación se han estudiado metodologías para la producción de concentrados de fibra dietaria a partir de pulpa y cáscara de papaya (*Carica papaya* L.), las cuales combinan la aplicación de tratamientos con soluciones etanólicas (primera etapa) con una posterior deshidratación con radiaciones no-ionizantes de microondas o por convección con aire caliente (segunda etapa). Se han evaluado las variables de proceso que ejercen la mayor influencia sobre las propiedades de hidratación, de absorción de aceite, volumen específico, color, y contenido de compuestos fenólicos. Una optimización posterior permitió maximizar dichas propiedades mediante la metodología de superficie de respuesta. Se comparó las propiedades del concentrado obtenido de pulpa y cáscara y la incidencia del modo de deshidratación. Se determinó la presencia de ácido ascórbico, carotenoides, fenólicos, y se identificaron los compuestos presentes en relación a los dos últimos tipos de antioxidantes. Se cuantificó el contenido de fenólicos y actividad antioxidante luego de un ensayo de digestibilidad *in vitro*. Se incorporaron los concentrados aislados en emulsiones aceite en agua, evaluando su incidencia en la estabilidad de la emulsión y frente a agentes oxidantes, obteniéndose muy buenos resultados. Los concentrados de fibra dietaria producidos, muestran un gran potencial para ser usados como ingredientes en la formulación de nuevos alimentos, debido a su alta capacidad de absorción y retención de agua y su contenido de compuestos con actividad nutricional y antioxidante. Las propiedades de los concentrados pueden modularse con el método de obtención y ellos pueden contribuir al desarrollo de alimentos saludables.

Palabras claves: Concentrado de fibra dietaria, propiedades funcionales, actividad antioxidante, compuestos de pared celular, emulsiones.

Development of a methodology for the production of dietary fiber concentrates from papaya pulp and peel (*Carica papaya* L.), with optimized physicochemical and functional properties and for applications in the food industry

Thesis abstract

In this research it had been studied methodologies for the production of dietary fiber concentrates from pulp and peel of papaya (*Carica papaya* L.). These methodologies combined the use of treatments with ethanolic solutions (first stage) and a dehydration step with microwave non-ionizing radiations or with hot air convection (second stage). The process variables that exert the greater influence on hydration properties, oil absorption, specific volume, color and phenolics content were evaluated. A response surface methodology allowed determining the treatment conditions that maximize those properties. The properties of the pulp and peel concentrates were compared and the influence of dehydration technique was also analyzed. The presence of ascorbic acid, carotenoids and phenolics was detected and the compounds present in the last two type of antioxidants were identified. The phenolic content and the antioxidant activity after an *in vitro* digestibility assay were quantified. The isolated concentrates were included in formulations of oil in water emulsions and their effect on the emulsion stability and against oxidant conditions were evaluated obtaining very good results. The dietary fiber concentrates showed a great potential for being used as ingredients in the formulation of new foods due to their high capacity for water absorption and retention, their content of nutritional and antioxidant compounds. The properties of these concentrates can be modulated by means of the isolation technique and they can contribute to the development of healthy foods.

Key words: Dietary fiber concentrate, functional properties, antioxidant activity, cell wall compounds, emulsions.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser mi fortaleza espiritual y por haber puesto en mi camino a todas las personas que han sido parte de mi proyecto de vida.

A mis padres, hermanos, familiares y amigos, por el apoyo brindado para culminar todos mis proyectos académicos y de vida. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos y para ellos.

A mi novia y prometida Carolina Ríos, quien me acompañó y apoyó durante todos estos años. Gracias por tanto amor y entrega.

A la Doctora, Lía Noemí Gerschenson, por hacerme partícipe de su grupo de trabajo y por la confianza depositada en mí. Por dirigir eficazmente este trabajo de investigación. Por su gran compromiso de trabajo y por ser un gran ejemplo de persona.

A la Doctora, Marina de Escalada Pla, por todo el esfuerzo y dedicación en la dirección de este trabajo científico. Por todo el apoyo, el apremio y la amistad brindada, a lo largo de estos años.

A mis compañeros de laboratorio, investigadoras, becarios doctorales, tesis de maestría y grado, por su grandiosa amistad, compañerismo y manifestaciones de aprecio hacia mí. De corazón gracias a todos.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET, Por financiar este proyecto de investigación. A la Universidad de Buenos Aires y a la ANPCyT por el apoyo económico.

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

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| CAPÍTULO I | 1 |
| OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE CONCENTRADOS DE FIBRA DIETARIA A PARTIR DE SUB-PRODUCTOS DE PAPAYA (<i>Carica papaya</i> L.) MEDIANTE TRATAMIENTO ETANÓLICO Y DESHIDRATACIÓN CON MICROONDAS | 1 |
| RESUMEN DEL CAPÍTULO I | 2 |
| OBJETIVOS DEL CAPÍTULO I | 3 |
| I.1. INTRODUCCIÓN | 4 |
| I.1.1. Información general de la planta de papaya | 4 |
| I.1.2. Producción local y mundial de papaya | 5 |
| I.1.3. Aprovechamiento de residuos provenientes de la producción e industrialización | 7 |
| I.1.4. Aplicación de tratamientos térmicos para la estabilización de tejidos vegetales | 8 |
| I.1.4.1 Calentamiento dieléctrico | 9 |
| I.1.5. Obtención de fibra dietaria a partir de subproductos vegetales | 11 |
| I.1.6. Definición de fibra dietaria o dietética | 12 |
| I.1.7. Beneficios de la ingesta de fibra dietaria | 14 |
| I.1.8. Tipos de fibra dietaria | 15 |
| I.1.9. Situación actual sobre el consumo de fibra en el mundo | 16 |
| I.1.10. Otros beneficios de la ingesta de fibra dietaria | 18 |
| I.1.11. Funcionalidad de la fibra dietaria y aplicaciones alimenticias | 19 |
| I.1.12. Importancia del tamaño de partícula y volumen aparente de un material | 20 |
| I.1.13. Características del área superficial | 20 |
| I.1.14. Propiedades de hidratación | 21 |
| I.1.15. Efecto de la solubilidad en la funcionalidad de la fibra dietaria | 22 |
| I.1.16. El color de la fibra dietaria y su relación con compuestos antioxidantes | 22 |
| I.1.17. Importancia de los compuestos fenólicos | 23 |
| I.2. MATERIALES Y MÉTODOS | 24 |
| I.2.1. Obtención de concentrados de fibra dietaria | 24 |
| I.2.2. Evaluación del rendimiento | 26 |
| I.2.3. Propiedades de hidratación y de absorción de aceite | 26 |
| I.2.3.1 Capacidad de hinchamiento | 26 |
| I.2.3.2. Capacidad de absorción de agua | 27 |
| I.2.3.3. Capacidad de retención de agua y porcentaje de agua retenida | 27 |
| I.2.3.4. Capacidad de absorción de aceite | 28 |
| I.2.4. Propiedades físicas | 29 |
| I.2.4.1. Volumen específico | 29 |
| I.2.4.2. Color | 29 |
| I.2.5. Composición química | 30 |
| I.2.5.1. Humedad y actividad de agua | 30 |
| I.2.5.2. Compuestos fenólicos | 30 |
| I.2.6. Diseño experimental | 31 |
| I.2.7. Análisis estadístico | 33 |
| I.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 34 |
| I.3.1. Desarrollo del diseño experimental | 34 |

| | |
|--|-----------|
| I.3.2. Variación de las propiedades de los concentrados de fibra dietaria con los factores estudiados | 40 |
| I.3.3. Optimización por superficie de respuesta | 47 |
| I.3.4. Propiedades de los concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya | 50 |
| I.4. CONCLUSIONES | 55 |
| CAPÍTULO II | 57 |
| CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y FUNCIONALES DE LOS ANTIOXIDANTES PRESENTES EN LOS CONCENTRADOS DE FIBRA DIETARIA OBTENIDOS A PARTIR DE PULPA Y CÁSCARA DE PAPAYA | 57 |
| RESUMEN DEL CAPÍTULO II | 58 |
| OBJETIVOS DEL CAPÍTULO II | 59 |
| II.1. INTRODUCCIÓN | 60 |
| II.1.1. Compuestos fenólicos | 61 |
| II.1.1.1. Flavonoides | 62 |
| II.1.1.2. Ácidos fenólicos | 64 |
| II.1.2. Carotenoides | 65 |
| II.1.2.1. Química de los carotenoides y fuentes de la dieta | 66 |
| II.1.2.2. Metabolismo de los carotenoides | 67 |
| II.1.3. Ácido L- ascórbico | 69 |
| II.1.4. Antioxidantes y su asociación con la fibra dietaria durante la digestión | 70 |
| II.2. MATERIALES Y MÉTODOS | 76 |
| II.2.1. Reactivos | 76 |
| II.2.2. Determinación de la actividad antioxidante | 76 |
| II.2.2.1. Método del DPPH | 77 |
| II.2.2.2. Método del FRAP | 78 |
| II.2.3. Determinación de compuestos fenólicos mediante espectrofotometría | 79 |
| II.2.4. Cromatografía Líquida de Alta Resolución, para la identificación de compuestos fenólicos | 79 |
| II.2.4.1. Extracción de los compuestos fenólicos | 79 |
| II.2.4.2. Determinación de compuestos fenólicos | 79 |
| II.2.4.3. Cromatografía Líquida de Alta Resolución y Espectrometría de masa para la identificación de compuestos fenólicos | 80 |
| II.2.5. Determinación de carotenoides mediante método espectrofotométrico | 80 |
| II.2.6. Cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de carotenoides | 82 |
| II.2.6.1. Extracción de carotenoides | 82 |
| II.2.6.2. Cuantificación de carotenoides | 82 |
| II.2.7. Cuantificación de ácido ascórbico | 83 |
| II.2.8. Ensayo de digestibilidad <i>In vitro</i> | 84 |
| II.2.9. Análisis estadístico | 85 |
| II.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 86 |
| II.3.1. Evaluación de la capacidad antioxidante | 86 |
| II.3.2. Análisis espectrofotométrico para la determinación de compuestos antioxidantes | 88 |
| II.3.2.1. Compuestos fenólicos | 88 |
| II.3.2.2. Carotenoides | 89 |
| II.3.2.3. Ácido ascórbico | 90 |
| II.3.3. Identificación de compuestos fenólicos | 91 |
| II.3.4. Identificación y cuantificación de carotenoides | 93 |

| | |
|---|------------|
| II.3.5. Digestibilidad <i>in vitro</i> de los concentrados de fibra dietaria y bioaccesibilidad de los polifenoles en el intestino delgado | 96 |
| II.4. CONCLUSIONES | 99 |
| CAPÍTULO III | 101 |
| CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y FUNCIONALES DE LOS CONCENTRADOS DE FIBRA DIETARIA OBTENIDOS A PARTIR DE PULPA Y CÁSCARA DE PAPAYA. COMPARACIÓN DE DOS METODOLOGÍAS DE DESHIDRATACIÓN. | 101 |
| RESUMEN DEL CAPÍTULO III | 102 |
| OBJETIVOS DEL CAPÍTULO III | 103 |
| III.1. INTRODUCCIÓN | 104 |
| III.1.1. Composición y función de las paredes celulares y fuentes alimentarias | 104 |
| III.1.2. Componentes de la fibra dietaria | 105 |
| III.1.2.1. Celulosa | 105 |
| III.1.2.2. Hemicelulosa | 106 |
| III.1.2.3. Pectinas | 106 |
| III.1.2.4. β -glucanos | 108 |
| III.1.2.5. Almidón resistente | 108 |
| III.1.2.6. Oligosacáridos no digeribles | 108 |
| III.1.2.7. Otros carbohidratos sintéticos | 109 |
| III.1.2.8. Gomas y mucilagos | 109 |
| III.1.2.9. Lignina | 110 |
| III.1.3. Métodos para análisis de fibra | 110 |
| III.1.3.1. Métodos oficiales para el análisis de fibra | 110 |
| III.1.4. Usos tecnológicos de la fibra dietaria | 113 |
| III.2. MATERIALES Y MÉTODOS | 114 |
| III.2.1. Obtención de concentrados de fibra dietaria | 114 |
| III.2.2. Caracterización química de los concentrados de fibra dietaria | 114 |
| III.2.2.1. Obtención del Residuo Insoluble en Alcohol | 115 |
| III.2.2.2. Caracterización química del Residuo Insoluble en Alcohol | 115 |
| III.2.3. Descripción de las técnicas usadas en las determinaciones químicas | 117 |
| III.2.3.1. Determinación de carbohidratos totales | 117 |
| III.2.3.2. Determinación de ácidos urónicos | 118 |
| III.2.3.3. Determinación de proteínas | 119 |
| III.2.3.4. Determinación del grado de metilación | 120 |
| III.2.3.5. Determinación del grado de acetilación | 122 |
| III.2.4. Caracterización de los concentrados de fibra dietaria deshidratados por microondas y convección | 123 |
| III.2.4.1. Propiedades de hidratación, de absorción de aceite, fracción soluble en agua y color | 123 |
| III.2.4.2. Capacidad antioxidante y compuestos asociados | 124 |
| III.2.4.3. Estabilidad termoquímica | 124 |
| III.2.5. Análisis estadístico | 124 |
| III.3. RESULTADOS DISCUSIÓN | 125 |
| III.3.1. Composición química de los concentrados de fibra dietaria | 125 |
| III.3.2. Propiedades físicas y funcionales | 127 |
| III.4. CONCLUSIONES | 133 |

| | |
|---|------------|
| CAPÍTULO IV | 135 |
| UTILIZACIÓN DE CONCENTRADOS DE FIBRA DIETARIA COMO ESTABILIZANTES EN LA PRODUCCIÓN DE EMULSIONES ACEITE/AGUA | 135 |
| RESUMEN DEL CAPÍTULO IV | 136 |
| OBJETIVOS DEL CAPÍTULO IV | 137 |
| IV. 1. INTRODUCCIÓN | 138 |
| IV.1.1. Emulsiones alimenticias | 138 |
| IV.1.2. Estabilizadores de emulsiones | 139 |
| IV.1.3. Mecanismos de inestabilidad en una emulsión | 141 |
| IV.1.4. Características de gota | 144 |
| IV.1.4.1. Concentración de gotas | 144 |
| IV.1.4.2. Tamaño de gota | 144 |
| IV.1.4.3. Carga de las gotas | 145 |
| IV.1.4.4. Propiedades interfaciales | 146 |
| IV.1.5. Interacciones coloidales | 146 |
| IV.1.6. Emulsiones aceite en agua, salsas y aderezos | 147 |
| IV.1.7. Oxidación lipídica en emulsiones aceite en agua | 149 |
| IV.1.8. Análisis sensorial de alimentos | 150 |
| IV.2. MATERIALES Y MÉTODOS | 152 |
| IV.2.1. Producción de emulsiones aceite en agua, formuladas con concentrados de fibra dietaria | 152 |
| IV.2.2. Control de estabilidad de las emulsiones | 153 |
| IV.2.3. Porcentaje de suero separado | 154 |
| IV.2.4. Índice de peróxidos en las emulsiones | 154 |
| IV.2.5. Análisis sensorial | 154 |
| IV.2.5. Análisis estadístico | 157 |
| IV.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 158 |
| IV.3.1. Emulsiones aceite/agua formuladas con concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya | 158 |
| IV.3.2. Estabilidad de las emulsiones en el tiempo | 158 |
| IV.3.3. Índice de peróxidos en las emulsiones | 165 |
| IV.3.4. Análisis sensorial | 167 |
| IV.4. CONCLUSIONES | 171 |
| CONCLUSIONES GENERALES | 172 |
| ANEXO 1 | 176 |
| ANÁLISIS DE LOS PROCESOS DE SECADO | 176 |
| A.1. INTRODUCCIÓN | 177 |
| A.2. MATERIALES Y MÉTODOS | 179 |
| A.2.1. Modelado de las curvas de secado | 181 |
| A.2.2. Tratamiento estadístico de los datos | 182 |
| A.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 183 |
| A.3.1. Secado por microondas | 183 |

| | |
|---|------------|
| A.3.2. Comparación de dos métodos de secado para la deshidratación de concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya | 187 |
| A.4. CONCLUSIONES | 191 |
| BIBLIOGRAFÍA | 192 |

CAPÍTULO I

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE CONCENTRADOS DE FIBRA DIETARIA A PARTIR DE SUB- PRODUCTOS DE PAPAYA (*Carica papaya* L.) MEDIANTE TRATAMIENTO ETANÓLICO Y DESHIDRATACIÓN CON MICROONDAS

RESUMEN DEL CAPÍTULO I

Se desarrolló una metodología para la producción de un concentrado en fibra dietaria (CFD), a partir de la pulpa de papaya, mediante un tratamiento con etanol y una etapa posterior de deshidratación con microondas. Mediante evaluaciones estadísticas, se demostró que el tratamiento con etanol durante 15 minutos, utilizando una relación etanol/muestra de 2,9 ml/g y una deshidratación a 40°C, producen un CFD con propiedades de hidratación, de absorción de aceite, propiedades físicas y, además, con un contenido de compuestos fenólicos con valores maximizados. Las mismas condiciones o variables de proceso optimizadas para los CFD de pulpa, se utilizaron para obtener un CFD a partir de la cáscara. Entre los resultados más significativos, se encontró que el CFD de pulpa tenía alta capacidad de hinchamiento, de absorción y retención de agua, en comparación con el CFD de cáscara y que otros productos reportados en bibliografía. Asimismo, ambos concentrados (pulpa y cáscara), mostraron interesante capacidad de absorción de aceite. El contenido de compuestos fenólicos encontrados en el CFD de cáscara fue el doble del encontrado en el de pulpa. Estas características son prometedoras en cuanto al uso de estos concentrados como ingredientes naturales, en la formulación de alimentos que necesiten, por ejemplo, mejorar las propiedades reológicas como la viscosidad y/o nutricionales. Asimismo, el contenido de compuestos fenólicos podría otorgar actividad antioxidante a un alimento y ejercer dicha actividad, luego de la ingesta, sobre los seres humanos.

OBJETIVOS DEL CAPÍTULO I

- Producir concentrados de fibra dietaria (CFD) a partir de la pulpa y cáscara de papaya, mediante un tratamiento con etanol y deshidratación por microondas.
- Evaluar mediante un diseño experimental, el efecto de cuatro variables del proceso de producción: tiempo de tratamiento etanólico (t), temperatura del tratamiento etanólico (Te), relación etanol/muestra (E/M) y temperatura de secado (Ts), sobre las propiedades de hidratación y de absorción de aceite, sobre el volumen específico, la fracción soluble, parámetros de color ($L^*a^*b^*$) y el contenido de compuestos fenólicos.
- Determinar el rendimiento de los concentrados obtenidos.
- Optimizar el proceso de producción mediante un diseño de superficie de respuesta.

I.1. INTRODUCCIÓN

I.1.1. Información general de la planta de papaya



Figura I.1.1. Árbol de papaya con sus frutos (Portalanaroca, 2016).

La papaya o mamón, es una planta tropical originaria de la región centroamericana, perteneciente a la familia botánica de las Caricáceas. Su importancia económica y comercial radica en sus frutos, que presentan gran valor nutritivo. Los mismos son piriformes de 10 a 25 cm de longitud y de 7 a 15 cm de diámetro, aproximadamente, con abundantes semillas en su interior. La cáscara del fruto inmaduro es verde y rica en látex y luego, con la evolución del proceso de maduración, la misma se torna de color amarillo-naranja. La pulpa es carnosa, aromática y jugosa, de color naranja o rojiza. La composición porcentual típica es: semillas (8,5%), cáscara (12%) y pulpa (79,5%). En cuanto a su composición nutricional, sobresale su alto contenido de vitaminas A, E y C, Además, contiene potasio, cobre, hierro, fósforo, magnesio, carotenos, flavonoides, ácido pantoténico, ácido fólico y fibra. Para su consumo en fresco, en general los frutos se cosechan cuando el color de la piel cambia de verde oscuro a verde claro o tonos amarillos y de esta manera, los mismos continúan madurando en el período de post-cosecha. Si la cosecha se retrasa mucho, los frutos serán más susceptibles al daño durante la

manipulación. Las papayas se recogen manualmente en función del tamaño y la edad del árbol o bien mediante herramientas especializadas (cuchillos). Para la industrialización del producto, la cosecha puede realizarse en etapas tempranas de maduración con colores verdes en la cáscara. El fruto recibe diversos nombres de acuerdo al país productor, dentro de los cuales se conocen mamón, papaya, lechosa, melón de árbol, fruta bomba, mamao, pawpaw, entre otros y son consumidos en fresco o bien luego de algún proceso de industrialización (Parra, 2012).

Información de la medicina tradicional Filipina , reveló que tanto los frutos, tallos, hojas y raíces de papaya, pueden utilizarse como antihelmínticos estomacales, además como un tratamiento diurético, laxante, vermífugo, antiasmático, antirreumático, y como una cura para el ensanchamiento del hígado, el bazo, los lunares y crecimientos cancerosos (Quisumbing, 1978; Starley, Mohammed, Schneider, & Bickler, 1999).

Entre los diferentes usos de la papaya reportados, se ha prestado mucha atención a la abundancia de papaína en el fruto (Golan et al., 2000), atribuyendo en parte a estas enzimas algunos beneficios para la digestión de las proteínas, por lo cual, se ha recomendado el consumo de papaya para el tratamiento de algunos trastornos digestivos. A nivel industrial, esta enzima se utiliza, por ejemplo, como ingrediente en ablandadores de carne y en suplementos de enzimas digestivas.

I.1.2. Producción local y mundial de papaya

De acuerdo a datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se produce papaya en alrededor de 60 países. En 2010 se produjo un total de 11568346 toneladas a nivel mundial, siendo India, Brasil y la República Dominicana los principales productores mundiales, con una participación del 36,3%, 16,2% y 7,9%, respectivamente. En cuanto a las importaciones mundiales, el país que lideró las compras

de estos frutos en 2010 fue Estados Unidos. Pagó 98,6 millones de USD FOB por 153891 toneladas. Estos representaron el 40,5% del valor y el 57,6% del volumen total importado durante ese año. Otros importadores destacados son Singapur (8,5% del volumen y 2,6% del valor en dólares), Canadá (5% del volumen y 6,8% del valor en dólares) y Alemania (2,7% del volumen y 7,6% del valor en dólares). En el mismo año, Argentina registró importaciones por 889 toneladas y 0,34 millones de USD CIF. Durante el año 2011, estos parámetros se redujeron; se compraron al exterior 459 toneladas por un monto total de 0,33 millones de USD CIF.

Argentina aportó en 2010 el 0,02% del volumen mundial, con 2000 toneladas. La región productiva con destino comercial se localiza en las provincias de Misiones, Corrientes, Formosa, Jujuy y Salta, donde las condiciones agroecológicas son adecuadas para este cultivo. Las mismas incluyen baja incidencia de heladas, gran insolación y temperaturas moderadas a elevadas. También se registran algunas pequeñas plantaciones de baja escala de producción, generalmente para autoconsumo en provincias como Santa Fe. Gran proporción de la producción de papaya en Argentina se destina a la industrialización. Esto en parte se debe a que en muchos casos no se completa el ciclo de maduración de las frutas, debido a que este período se extiende más allá del mes abril, coincidiendo con el inicio del descenso de las temperaturas (Parra, 2012).

En Formosa, se estima una superficie de 20 ha, mientras que en Salta se calcula un total de 50 ha en producción de papaya. En esta última provincia, se está llevando a cabo un Plan de Promoción de Cultivos Tropicales por la Mesa Nacional de Frutas Tropicales, que en acuerdo con datos del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, ya hizo entrega de unas 6000 plantas de papaya, de un total programado de 17000 (Parra, 2012).

En Misiones existen alrededor de 333 productores de papaya, que desarrollan su actividad en un total de 360 hectáreas y que producen en conjunto 6800 toneladas de papaya aproximadamente. La expansión del cultivo se debió a varios motivos entre los cuales se pueden citar: constituye un muy buen cultivo para combinar con cítricos como ananá y otros que se desarrollan en la provincia (diversificación productiva) y además a que es una planta de rápido crecimiento y producción, ya que a los diez meses de la plantación, es posible lograr la primera cosecha y al segundo año, alcanzar el pico de producción. En Misiones se diferencian cinco zonas productoras de papaya: Zona Alto Uruguay, Zona de Jardín América, Zona de Garuhapé - El Alcázar, Zona de Pozo Azul, Zona de Andresito. La producción de papaya se destina a industrialización, para la elaboración de fruta escurrida (proceso previo a “fruta abrigantada”), otra parte se envía a industrias instaladas en Córdoba y Santa Fe y otra cantidad de fruta se destina a la elaboración de dulces y mermeladas (Parra, 2012).

I.1.3. Aprovechamiento de residuos provenientes de la producción e industrialización

Durante la cadena productiva de la papaya (producción, comercialización y transformación), se pueden generar residuos o subproductos de diferentes formas, como por ejemplo, en las etapas de cosecha y poscosecha, los frutos que no alcanzan la calidad para comercialización directa o para la industrialización son muchas veces desechados. Además, es bien sabido que durante y después de los procesos de transformación, muchos subproductos como cáscaras, semillas y partes de pulpa también pueden ser generados. Por lo cual estos subproductos que normalmente son dispuestos como residuos, podrían ser revalorados (Zhou et al., 2011). Una de las formas para dar valor agregado a estos residuos, podría ser aprovechando la funcionalidad de sus componentes como proteínas,

carbohidratos, lípidos, vitaminas, minerales, fibra dietaria, los cuales podrían ser reutilizados en otros procesos de transformación de alimentos.

I.1.4. Aplicación de tratamientos térmicos para la estabilización de tejidos vegetales

Procesos como el escaldado, la pasteurización, la esterilización, el secado y la evaporación, son comúnmente empleados en la industria alimentaria para estabilizar alimentos vegetales en cuanto a la seguridad microbiológica y estabilidad enzimática.

El secado es uno de los procesos con un alto consumo de tiempo y energía en la industria de alimentos. Es por eso que los nuevos desarrollos en investigación están dirigidos a disminuir el tiempo de secado y el consumo de energía sin reducir la calidad organoléptica y nutricional de los alimentos. Las condiciones de secado o los equipos pueden ser modificados para aumentar la eficiencia global. Técnicas mixtas tales como el uso de secado por microondas con el secado solar para reducir costos y tiempos de procesamiento, son estrategias que han sido estudiadas (Secmeler, 2003). También el uso de otras técnicas híbridas de secado, por ejemplo, combinando vacío o secado convectivo con tecnologías tales como microondas, radiofrecuencia y calentamiento infrarrojo han mostrado interesantes resultados (Raghavan et al., 2005).

Durante las últimas dos décadas, la búsqueda de procesos más eficientes de secado para reducir los consumos energéticos y proporcionar una mejor calidad al producto final, se ha convertido en el objetivo de los procesos modernos de secado (Raghavan et al., 2005). 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. Por estas razones, diferentes estudios se han realizado utilizando el secado por microondas,

investigando los efectos de varios niveles de potencia y temperaturas de secado sobre la calidad del producto (Adedeji, Ngadi, & Raghavan, 2009; Andrés, Bilbao, & Fito, 2004; Changrue, Orsat, & Raghavan, 2008; Cui, Xu, Sun, & Chen, 2005; Knoerzer, Regier, & Schubert, 2006; Lu, Tang, & Ran, 1999).

I.1.4.1 Calentamiento dieléctrico

La interacción entre un campo electromagnético alterno aplicado, con los dipolos y cargas iónicas presentes en la matriz alimentaria, produce la conversión de energía electromagnética en energía térmica, debido a la interacción directa de la radiación incidente con las moléculas del material, permitiendo así el calentamiento en el producto, denominado calentamiento volumétrico (Venkatesh & Raghavan, 2004). Los sistemas de microondas operan bajo este principio, obligando a las moléculas polares, tales como el agua y a las especies iónicas, a alinearse constantemente con el campo eléctrico que se encuentra rodeando el producto. Las microondas operan en la región del espectro electromagnético que resulta en el calentamiento dieléctrico, estas se ubican entre las frecuencias de 300 MHz-300 GHz (Ramaswamy & Tang, 2008).

Las microondas son consideradas radiaciones no ionizantes ya que la energía emitida no es suficiente para romper uniones químicas (Orsat, Raghavan, & Meda, 2005; Piyasena, Dussault, Koutchma, Ramaswamy, & Awuah, 2003). La aplicación de la energía de microondas en los procesos de producción agrícola incluye el secado, el control de insectos y la germinación de semillas (Venkatesh & Raghavan, 2004). En el área de procesamiento de alimentos, aplicaciones tales como atemperado o acondicionamiento, secado al vacío, deshidratación, cocción, horneado, escaldado, pasteurización, esterilización y extracción, son los procesos más utilizados (Orsat et al., 2005).

La energía de microondas puede ser utilizada para escaldar tejidos vegetales como una alternativa a los tratamientos convencionales, por ejemplo, para la inactivación de enzimas como la polifenoloxidasas y peroxidasa en tejido de remolacha (Latorre, Bonelli, Rojas, & Gerschenson, 2012). En procesos como la pasteurización y esterilización, también es utilizado este mecanismo de calentamiento, debido a que se logran menores tiempos y costos de procesamiento.

En productos sólidos y semisólidos, es importante la incidencia del lento proceso de difusión térmica en el tiempo total del proceso. La eficiencia del calentamiento por microondas en los alimentos sólidos tiene las características de un proceso de alta temperatura-corto tiempo (AT-CT). De esta manera, los beneficios de un proceso AT-CT, permiten reducir la carga microbiana y minimizar la degradación de los componentes (Hayashi, 2002).

Las bandas de frecuencia utilizadas y permitidas en USA por la Comisión Federal de Comunicaciones (FCC) para las aplicaciones industriales, científicas y médicas, son la de frecuencia de 915 MHz, utilizada únicamente para el calentamiento industrial y la frecuencia de 2450 MHz, utilizada tanto en los hornos industriales como los de uso doméstico. Las propiedades dieléctricas de los alimentos juegan un papel clave en la interacción con el campo eléctrico y son dependientes de la composición, la temperatura y la frecuencia de microondas empleada. Por lo tanto, existe una importante influencia de las propiedades dieléctricas de los materiales sobre la eficiencia de la energía electromagnética acoplada en los materiales, la distribución del campo electromagnético y la conversión de energía electromagnética en energía térmica dentro del material (Tang, 2005).

La matriz a tratar debe contener especies dipolares o iónicas para que las microondas ejerzan su efecto. El calentamiento ocurre por dos mecanismos, la polarización de los dipolos y la conducción iónica. Los dipolos o iones son inducidos a moverse en la matriz por la interacción con la radiación aplicada. Cuando los dipolos tratan de re-orientarse por

sí mismos con respecto al campo eléctrico alterno, se pierde energía en forma de calor por fricción molecular (Wathey, Tierney, Lidström, & Westman, 2002).

El tratamiento térmico convencional es diferente al tratamiento por microondas, debido a que las microondas pueden transferir energía a través del volumen del material; esta transferencia de energía ofrece ventajas como reducción del tiempo de procesamiento y mejoras de la calidad global del producto (Venkatesh & Raghavan, 2004).

La absorción de la energía de las microondas por los tejidos vegetales da lugar a cambios químicos y físicos. La fricción intermolecular generada a partir del calentamiento por microondas, puede causar aumento de la presión celular interna y conducir a la ruptura, lo que resulta en una pérdida de contenido y de organización celular (Quenzer & Burns, 1981). Por estas razones, es necesario realizar estudios específicos para los diferentes tejidos, tratando de establecer una base de información sistemática que permita encontrar las condiciones óptimas de tiempo y potencia para alcanzar el objetivo del proceso con el mínimo daño nutricional y organoléptico posible.

I.1.5. Obtención de fibra dietaria a partir de subproductos vegetales

Muchas propuestas pueden encontrarse en la búsqueda de agregar valor a los subproductos vegetales, entre las cuales el aislamiento de los compuestos de pared celular ha sido una de las más aceptadas entre los investigadores, teniendo en cuenta los múltiples beneficios que puede otorgar el consumo de la fibra, además de sus posibles usos para el procesamiento de otros productos alimenticios. En investigaciones como las realizadas por de Moraes Crizel, Jablonski, de Oliveira Rios, Rech, & Flôres, (2013), se han analizado características físico químicas de fibra dietaria producida a partir de subproductos de naranja en Brasil. Así mismo, en los trabajos de Tril, Fernández-López, Álvarez, & Viuda-Martos, (2014), se analizaron las propiedades químicas, físico químicas, tecnológicas,

propiedades antioxidantes y antibacteriales de polvos ricos en fibra dietaria obtenidos a partir de tamarindo (*Tamarindus indica* L).

I.1.6. Definición de fibra dietaria o dietética

La definición actual para el término fibra dietaria o dietética 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 fibra dietaria 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 de la pared celular vegetal y si tales compuestos se han cuantificado mediante los métodos de la AOAC para el análisis de fibra dietaria, estas sustancias quedan incluidas en la definición de fibra por cuanto están efectivamente asociadas con la fracción polisacáridica u oligosacáridica de la fibra.

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

En el Código alimentario Argentino, en el capítulo XVII correspondiente a los ALIMENTOS DE RÉGIMEN DIETÉTICO - Artículo 1385 - (Resolución Conjunta SPReI N°95/2008 y SAGPyA N° 358/2008), se realiza la siguiente definición:

Se entiende por Fibra alimentaria a cualquier material comestible que no sea hidrolizado por las enzimas endógenas del tracto digestivo humano. Incluye polisacáridos no almidón, pectinas, almidón resistente, inulina, oligofruktosa, polidextrosa, maltodextrinas resistentes, fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), transgalactooligosacáridos (TOS), y todos los que en el futuro incorpore la Autoridad Sanitaria Nacional.

Se entiende por Fructooligosacáridos (FOS) a los oligosacáridos de fructosa con uniones β -2,1 de origen natural o sintético. Se entiende por Inulina el fructano natural constituido por unidades de fructosil con uniones β -2,1 terminado en una unidad de glucosa. La longitud de la cadena es generalmente de 2 a 60 unidades. Se entiende por Oligofruktosa natural el producto constituido por 3 a 5 unidades de fructosa con una unidad terminal de glucosa. La oligofruktosa sintética contiene β -2,1 cadenas de fructosa con o sin unidades de glucosa terminales. Las cadenas varían de 2 a 8 residuos de monosacáridos. Se entiende por Fructooligosacáridos (FOS) sintéticos el producto de la hidrólisis enzimática (enzima fructofuranosidasa fúngica) de la inulina o de la síntesis o de la transfructosilación de la

sacarosa. Los FOS sintéticos poseen la misma composición química y estructural que la oligofruktosa, excepto que el promedio de los grados de polimerización es de 2 a 4. Se entiende por Galactooligosacáridos (GOS) el oligosacárido no digerible (3 a 10 grados de polimerización) compuesto por unidades de galactosa. Se entiende por Transgalactooligosacáridos (TOS o TGOS) el producto de la transgalactosilación enzimática de la lactosa. Los oligómeros son lineales y consisten en moléculas de lactosa con varias galactosas con uniones β -1,6 y β -1,4.

I.1.7. Beneficios de la ingesta de fibra dietaria

Décadas atrás, surgió entre los investigadores que trabajaban sobre fibra dietaria (FD), la hipótesis de la relación entre los alimentos que constituyen la dieta y la incidencia de enfermedades crónicas. Este hecho estimuló una gran cantidad de investigaciones y produjo una nueva visión sobre las causas de algunas enfermedades comunes, especialmente las del aparato gastrointestinal en los países occidentales. Históricamente, el énfasis de las investigaciones se ha concentrado sobre el efecto de la FD en relación con la cantidad, más que con 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 en tejidos y órganos. 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 & Champ, 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 algunos componentes de la FD 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 los tejidos vegetales, 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 (Macfarlane & Macfarlane, 2012; Salvador et al., 1993; Titgemeyer & Bourquin, 1991) .

Gran parte de la evidencia disponible indica que las personas que consumen alimentos ricos en FD, por ejemplo, frutas, verduras y las semillas enteras de cereales y leguminosas, tienen una menor prevalencia de importantes factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, obesidad y diabetes mellitus tipo 2 (Bazzano, He, Muntner, Vupputuri, & Whelton, 2003; Liese *et al.*, 2003). Recientes estudios, también apuntan a una relación inversa entre la ingesta de alimentos ricos en FD y el desarrollo de enfermedad coronaria y ocurrencia de accidente cerebrovascular (Dahl & Stewart, 2015).

Los beneficios de la fibra sobre el aparato gastrointestinal han sido ampliamente reconocidos, hecho que ha determinado su consideración como nutriente (FDA, 1993).

I.1.8. Tipos de fibra dietaria

La fibra dietaria, según su comportamiento al dispersarse en agua, puede considerarse como fracción soluble o fracción insoluble. Cada fracción tiene propiedades y efectos fisiológicos diferentes (Kaczmarczyk, Miller, & Freund, 2012). La fracción insoluble se relaciona con la regulación intestinal, mientras que la fracción soluble se relaciona con la disminución de los niveles de colesterol y de absorción de glucosa intestinal (Mehta, Ahlawat, Sharma, & Dabur, 2013). En términos de beneficios para la salud, los dos tipos de

fibra son importantes. Un porcentaje del 70 al 50% de la fracción insoluble y un 30 a 50% de la fracción soluble se considera que corresponde a una proporción equilibrada de ambas (Schneeman, 1999). La fibra dietaria proveniente del salvado de cereales es un ingrediente típico en los productos formulados con alto contenido de fibra en alimentos, pero la presencia de fibra soluble en los cereales es muy baja (Tabla I.1.1). Éste no es el caso de las frutas donde la relación entre los porcentajes de las fracciones de fibra soluble e insoluble es más equilibrada (Saura Calixto, 1993), por lo cual la inclusión de FD proveniente de diferentes fuentes en productos alimenticios puede mejorar su deseabilidad (Mehta et al., 2013).

Tabla I.1.1. Contenido de fibra dietaria de algunos subproductos vegetales (% base seca) de acuerdo a Grigelmo-Miguel, Gorinstein, & Martín-Belloso, (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 | 4,42 | 1,69 |
| Concentrado de fibra dietaria de durazno | 33,17 | 21,93 | 11,27 |

I.1.9. Situación actual sobre el consumo de fibra en el mundo

La ingesta 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, Mainous Iii, & Lambourne, 2012; Park, Subar, Hollenbeck, & Schatzkin, 2011).

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 se han modificado 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 las más bajas 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 (Buttriss & Stokes, 2008; Lunn & Buttriss, 2007). La ingesta recomendada de fibra total adecuada para los adultos es de 26 a 38 g/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 26 gramos para las mujeres, mientras que para los hombres y mujeres mayores de 50 años de edad es 30 y 21 g/día respectivamente, debido a un menor consumo de energía promedio. Sin embargo, el consumo promedio en la mayoría de los informes ha sido mucho menor, entre 13 y 14 g/día (King et al., 2012). Importantes esfuerzos de salud pública se han centrado en el aumento de la ingesta de fibra en la última década (Lichtenstein et al., 2006). El consumo de FD recomendado por algunas organizaciones a nivel mundial se muestra en la Tabla I.1.2.

Tabla I.1.2. Ingestas de fibra dietaria recomendadas por instituciones en el mundo.

| Fuente | Recomendación g/día |
|------------------------------------|---|
| National Cancer Institute | 20–30 |
| USDA y USFDA | 38 para hombres y 26 para mujeres |
| National Academy of Sciences (USA) | 30 a 38 para hombres y 21 a 26 para mujeres |
| UK Department of Health | 18, expresado como polisacáridos no almidón |
| German Department of Health | 30 |

Tomado de Mehta et al., (2013).

En la Argentina el valor diario de referencia de fibra alimentaria (VDR) es de 25 gramos según el Código Alimentario Argentino, (2013).

Según la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud, (2007), la mediana de la ingesta de fibra alimentaria en mujeres entre los 10 y los 49 años en Argentina es de 9,39 g, determinando que el porcentaje de mujeres con ingesta inferior a la recomendada por la National Academy of Sciences (USA) era del 97,2%. Este mismo porcentaje de deficiencia en la ingesta de FD también se encontró entre las mujeres de las diferentes regiones del país y entre las diferentes condiciones socioeconómicas.

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 distintivas 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 fenólicos (Pérez Jiménez et al., 2008). Por lo tanto, la fibra dietaria antioxidante se puede utilizar como un suplemento dietario para mejorar el estado nutricional, la salud gastrointestinal y prevenir enfermedades cardiovasculares y, por el otro, como un ingrediente en alimentos con la finalidad de evitar la oxidación de lípidos (Sánchez Alonso, Jiménez Escrig, Saura Calixto, & Borderías, 2006).

I.1.10. Otros beneficios de la ingesta de fibra dietaria

Mientras que el conocimiento acerca de la salud está siendo utilizado para mejorar los alimentos, por otra parte, los alimentos están siendo utilizados para mejorar la salud (Mehta et al., 2013). En este sentido hay un campo de investigación prometedor para producir alimentos más sanos. Diversas investigaciones epidemiológicas específicas, han demostrado la relación entre la dieta deficiente en fibra dietaria y otros hidratos de carbono

complejos y el aumento de un número de enfermedades crónicas, incluyendo el cáncer de colon, la obesidad y las enfermedades cardiovasculares (World Health Organization, 2003).

La fibra dietaria se ha reconocido como un componente importante de la dieta y además, la mitad de la fibra debería provenir del salvado de cereales y la otra mitad de frutas y verduras de acuerdo con Nayak, Pattnaik, & Mohanty, (2000). La cantidad de fibra dietaria proporcionada por los cereales depende del origen y el grado de procesamiento. Por ejemplo, el contenido de fibra en la harina de trigo refinada es 2,5 g/100 g mientras que en la harina sin refinar, es 12 g/100 g, que es un valor casi cinco veces mayor. La fracción insoluble de fibra dietaria se retira, en general, durante el proceso de refinación (Rodríguez, Jiménez, Fernández Bolaños, Guillén, & Heredia, 2006). Las recomendaciones sobre la ingesta de fibra en la dieta no son los mismos en todos los países. La diferencia se debe a variaciones en los hábitos de alimentación, estilos de vida y el grado de elaboración de diversos productos alimenticios consumidos en diferentes países.

I.1.11. Funcionalidad de la fibra dietaria y aplicaciones alimenticias

Muchas aplicaciones alimenticias pueden ser encontradas en la literatura reciente para la incorporación de la FD en productos procesados. La incorporación de FD en los productos alimenticios se ha venido incrementando, debido a las numerosas propiedades funcionales como la retención de agua, aceite, la capacidad para disminuir pérdidas por cocción y la modificación de textura (Jimenez Colmenero, 1996). La FD aislada de diferentes fuentes vegetales como frutas deshidratadas, verduras y/o cereales, se ha utilizado en la industria de alimentos y ha mostrado resultados prometedores (Viuda Martos, Ruiz Navajas, Fernández López, & Pérez Álvarez, 2010). Por ejemplo, se ha encontrado que la FD de las frutas y verduras tienen una mejor capacidad de absorción de agua, lo cual podría ser importante en la formulación de productos como emulsiones (Rodríguez et al., 2006).

Las propiedades físicas de la FD influyen sobre sus propiedades funcionales. Por lo tanto es necesario, disponer de definiciones claras de las propiedades físicas y funcionales que son nutricionalmente relevantes, para contribuir al desarrollo de alimentos que sean aceptados por el consumidor. Las propiedades funcionales también están relacionadas con la composición y la estructura química de los polisacáridos presentes en la FD y procesos como el de secado, pueden alterar las propiedades físico-químicas, modificando así las funcionales (Femenia et al., 2009).

I.1.12. Importancia del tamaño de partícula y volumen aparente de un material

El interés en el conocimiento del tamaño de partícula y volumen aparente se debe a que estos factores controlan una serie de eventos que ocurren en el tracto digestivo: el tiempo de tránsito, la fermentación y 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 y ello es influenciado por el hecho que algunos componentes que intervienen en la cohesión de la matriz de fibra pueden ser solubilizados (Guillon, Champ, Thibault, & Saulnier, 2011).

I.1.13. Características del área superficial

La porosidad y la superficie disponible pueden influir en la fermentación de la FD ya que condiciona la 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 tales como la 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, Auffret, Robertson, Thibault, & Barry, 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 < 1 μm). La porosidad será mayor en los tejidos en los cuales las células poseen pocos puntos de unión comparada con la de 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 tales como Guillon et al., (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 et al., 1998; Robertson & Eastwood, 1981). 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.

I.1.14. Propiedades de hidratación

El estudio de la capacidad de hidratación del material de la pared celular vegetal ha sido un tema de gran interés por su estrecha relación con 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 tales como 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, el porcentaje de agua retenida, la capacidad de absorción de agua y la capacidad de hinchamiento. 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 & Champ, 2000).

I.1.15. Efecto de la solubilidad en la funcionalidad de la fibra dietaria

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

La estabilidad relativa de las formas ordenadas y desordenadas de un polisacárido determina si el mismo se disolverá o no. Si la estructura del polisacárido es tal que las moléculas pueden insertarse 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 & Champ, 2000).

I.1.16. El color de la fibra dietaria y su relación con compuestos antioxidantes

La evaluación del color en productos como polvos ricos en FD, es una propiedad muy importante, ya que puede influir sobre las características sensoriales del producto mismo y del alimento en el cual se desee incluirlo, por lo cual es una propiedad que puede ser deseable o no, dependiendo si se desea o no un aporte de color. Por otra parte, desde el punto de vista nutricional, el color en los tejidos vegetales como los de los frutos es aportado por diferentes pigmentos como carotenos y compuestos fenólicos que son de gran importancia por sus características antioxidantes (Liu, 2004), por lo cual desde este punto de vista se vuelve una característica deseable.

I.1.17. Importancia de los compuestos fenólicos

Hay un creciente interés en investigaciones de tipo científico en temas que asocian la ingesta de antioxidantes en la dieta con la protección contra algunas enfermedades crónicas. La evidencia epidemiológica sugiere que el consumo de frutas y verduras puede reducir el riesgo de algunas enfermedades como el cáncer y la enfermedad cardiovascular. Se plantea la hipótesis de que esto, en parte, puede ser debido al contenido de una amplia gama de compuestos antioxidantes como los compuestos fenólicos (Morton, Abu-Amsha Caccetta, Puddey, & Croft, 2000). En las plantas, los compuestos fenólicos, comprenden un grupo complejo de sustancias, con un amplio rango de masas moleculares. Estos compuestos se encuentran asociados a otros compuestos como las proteínas y la fibra dietaria (Bravo, Abia, & Saura Calixto, 1994). Este hecho, le otorga un valor adicional a la fibra dietaria, ya que, tanto los compuestos fenólicos, como la fibra, son dos componentes de la dieta que han sido asociados con la reducción de diversos tipos de enfermedades, por lo cual, encontrar estos dos compuestos en un alimento le otorgaría a este mismo un mayor atractivo nutricional y comercial (Pérez Jiménez et al., 2008).

I.2. MATERIALES Y MÉTODOS

I.2.1. Obtención de concentrados de fibra dietaria

Los concentrados de fibra dietaria (CFD), se obtuvieron a partir de la pulpa fresca de papaya variedad Formosa, cultivada en la provincia de Formosa (Argentina) y comprada en un mercado local. Se eligieron frutos con un grado de maduración 4 (Frutos con cáscara con un 50 – 75 % de color amarillo rodeada por un ligero color verde) de acuerdo con los grados de madurez propuestos en los estudios realizados por Pereira et al., (2009). En la Figura I.2.1 se muestra un ejemplo del grado de madurez de uno de los frutos utilizados en esta investigación.



Figura I.2.1. Ejemplo del grado de madurez de los frutos de papaya utilizados en esta investigación.

Luego de las labores de higienización del fruto, el mismo se separó en dos partes, cáscara y pulpa. La pulpa se mezcló con etanol 96mL/100mL y se trituroó en la solución de alcohol con un procesador de alimentos de uso doméstico (Braun, España). La relación etanol/muestra utilizada, el tiempo y temperatura de tratamiento etanólico, se variaron

según un diseño experimental (Tabla I.3.1). Una vez finalizado el tratamiento, se filtró el etanol y el residuo obtenido, se dispuso en bandejas plásticas de polipropileno (espesor de lecho de ≈ 4 cm) para una posterior etapa de secado. Para la deshidratación, se utilizó un equipo de microondas Ethos Plus (Milestone, Italia) trabajando a potencia máxima de 450 W y a diferentes temperaturas según el diseño experimental (Tabla I.3.1). Información adicional acerca del proceso de secado por microondas, se muestra en el ANEXO 1.

Se registró la pérdida de peso, hasta obtener pesos constantes, considerando constancia de peso, cuando la diferencia de peso en el último intervalo fue menor del 10%. Se hizo adicionalmente un control de la actividad de agua (a_w) con el objetivo de llevar las muestras hasta valores finales de a_w inferiores a 0,6 con el fin de asegurar la estabilidad microbiológica de las muestras (Muggeridge & Clay, 2001).

Los productos deshidratados se molieron en un molino de cuchillas de uso doméstico (Braun, Argentina). Posteriormente, se tamizaron con una malla ASTM 40 con apertura de poro de 420 micrones, para obtener todas las partículas menores a este tamaño. 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.

En los productos obtenidos se realizaron las siguientes determinaciones:

I.2.2. Evaluación del rendimiento

El porcentaje de rendimiento de los CFD se determinó como la relación de la cantidad de producto seco, resultante después de la etapa de deshidratación por microondas, respecto a la cantidad de pulpa de papaya fresca utilizada, mediante la siguiente ecuación.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Producto seco}}{\text{Pulpa fresca}} * 100$$

Donde Producto seco y Pulpa fresca son, respectivamente, la masa del CFD obtenido luego del secado y la masa de pulpa usada para la obtención del CFD.

I.2.3. Propiedades de hidratación y de absorción de aceite

En esta investigación se utilizó la 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.

I.2.3.1 Capacidad de hinchamiento

Para determinar la capacidad de hinchamiento (Swelling Capacity, SC), se pesaron $\approx 0,1000$ g, de concentrado de fibra dietaria (CFD) y se colocaron en una probeta graduada. Se agregaron 5 ml de agua y se 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 muestra hidratada (Raghavendra, Rastogi, Raghavarao, & Tharanathan, 2004; Robertson et al., 2000). El SC, se calculó según la siguiente expresión:

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

Donde V_h es el volumen ocupado por el CFD hidratado y m_s es el peso del CFD seco.

I.2.3.2. Capacidad de absorción de agua

Para la determinación de la capacidad de absorción de agua (Water holding capacity, WHC), se pesaron $\approx 0,1000$ g de CFD, los cuales posteriormente se colocaron en un tubo de vidrio con marcación volumétrica y de fondo cónico. Se agregaron 5 mL de agua, dejando hidratar durante 18 horas a una temperatura constante de 25°C. 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 liofilizó para obtener, finalmente, el peso del residuo seco. WHC se calculó mediante la siguiente expresión:

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

Donde m_h son los gramos de agua absorbida y m_s es el peso del residuo seco.

I.2.3.3. Capacidad de retención de agua y porcentaje de agua retenida

Para determinar la capacidad de retención de agua (Water retention capacity, WRC), se pesaron $\approx 0,065$ g de CFD en un tubo eppendorf y, posteriormente, se hidrataron con 2 mL de agua desionizada a 25°C durante 18 h. Al cabo de este tiempo, se centrifugó durante 30 min a 2000 x g. Se separó el sobrenadante. Se pesó la muestra hidratada retenida en el filtro (R+W) y dicho pellet se sometió a liofilización. Luego, se pesó el residuo seco (R). De este modo:

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

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

Para el cálculo del porcentaje de agua retenida (Retention of water, RW) se utilizó la siguiente expresión:

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

Donde W son los gramos de agua retenida y At es el agua total adicionada.

Complementariamente, la fracción de sólidos solubles en agua (FSA), se determinó sobre el sobrenadante de la determinación anterior. El mismo se congeló y posteriormente se sublimó el agua (liofilización), determinando el peso final de los sólidos solubles. Finalmente, FSA se calculó como:

$$FSA (g/100g) = \frac{M}{R} * 100$$

Donde M es la masa de sólidos en el sobrenadante y R representa los gramos de residuo seco.

I.2.3.4. Capacidad de absorción de aceite

La capacidad de absorción de aceite (Oil holding capacity, OHC), se midió mezclando en un tubo eppendorf, una muestra de CFD de $\approx 0,2000g$ con 1 mL de aceite de girasol. Se mantuvo el contacto durante 18 horas a 25°C. Luego de este tiempo, se centrifugó 5 minutos a 1500 x g. 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.

$$OHC = (g/g) = \frac{A}{M_s}$$

Donde A y M_s son, respectivamente, los gramos de aceite retenidos por el CFD luego del proceso de centrifugación y los gramos del CFD pesados.

I.2.4. Propiedades físicas

I.2.4.1. Volumen específico

Para esta determinación se utilizaron probetas graduadas de 5 ml de capacidad. Las mismas se llenaron con una cantidad de muestra, para ocupar un volumen determinado de la probeta. Posteriormente, se pesaron los tubos con la muestra para obtener el peso de CFD contenido en el tubo.

Primero, se calculó la densidad de la muestra, de la siguiente forma:

$$\text{Densidad (g/mL)} = \frac{m}{V}$$

Donde m representa los gramos de muestra y V representa el volumen ocupado por dicha muestra en la probeta.

Luego, el volumen específico, se determinó como la función inversa de la densidad:

$$\text{Volumen específico (mL/g)} = \frac{1}{\text{Densidad}}$$

I.2.4.2. Color

El color de los CFD obtenidos luego de la deshidratación con microondas, fue evaluado por triplicado mediante los parámetros L*,a*,b* definidos por la Commission Internationale de l'Eclairage, CIE, donde L* representa la luminosidad, a* el grado de colores verdes/rojos y b* el grado de colores azules/amarillos. Se utilizó un fotocolorímetro (Minolta, Japón) bajo un ángulo de observación de 2° y el iluminante D65.

I.2.5. Composición química

I.2.5.1. Humedad y actividad de agua

Para la determinación de la humedad de los CFD se pesaron $\approx 0,500$ g, utilizando un analizador de humedad MB45 Ohaus Corporation, USA, hasta peso constante. La determinación se hizo por triplicado. Adicionalmente, se determinó la actividad de agua (a_w) de los CFD utilizando un higrómetro AQUA LAB Series 3 Quick (Start Decagon Devices, Inc., USA). Este ensayo se realizó, al menos, por duplicado.

I.2.5.2. Compuestos fenólicos

El contenido de compuestos fenólicos, fue determinado a través de los reactivos de Folin-Ciocalteu de acuerdo a Bunzel, Ralph, Marita, & Steinhart, (2000) luego de una hidrólisis alcalina para liberar grupos fenólicos vinculados. Para este ensayo, $\approx 0,5500$ g de muestra de CFD se mezclaron con 30 mL de NaOH 2M y la solución se mantuvo durante 18 horas a temperatura de 25°C, bajo vacío y al abrigo de la luz. Finalizada la hidrólisis alcalina, se agregó a cada muestra 5,7 mL de HCl ($\text{pH} < 2$).

El sobrenadante obtenido luego de la hidrólisis previamente descrita, fue separado por centrifugación y utilizado para evaluar el contenido de polifenoles en la muestra. El contenido de fenólicos en la muestra, fue informado como gramos de ácido gálico equivalentes (AGE) de acuerdo con Shui & Leong, (2006). Todos los ensayos se realizaron, al menos, por duplicado.

Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica, se tomaron 40 μL de las muestras sometidas a hidrólisis y se agregaron 1800 μL de una mezcla de reactivo Folin Ciocalteu : agua desionizada Milli-Q™ (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 evaluó 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).

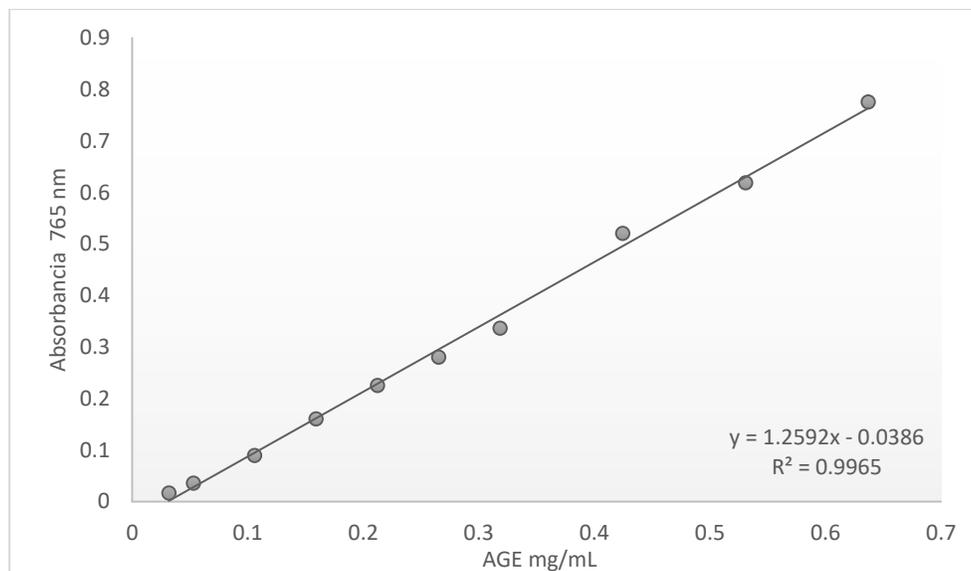


Figura I.2.2. Curva de calibración para la determinación de compuestos fenólicos en equivalentes de ácido gálico AGE.

I.2.6. Diseño experimental

Se propuso un diseño experimental con el objetivo de realizar un cribado de factores, verificando cuál o cuáles de ellos [tiempo del tratamiento etanólico (t), temperatura de tratamiento etanólico (Te), relación etanol/muestra (E/M) y temperatura de secado (Ts)], tenían mayor efecto sobre las variables respuesta analizadas [propiedades de hidratación (SC, WHC, WRC, RW), de absorción de aceite (OHC), el volumen específico, la fracción de sólidos solubles en agua (FSA), parámetros de color (L^* , a^* , b^*) y el contenido de

compuestos fenólicos]. Este análisis fue realizado a través de un diseño factorial con 2^4 ensayos, con dos niveles por factor y puntos centrales realizados por cuadruplicado. El diseño experimental utilizado, con sus valores reales y codificados se muestra en la Tabla I.3.1.

En la siguiente etapa, luego de verificar cuáles de los factores presentaban los efectos más significativos sobre las propiedades analizadas, se planteó una etapa de optimización de las variables respuesta, mediante un diseño de superficie de respuesta, el cual sigue el modelo de Box Behnken (Montgomery, 2008). Para este segundo diseño, se estudió el efecto de los factores: tiempo de tratamiento etanólico (t), relación etanol/muestra (E/M) y temperatura de secado (Ts), sobre las mismas propiedades estudiadas en el primer diseño. Los datos obtenidos se ajustaron a una función polinomial de segundo grado:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i X_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j}^k b_{ij} X_i X_j + e$$

Donde Y es la variable respuesta, b_0 es el valor del intercepto, b_i ($i= 1, 2...k$) son los coeficientes de regresión para los términos de primer orden, b_{ii} son los coeficientes para los terminos cuadraticos puros, b_{ij} representa los coeficientes cuadráticos de X_i . X_i y X_j corresponden a las variables de entrada o factores que influyen sobre la variable respuesta y e representa el error aleatorio (Betiku & Taiwo, 2015). El diseño experimental utilizado y todas sus respuestas se muestran en la Tabla I.3.2.

El análisis por superficie de respuesta se desarrolló mediante el estudio de la superficie ajustada para cada variable dependiente. Para obtener el valor óptimo de las propiedades se utilizó la función maximizar la respuesta. Una vez optimizadas cada una de las respuestas, se realizó una optimización conjunta mediante la función optimización de múltiples respuestas. La idea básica de esta función es transformar un problema de múltiple

respuesta, en uno con única respuesta a través de transformaciones matemáticas (Del Castillo, Montgomery & McCarville, 1996). Esta función se evalúa mediante la función de deseabilidad (d) (de Barros, Spacino, & Bruns, 2003). Este procedimiento ha sido usado exitosamente como herramienta para establecer procesos en distintas investigaciones (Puttongsiri & Haruenkit, 2010; Rahman, Kamaruddin, & Uzir, 2010). Para el análisis de optimización multi-respuesta, se incluyeron las propiedades que presentaron valores de R^2 mayores a 70.

I.2.7. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA), para verificar cuáles de los factores afectaron significativamente las propiedades analizadas para niveles de significancia (α) de 0,05 y 0,01 y para corroborar la proporción de la varianza explicada por los modelos propuestos, a través de la determinación del coeficiente R^2 . Adicionalmente, el ajuste de los modelos propuestos se evaluó mediante la prueba de falta de ajuste (P), la cual es significativa para valores de $p < 0.05$. Asimismo se realizaron análisis para detectar correlaciones entre las propiedades. Los dos diseños experimentales y sus correspondientes análisis estadísticos así como todo el tratamiento estadístico de datos se llevaron a cabo utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XV (V. 15.2.06, 2007; StatPoint Inc, Warrenton, VA, Canadá).

I.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I.3.1. Desarrollo del diseño experimental

Los resultados de la experimentación del diseño factorial, se resumen en la Tabla I.3.1. Todos los tratamientos aplicados influyeron de diferente forma sobre las propiedades analizadas. Los valores obtenidos para WHC estuvieron en el rango de 20 a 79,2 g/g, para SC entre 15,5 y 90,8 mL/g, para WRC entre 14,5 y 28,5 g/g y para RW entre 34,5 y 80 g/100g. Para las propiedades OHC, volumen específico, FSA, y rendimiento los valores oscilaron entre 0,83 y 1,64 g/g, 1,428 y 2,46 ml/g, 3,7 y 21,1 g/100g y entre 2,63 y 3,704 g/100g, respectivamente. Así mismo los parámetros de color L^* , a^* y b^* presentaron valores entre 53,79 y 82,74, entre 3,62 y 36,46 y entre 19,43 y 48,77, respectivamente. Finalmente, la variación de los factores de proceso permitió obtener contenidos de compuestos fenólicos en el rango de 0,27 y 0,41 g/100g. Este primer análisis determinó que la modulación de los diferentes factores de procesamiento para la producción de CFD, determina que las propiedades de los mismos se vean afectadas de forma diferenciada, por lo cual es necesario analizar individualmente el efecto que tiene cada factor sobre las propiedades en estudio.

En la Tabla I.3.3, se resume los coeficientes de la ecuación de regresión que ajustó los datos analizados. El signo de cada coeficiente, permite identificar si el efecto que tiene cada factor sobre cada respuesta es significativamente positivo o negativo. Adicionalmente, se presentan los coeficientes R^2 y el valor P correspondiente a la prueba de falta de ajuste. Se observó que para todas las propiedades estudiadas se obtuvo valores de R^2 superiores a 72, indicando, que el modelo propuesto en esta investigación explica al menos el 72% de la variabilidad de las propiedades analizadas. Además el valor P, correspondiente a la prueba de falta de ajuste, para todas las propiedades fue mayor de 0,05, lo cual quiere decir

que no fue significativa y que no hay falta de ajuste, por lo que el modelo propuesto es adecuado para describir los datos observados con un nivel de confianza del 95%.

Se observó que los factores t y E/M afectaron significativamente las cuatro propiedades de hidratación, además, los efectos fueron negativos y positivos, respectivamente. Así mismo, T_s , afectó significativamente y de forma negativa las propiedades WHC y SC, observándose un fuerte efecto ($p < 0,01$) sobre SC. T_e , sólo afectó significativamente SC ($p < 0,05$) pero, además, se observó que varias interacciones entre factores, también afectaron significativamente esta propiedad con un nivel de confianza, al menos, del 95%.

Las propiedades OHC y volumen específico se vieron afectadas significativamente ($p < 0,05$) y de forma positiva por la E/M , mientras que la FSA, lo fue por la T_s de forma positiva y por varias interacciones entre factores ($p < 0,05$).

E/M , tuvo un fuerte efecto ($p < 0,01$) sobre todos los parámetros de color, el cual fue positivo para L^* y negativo para a^* y b^* . También se observó un fuerte efecto negativo de la temperatura de secado sobre la coordenada de color a^* . Por otra parte, t y T_e , también afectaron significativamente el color de los CFD ($p < 0,05$). Finalmente, T_e y E/M , fueron los factores que afectaron significativamente el contenido de compuestos fenólicos ($p < 0,05$), al igual que diferentes interacciones.

En este primer análisis, se pudo verificar que los factores t y E/M , afectaron significativamente a un mayor número de propiedades (6 y 10, respectivamente), mientras que los factores T_e y T_s , tuvieron efecto significativo sobre un menor número de propiedades (4). Teniendo en cuenta que el objetivo primario de este análisis fue realizar un cribado de factores para una posterior etapa de optimización de las propiedades analizadas, se decidió fijar el valor de T_e en el nivel inferior (20°C), teniendo en cuenta que fue una de las variables con menor efecto sobre las propiedades estudiadas y que, además,

su efecto fue siempre significativamente negativo. Por lo cual para la etapa de optimización por superficie de respuesta se tuvo en cuenta las otras tres variables de procesamiento (t , E/M y T_s).

Los sistemas del diseño experimental que fueron deshidratados a 30°C, tuvieron largos tiempos de secado (aproximadamente 8 horas) para alcanzar valores de a_w inferiores a 0.6, lo cual desde el punto de vista económico, sería una desventaja. Por esta razón para el diseño de superficie de respuesta, los niveles para la temperatura de secado (T_s) fueron incrementados en 10°C, por lo cual los nuevos niveles a ensayar fueron 40, 60 y 80 °C, manteniendo así los mismos intervalos entre temperaturas. Un análisis complementario, acerca del proceso de secado, se presenta en el ANEXO 1.

Tabla I.3.1. Diseño factorial completo (2^4) con puntos centrales. Factores con los valores codificados y reales para las 12 respuestas analizadas en los CFD

| t (min) | Te (°C) | E/M (ml/g) | Ts (°C) | WHC (g/g) | SC (mL/g) | WRC (g/g) | RW (g/100g) | OHC (g/g) | VE (mL/g) | FSA (g/100g) | Rendimiento (g/100g) | L* | a* | b* | CF (g/100g) |
|------------|------------|---------------|------------|--------------|--------------|--------------|----------------|-----------------|---------------|-----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| 45 (1) | 80 (1) | 5 (1) | 30 (-1) | 31 ± 1 | 25,8 ± 0,2 | 21,3 ± 0,5 | 49,6 ± 0,1 | 0,90 ± 0,03 | 1,44 ± 0,01 | 20,0 ± 0,2 | 3,704 ± 0,009 | 54,35 ± 0,04 | 23,69 ± 0,03 | 43,92 ± 0,05 | 0,324 ± 0,006 |
| 45 (1) | 80 (1) | 2 (-1) | 70 (1) | 20 ± 1 | 16,1 ± 0,8 | 14,74 ± 0,02 | 34,5 ± 0,3 | 0,92 ± 0,02 | 1,428 ± 0,009 | 21,1 ± 0,7 | 3,11 ± 0,01 | 54,5 ± 0,1 | 30,93 ± 0,09 | 45,8 ± 0,2 | 0,2944 ± 0,0002 |
| 45 (1) | 20 (-1) | 5 (1) | 70 (1) | 31 ± 2 | 26,2 ± 0,7 | 18,9 ± 0,6 | 47,1 ± 0,4 | 1,64 ± 0,03 | 2,141 ± 0,009 | 16 ± 1 | 2,90 ± 0,01 | 64,26 ± 0,05 | 23,39 ± 0,01 | 27,26 ± 0,03 | 0,35 ± 0,01 |
| 45 (1) | 20 (-1) | 2 (-1) | 30 (-1) | 38,2 ± 0,9 | 37,4 ± 0,7 | 24,5 ± 0,7 | 67,4 0,9 | 1,02 ± 0,03 | 1,51 ± 0,02 | 8,9 ± 0,9 | 2,70 ± 0,01 | 53,79 ± 0,02 | 36,46 ± 0,02 | 45,74 ± 0,04 | 0,378 ± 0,009 |
| 15 (-1) | 80 (1) | 5 (1) | 70 (1) | 34,7 ± 0,7 | 31,7 ± 0,7 | 21,0 ± 0,7 | 55,6 ± 0,9 | 1,26 ± 0,04 | 1,61 ± 0,05 | 13,89 ± 0,04 | 2,76 ± 0,01 | 72,59 ± 0,01 | 16,80 ± 0,02 | 24,773 ± 0,006 | 0,35 ± 0,01 |
| 15 (-1) | 80 (1) | 2 (-1) | 30 (-1) | 37,1 ± 0,6 | 35,3 ± 0,3 | 21,7 ± 0,6 | 59,4 ± 0,7 | 1,09 ± 0,03 | 1,59 ± 0,02 | 11,47 ± 0,07 | 2,83 ± 0,01 | 57,48 ± 0,01 | 31,60 ± 0,02 | 48,10 ± 0,05 | 0,27 ± 0,02 |
| 15 (-1) | 20 (-1) | 5 (1) | 30 (-1) | 79,2 ± 0,4 | 90,8 ± 0,2 | 28,5 ± 0,2 | 80 ± 2 | 1,326 ± 0,002 | 1,839 ± 0,003 | 3,7 ± 0,6 | 3,14 ± 0,01 | 64,24 ± 0,03 | 27,03 ± 0,03 | 29,57 ± 0,04 | 0,297 ± 0,007 |
| 15 (-1) | 20 (-1) | 2 (-1) | 70 (1) | 20,5 ± 0,5 | 15,5 ± 0,1 | 14,5 ± 0,7 | 35,7 ± 0,3 | 0,98 ± 0,03 | 1,51 ± 0,01 | 21,0 ± 0,9 | 2,88 ± 0,01 | 56,85 ± 0,05 | 31,55 ± 0,01 | 45,09 ± 0,08 | 0,368 ± 0,007 |
| 45 (1) | 80 (1) | 5 (1) | 70 (1) | 44,8 ± 0,4 | 43,5 ± 0,1 | 22,8 ± 0,2 | 56,3 ± 0,1 | 1,21 ± 0,05 | 2,12 ± 0,01 | 15,4 ± 0,7 | 2,75 ± 0,01 | 78,71 ± 0,03 | 6,755 ± 0,007 | 25,15 ± 0,03 | 0,314 ± 0,006 |
| 45 (1) | 80 (1) | 2 (-1) | 30 (-1) | 39 ± 1 | 34,8 ± 0,8 | 21,9 ± 0,6 | 56,8 ± 0,4 | 0,9408 ± 0,0001 | 1,71 ± 0,02 | 9,9 ± 0,6 | 2,79 ± 0,01 | 59,4 ± 0,1 | 23,32 ± 0,01 | 45,9 ± 0,2 | 0,27 ± 0,01 |
| 45 (1) | 20 (-1) | 5 (1) | 30 (-1) | 54,0 ± 0,9 | 54,4 ± 0,8 | 20,7 ± 0,9 | 50,8 ± 0,3 | 1,13 ± 0,06 | 2,008 ± 0,007 | 10,0 ± 0,6 | 2,75 ± 0,01 | 64,75 ± 0,06 | 21,83 ± 0,03 | 28,535 ± 0,007 | 0,292 ± 0,03 |
| 45 (1) | 20 (-1) | 2 (-1) | 70 (1) | 38,4 ± 0,2 | 32,5 ± 0,2 | 20,3 ± 0,4 | 57 ± 1 | 0,93 ± 0,02 | 1,74 ± 0,04 | 8,4 ± 0,2 | 2,63 ± 0,01 | 57,375 ± 0,007 | 30,37 ± 0,01 | 48,77 ± 0,04 | 0,308 ± 0,006 |
| 15 (-1) | 80 (1) | 5 (1) | 30 (-1) | 74,0 ± 0,8 | 89,1 ± 0,6 | 23 ± 1 | 65,6 ± 0,9 | 1,47 ± 0,05 | 2,46 ± 0,05 | 6,6 ± 0,5 | 2,66 ± 0,01 | 82,74 ± 0,00 | 3,62 ± 0,02 | 19,43 0,02 | 0,3087 ± 0,0005 |
| 15 (-1) | 80 (1) | 2 (-1) | 70 (1) | 31,8 ± 0,3 | 25,3 ± 0,2 | 18,8 ± 0,6 | 48 ± 1 | 1,01 ± 0,05 | 1,70 ± 0,03 | 11,7 ± 0,4 | 2,65 ± 0,01 | 61,6 ± 0,1 | 23,61 ± 0,04 | 45,5 ± 0,1 | 0,317 ± 0,002 |
| 15 (-1) | 20 (-1) | 5 (1) | 70 (1) | 44,03 ± 0,05 | 40,8 ± 0,1 | 27 ± 2 | 74,6 ± 0,9 | 1,11 ± 0,03 | 1,90 ± 0,03 | 9,9 ± 0,1 | 2,83 ± 0,01 | 63,14 ± 0,01 | 25,38 ± 0,00 | 38,56 ± 0,06 | 0,348 ± 0,006 |
| 15 (-1) | 20 (-1) | 2 (-1) | 30 (-1) | 46,1 ± 0,5 | 43 ± 1 | 24,1 ± 0,8 | 66,7 ± 0,9 | 0,83 ± 0,04 | 1,56 ± 0,04 | 8,1 ± 0,9 | 3,02 ± 0,01 | 54,88 ± 0,03 | 30,02 ± 0,02 | 45,11 ± 0,03 | 0,359 ± 0,004 |
| 30 (0) | 50 (0) | 3,5 (0) | 50 (0) | 34,8 ± 0,8 | 31,23 ± 0,09 | 20,7 ± 0,8 | 53,7 ± 0,8 | 1,32 ± 0,03 | 1,81 ± 0,02 | 15,0 ± 0,4 | 2,82 ± 0,01 | 60,06 ± 0,04 | 29,35 ± 0,03 | 24,25 ± 0,03 | 0,31 ± 0,02 |
| 30 (0) | 50 (0) | 3,5 (0) | 50 (0) | 45 ± 1 | 37,1 ± 0,6 | 24,6 ± 0,5 | 68,9 ± 0,8 | 1,24 ± 0,05 | 1,77 ± 0,02 | 9,0 ± 0,9 | 2,89 ± 0,01 | 61,17 ± 0,03 | 27,99 ± 0,05 | 26,97 ± 0,02 | 0,309 ± 0,006 |
| 30 (0) | 50 (0) | 3,5 (0) | 50 (0) | 45,0 ± 0,3 | 38,5 ± 0,8 | 25,2 ± 0,5 | 70,0 ± 0,9 | 1,53 ± 0,04 | 2,004 ± 0,004 | 7,7 ± 0,2 | 2,84 ± 0,01 | 64,77 ± 0,01 | 25,62 ± 0,03 | 22,71 ± 0,06 | 0,410 ± 0,008 |
| 30 (0) | 50 (0) | 3,5 (0) | 50 (0) | 45,0 ± 0,3 | 40,0 ± 0,2 | 25,6 ± 0,5 | 71 ± 2 | 1,34 ± 0,01 | 1,874 ± 0,009 | 9,7 ± 0,8 | 2,89 ± 0,01 | 63,19 ± 0,01 | 27,036 ± 0,006 | 26,43 ± 0,01 | 0,367 ± 0,007 |

Para las respuestas, se informa el promedio y desvío estándar (n=3)

t: tiempo de tratamiento etanólico, Te: Temperatura de tratamiento, E/M: relación etanol/muestra, Ts: Temperatura de secado.

WHC: Capacidad de absorción de agua, SC: Capacidad de hinchamiento, WRC: Capacidad de retención de agua, RW: Porcentaje de agua retenida, OHC: Capacidad de absorción de aceite, FSA: Fracción de sólidos solubles en agua, VE: Volumen específico, CF: Compuestos fenólicos.

Tabla I.3.2. Respuestas obtenidas para el diseño de Box Behnken

| t (min) | E/M (ml/g) | Ts (°C) | WHC (g/g) | SC (mL/g) | WRC (g/g) | RW (g/100g) | OHC (g/g) | VE (mL/g) | FSA (g/100g) | Rendimiento (g/100g) | L* | a* | b* | CF (g/100g) |
|------------|---------------|------------|--------------|--------------|--------------|----------------|---------------|---------------|-----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 15 (-1) | 2 (-1) | 60 (0) | 40,4 ± 0,3 | 37,21 ± 0,08 | 35 ± 1 | 51,8 ± 0,7 | 1,28 ± 0,03 | 1,73 ± 0,02 | 16,3 ± 0,2 | 2,74 ± 0,04 | 57,91 ± 0,06 | 29,23 ± 0,05 | 44,53 ± 0,05 | 0,44 ± 0,01 |
| 45 (1) | 2 (-1) | 60 (0) | 46,4 ± 0,1 | 45,7 ± 0,2 | 36,6 ± 0,1 | 53,6 ± 0,2 | 1,20 ± 0,02 | 1,73 ± 0,01 | 20 ± 1 | 2,44 ± 0,04 | 56 ± 1 | 31,43 ± 0,03 | 43,6 ± 0,1 | 0,459 ± 0,009 |
| 15 (-1) | 5 (1) | 60 (0) | 33,5 ± 0,4 | 27,1 ± 0,4 | 33,6 ± 0,8 | 48,3 ± 0,4 | 1,105 ± 0,002 | 1,50 ± 0,02 | 26 ± 2 | 2,77 ± 0,04 | 54,26 | 29,63 ± 0,06 | 32,19 ± 0,06 | 0,47 ± 0,03 |
| 45 (1) | 5 (1) | 60 (0) | 49,8 ± 0,3 | 48,2 ± 0,3 | 38,7 ± 0,8 | 55 ± 1 | 1,26 ± 0,02 | 1,72 ± 0,01 | 17,9 ± 0,4 | 2,62 ± 0,04 | 60,31 ± 0,02 | 26,66 ± 0,02 | 28,88 ± 0,01 | 0,48 ± 0,02 |
| 15 (-1) | 3,5 (0) | 40 (-1) | 87,8 ± 0,8 | 87,1 ± 0,4 | 38 ± 1 | 60,5 ± 0,6 | 1,20 ± 0,03 | 1,69 ± 0,02 | 18,4 ± 0,1 | 2,61 ± 0,04 | 59,17 ± 0,03 | 29,965 ± 0,007 | 36 ± 0 | 0,461 ± 0,008 |
| 45 (1) | 3,5 (0) | 40 (-1) | 87 ± 3 | 90,6 ± 0,2 | 39,5 ± 0,7 | 60,9 ± 0,6 | 1,28 ± 0,03 | 1,83 ± 0,02 | 17,4 ± 0,3 | 2,68 ± 0,04 | 60,22 ± 0,07 | 29,67 ± 0,06 | 34,475 ± 0,007 | 0,47 ± 0,03 |
| 15 (-1) | 3,5 (0) | 80 (1) | 47,31 ± 0,06 | 47,1 ± 0,3 | 37 ± 2 | 55 ± 2 | 1,40 ± 0,03 | 1,81 ± 0,01 | 21 ± 1 | 2,61 ± 0,04 | 62,43 ± 0,06 | 27,73 ± 0,06 | 35,17 ± 0,03 | 0,475 ± 0,009 |
| 45 (1) | 3,5 (0) | 80 (1) | 38 ± 1 | 34,0 ± 0,5 | 35 ± 1 | 50,51 ± 0,05 | 1,27 ± 0,04 | 1,72 ± 0,02 | 24 ± 1 | 2,69 ± 0,04 | 57,81 ± 0,09 | 30,955 ± 0,007 | 37,63 ± 0,05 | 0,368 ± 0,008 |
| 30 (0) | 2 (-1) | 40 (-1) | 89 ± 2 | 89,8 ± 0,6 | 39,1 ± 0,9 | 66,3 ± 0,8 | 1,13 ± 0,02 | 1,59 ± 0,01 | 13 ± 1 | 2,46 ± 0,06 | 57,5 ± 0,1 | 30,97 ± 0,03 | 44,45 ± 0,05 | 0,442 ± 0,003 |
| 30 (0) | 5 (1) | 40 (-1) | 45,7 ± 0,7 | 45,3 ± 0,4 | 37,3 ± 0,5 | 55,8 ± 0,4 | 1,02 ± 0,03 | 1,51 ± 0,04 | 21,7 ± 0,1 | 2,93 ± 0,05 | 56,79 ± 0,08 | 29,88 ± 0,03 | 30,72 ± 0,01 | 0,47 ± 0,02 |
| 30 (0) | 2 (-1) | 80 (1) | 35 ± 1 | 31,9 ± 0,5 | 31,33 ± 0,02 | 47 ± 1 | 1,09 ± 0,05 | 1,595 ± 0,008 | 17,9 ± 0,2 | 2,57 ± 0,04 | 53,655 ± 0,007 | 32,01 ± 0,03 | 43,79 ± 0,03 | 0,41 ± 0,02 |
| 30 (0) | 5 (1) | 80 (1) | 50 ± 1 | 50,4 ± 0,1 | 38,9 ± 0,4 | 56,7 ± 0,2 | 1,19 ± 0,04 | 1,73 ± 0,03 | 21,77 ± 0,07 | 2,48 ± 0,04 | 59,6 ± 0,0 | 28,85 ± 0,02 | 31,78 0,03 | 0,44 ± 0,01 |
| 30 (0) | 3,5 (0) | 60 (0) | 44 ± 2 | 42,3 ± 0,9 | 37,14 ± 0,04 | 56,00 ± 0,07 | 1,16 ± 0,04 | 1,67 ± 0,01 | 22 ± 1,4 | 2,84 ± 0,05 | 61,6 ± 0,1 | 27,51 ± 0,03 | 34,54 ± 0,05 | 0,42 ± 0,01 |
| 30 (0) | 3,5 (0) | 60 (0) | 45 ± 1 | 43,8 ± 0,4 | 38 ± 1 | 55,2 ± 0,4 | 1,19 ± 0,02 | 1,71 ± 0,02 | 21 ± 1 | 2,763 ± 0,007 | 56,825 ± 0,007 | 30,7 ± 0,0 | 35,03 ± 0,03 | 0,43 ± 0,01 |
| 30 (0) | 3,5 (0) | 60 (0) | 39,08 ± 0,51 | 36,3 ± 0,1 | 36,4 ± 0,7 | 57,8 ± 0,6 | 1,13 ± 0,02 | 1,70 ± 0,02 | 17,7 ± 0,2 | 2,773 ± 0,007 | 55,24 ± 0,03 | 32,29 ± 0,02 | 35,62 ± 0,06 | 0,42 ± 0,02 |

Para las respuestas, se informa el promedio y desvío estándar (n=3)

t: tiempo de tratamiento etanólico, E/M: relación etanol/muestra, Ts: Temperatura de secado.

WHC: Capacidad de absorción de agua, SC: Capacidad de hinchamiento, WRC: Capacidad de retención de agua, RW: Porcentaje de agua retenida, OHC: Capacidad de absorción de aceite, FSA: Fracción de sólidos solubles en agua, VE: Volumen específico, CF: Compuestos fenólicos.

Tabla I.3.3. Análisis del diseño factorial completo.

| | WHC (g/g) | SC (mL/g) | WRC (g/g) | RW (g/100g) | OHC (g/g) | VE (mL/g) | FSA (g/100g) | L* | a* | b* | CF (g/100g) |
|-----------------------|--------------|--------------|--------------|----------------|--------------|--------------|-----------------|------------|-------------|------------|----------------|
| Término independiente | 42,9463 | 37,0718 | 23,4042 | 63,0998 | 1,17267 | 1,82826 | 9,68089 | 61,4022 | 26,7799 | 32,35 | 0,422448 |
| A: (t) | -5,95849* | -9,40667** | -2,61658* | -9,91597* | 0,0130127 | -0,0565681 | 0,742121 | -3,01261* | 0,375 | -3,23542* | 0,000699173 |
| B: (Te) | -0,758385 | -5,55321* | 0,957077 | 2,36597 | -0,0482731 | 0,0431472 | 0,725546 | 1,26718 | -1,65346* | -4,78625* | -0,00216013* |
| C (E/M) | 9,13818** | 7,05227** | 3,19378* | 9,15535* | 0,10787* | 0,22604** | 0,451079 | 4,18155** | -5,51417** | -12,4702** | -0,0340796* |
| D: (Ts) | -6,77558* | -14,3045** | -1,57471 | -4,87609 | 0,0598329 | 0,0536451 | 1,67905* | -0,279904 | -3,00154** | 0,964896 | 0,000214575 |
| AB | -2,37849 | -4,32023* | -1,41655 | -5,4916 | -0,121159* | -0,129907* | -1,08311 | -3,14636* | 0,616042 | -2,23229 | 8,46093E-7 |
| AC | -6,07083* | -9,49341** | -2,9193* | -10,6447* | -0,049781 | -0,0596196 | 4,43167** | -2,3049* | -2,54383* | -3,52583* | 0,000121921 |
| AD | 3,24027 | 3,93076* | 0,115985 | 1,19047 | 0,103018* | 0,0412051 | -3,33774* | 0,363221 | -1,11146 | -0,508646 | -0,0000297861* |
| BC | 1,05864 | -3,31979* | 1,72926 | 5,8916 | 0,00202433 | 0,0299078 | 2,95626* | -0,0042789 | -1,66813* | -4,8725* | 0,000374923* |
| BD | 3,73226 | -0,364823 | 0,578957 | 1,49328 | -0,0598793 | 0,00615805 | -3,12536* | -0,774904 | -2,42049* | -0,375313 | 0,00000546 |
| CD | -0,640967 | -6,55138** | 1,41268 | 4,48578 | -0,0107518 | 0,0522238 | 1,91203* | -0,879696 | -0,00145838 | 0,917396 | 0,000253868* |
| R ² | 86,48 | 95,66 | 87,77 | 86,09 | 81,78 | 72,84 | 97,09 | 79,26 | 92,47 | 84,47 | 74,67 |
| Falta de ajuste (P) | 0,1565 | 0,1565 | 0,6578 | 0,3745 | 0,1010 | 0,0782 | 0,4371 | 0,0619 | 0,1121 | 0,0643 | 0,0596 |

A (t): tiempo de tratamiento etanólico,

B (Te): Temperatura del tratamiento etanólico

C (E/M): relación etanol/muestra,

D (Ts): Temperatura de secado.

Niveles de significancia aceptados (α): *0.05; **0.01.

WHC: Capacidad de absorción de agua, SC: Capacidad de hinchamiento, WRC: Capacidad de retención de agua, RW: Porcentaje de agua retenida, OHC: Capacidad de absorción de aceite, FSA: Fracción de sólidos solubles en agua, VE: Volumen específico, CF: Compuestos fenólicos.

I.3.2. Variación de las propiedades de los concentrados de fibra dietaria con los factores estudiados

Las propiedades de los CFD obtenidos mediante los tratamientos correspondientes al diseño de Box Behnken, se resumen en la Tabla I.3.2. Los resultados para las propiedades de hidratación oscilaron entre 33,5 y 89 g/g para WHC, entre 27,1 y 90,6 mL/g para SC, entre 31,33 y 39,5 g/g para WRC y entre 47 y 66,3 g/100g para RW. Por otra parte, para las propiedades OHC, volumen específico, FSA, y rendimiento, los resultados obtenidos oscilaron entre 1,02 y 1,40 g/g, entre 1,50 y 1,83 mL/g, entre 12 y 26 g/100g y entre 2,44y 2,93 g/100g respectivamente. El color de los CFD osciló entre los valores de 53,665 y 62,63 para L*, entre 26,66 y 32,29 para a* y entre 28,88 y 44,53 para b*. Finalmente el contenido de compuestos fenólicos osciló entre los valores de 0,368 y 0,48 g/100g.

Los coeficientes de la ecuación de regresión que ajusta a los resultados obtenidos para cada propiedad y su análisis de varianza, se muestran en la Tabla I.3.4. Se verificó que el coeficiente R² para las propiedades de hidratación explicaba al menos un 81,10 % de la variabilidad de estas propiedades. Para OHC, volumen específico, FSA, el parámetro de color b* y compuestos fenólicos el porcentaje de la variabilidad R² fue superior al 79,28%, mientras que para las coordenadas de color L* y a*, se encontraron bajos valores de R² (62,19 y 63,87, respectivamente). La prueba de falta de ajuste no fue significativa para ninguna propiedad, indicando que el modelo utilizado fue adecuado para explicar los resultados observados para cada propiedad con un nivel de confianza del 95%.

Los diagramas de superficie de respuesta para las propiedades estudiadas, fueron graficados utilizando como variables la relación etanol/muestra y la temperatura de secado, y manteniendo fijo en un valor de 15 minutos, el tiempo de tratamiento con etanol, teniendo en cuenta que para este diseño, este factor no tuvo efectos significativos sobre las

propiedades (Tabla I.3.4) y, además, que un bajo tiempo de tratamiento puede contribuir a la optimización de los costos energéticos. En la Figura I.3.1 y I.3.2, se agruparon los diagramas de superficie de respuesta para las propiedades de hidratación WHC y SC y para las propiedades WRC y RW respectivamente, las cuales mostraron tendencias similares.

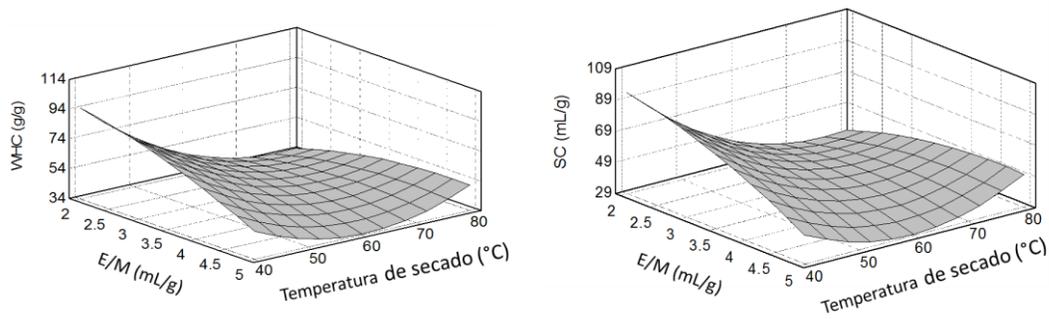


Figura I.3.1. Superficie de respuesta para las propiedades WHC y SC.

Tabla I.3.4. Coeficientes de la función polinomial que describen las respuestas analizadas.

| | WHC (g/g) | SC (mL/g) | WRC (g/g) | RW (g/100g) | OHC (g/g) | VE (mL/g) | FSA (g/100g) | L* | a* | b* | CF (g/100g) |
|-----------------------|--------------|--------------|--------------|----------------|--------------|--------------|-----------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|
| Término independiente | 349,836 | 362,603 | 51,5122 | 104,089 | 1,62194 | 2,20027 | -15,6334 | 69,9811 | 26,9731 | 73,6193 | 0,438221 |
| A: (t) | -1,2052 | -0,704462 | 0,142909 | 0,591542 | -0,0297402 | -0,0200439 | 0,0836197 | -0,310111 | 0,281167 | -0,187139 | 0,000640899 |
| B (E/M) | -19,2758 | -20,4785 | -2,11247 | -5,27856 | 0,000308495 | -0,0123429 | 10,5539 | 0,295556 | 2,17653 | -10,8394** | -0,03808** |
| C: (Ts) | -7,53649** | -8,16464** | -0,399032* | -1,37266* | -0,00206179 | -0,00986313 | 0,369733 | -0,295042 | -0,121927 | -0,305219 | 0,00213839** |
| AA | 0,0218994 | 0,0201479 | -0,000913566 | -0,00864907 | 0,000523586* | 0,000424373 | 0,00271349 | 0,00535833 | -0,003975 | 0,000867593 | 0,0000864457** |
| AB | 0,114662 | 0,140832 | 0,0395107 | 0,0578889 | 0,00268987 | 0,00240821 | -0,132611 | 0,0807222 | -0,0573333 | -0,027 | -0,000217851 |
| AC | -0,00687169 | -0,0138533 | -0,00310614 | -0,00389583 | -0,000182084 | -0,000194056 | 0,00330032 | -0,00472083 | 0,00293333 | 0,00336667 | -0,0000948842** |
| BB | -2,25859 | -2,5845 | -0,463199 | -0,949907 | -0,0286281 | -0,0263473 | -0,372181 | -0,803056 | -0,0202778 | 0,911759* | 0,00798549 |
| BC | 0,483097** | 0,525616* | 0,0782634* | 0,166125* | 0,00181899 | 0,00180142 | -0,0383442 | 0,0557083 | -0,0172083 | 0,014375 | -0,0000281692 |
| CC | 0,0431927** | 0,048387* | 0,00119262 | 0,00577865 | 0,0000266852 | 0,0000907265 | -0,00208748 | 0,00200781 | 0,000735937 | 0,0014224 | -0,00000122849 |
| R ² | 91,91 | 91,87 | 81,10 | 92,94 | 95,11 | 79,28 | 85,57 | 62,19 | 63,87 | 98,81 | 84,18 |
| Falta de ajuste (P) | 0,0610 | 0,0923 | 0,1568 | 0,2007 | 0,4873 | 0,4592 | 0,6885 | 0,7774 | 0,9512 | 0,1886 | 0,0753 |

A (t): tiempo de tratamiento etanólico,

B (E/M): relación etanol/muestra,

C (Ts): Temperatura de secado.

Niveles de significancia aceptados (α): *0.05; **0.01.

WHC: Capacidad de absorción de agua, SC: Capacidad de hinchamiento, WRC: Capacidad de retención de agua, RW: Porcentaje de agua retenida, OHC: Capacidad de absorción de aceite, FSA: Fracción de sólidos solubles en agua, VE: Volumen específico, CF: Compuestos fenólicos.

Se observó que las propiedades WHC y SC (Tabla I.3.4), fueron significativamente ($p < 0,01$) afectadas y de forma negativa por la T_s , por su coeficiente cuadrático y por la interacción entre T_s y E/M . En la Figura I.3.1, se puede observar que estas dos propiedades (WHC y SC), tienden a disminuir cuando E/M es baja y la T_s aumenta. Para altas E/M , se observa la misma tendencia hasta temperaturas de $\approx 60^\circ\text{C}$. Luego, a partir de este punto, esta tendencia se invierte, debido al efecto positivo cuadrático previamente mencionado. Asimismo, para bajas temperaturas de secado se observa un importante incremento en estas propiedades cuando disminuye E/M , mientras que para altas temperaturas esta tendencia se vuelve ligeramente inversa. Por lo cual las mejores condiciones para maximizar estas dos propiedades se dieron cuando se utilizaron bajas E/M y T_s . Probablemente, el uso de altas temperaturas de secado y la presencia de azúcares libres debido a bajas E/M , promuevan fenómenos de colapso y encogimiento del tejido (Gerschenson, Bartholomai, & Chirife, 1981), los cuales afectarían la porosidad del producto final, obteniéndose, por lo tanto, una baja capacidad de rehidratación (Sagar & Suresh Kumar, 2010).

En la Tabla I.3.4, también se puede observar una tendencia similar para las propiedades WRC y RW, las cuales fueron afectadas significativamente y de forma negativa por la temperatura de secado y de forma positiva por la interacción entre E/M y T_s . En la Figura I.3.2, se visualiza mejor las tendencias encontradas para estas dos propiedades. Se observó que para bajas E/M , cuando se aumentó la temperatura de secado se produjo una disminución de estas dos propiedades, mientras que para altas E/M , la tendencia fue inversa. Así mismo, para bajas temperaturas de secado el aumento de E/M , produjo una fuerte disminución de las propiedades, mientras que para altas temperaturas se produjo el efecto contrario. Los mejores resultados para estas propiedades se encontraron a bajas E/M y T_s .

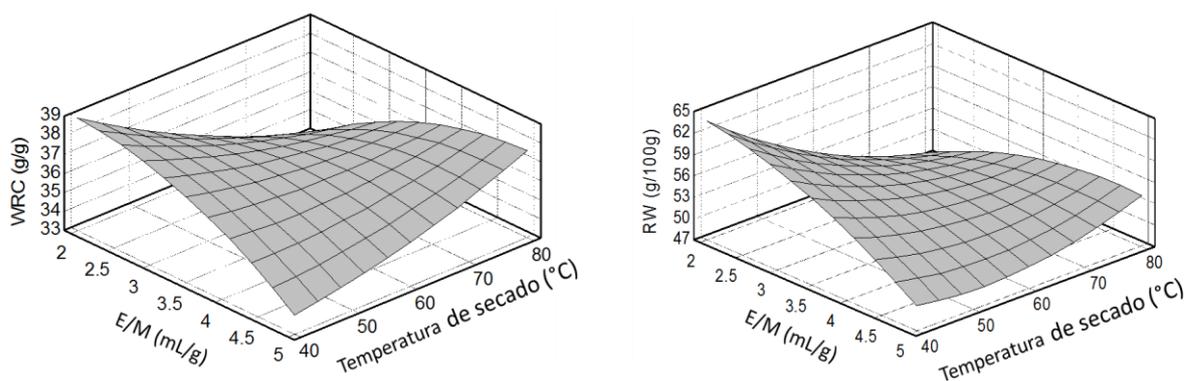


Figura I.3.2. Superficie de respuesta para las propiedades WRC y RW.

En estudios realizados por Garau, Simal, Rosselló, & Femenia, (2007), se encontró que el incremento de la temperatura (secado con aire caliente) para la deshidratación de fracciones de fibra dietaria proveniente de la pulpa y la cáscara de naranja, promovía un fuerte decaimiento de la WRC, y en parte se atribuyó posiblemente a una degradación térmica de polisacáridos hidrofílicos presentes en la fibra, además de los fenómenos de colapso y encogimiento (Kivelä, 2011).

La propiedad OHC, sólo fue afectada significativamente y de forma positiva, por el coeficiente cuadrático correspondiente al tiempo de tratamiento (Tabla I.3.4). En la Figura I.3.3, se puede observar que a baja temperatura se produce un fuerte decaimiento de OHC cuando aumenta E/M . Así mismo, para altas E/M , cuando aumenta la temperatura de secado esta propiedad tiende a aumentar, mientras que a bajas E/M , la tendencia no es tan pronunciada. Los mejores valores de OHC se observaron para valores intermedios de E/M y altas temperaturas de secado. La habilidad de un material para retener aceites, se ha asociado con las propiedades de superficie, la densidad de carga global, la estructura y la naturaleza hidrofílica de sus constituyentes (Elleuch et al., 2011), las cuales se ven fuertemente afectadas por el historial de procesamiento.

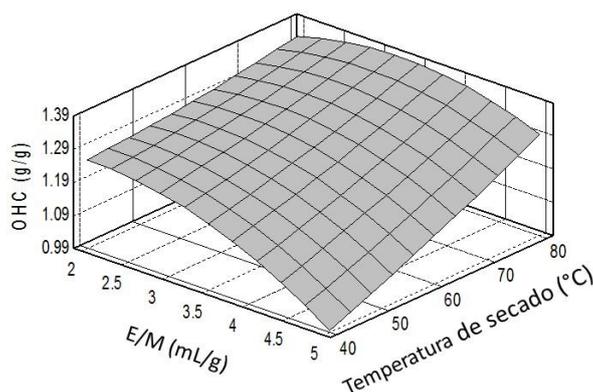


Figura I.3.3. Superficie de respuesta representando a OHC.

Las propiedades volumen específico y FSA, no presentaron efectos significativos de los factores considerados. Sin embargo, estas propiedades son de gran importancia para la caracterización de los CFD, en términos de su funcionalidad y calidad nutricional. La FSA, puede incluir compuestos de bajo peso molecular solubles en agua, mientras que el volumen específico es relevante debido a los efectos del hinchamiento de la fibra en el intestino grueso (Guillon et al., 2011). En particular, en esta investigación se encontró una correlación positiva entre el volumen específico (coeficiente de correlación: 0,8832) y OHC. Esta misma correlación para estas propiedades se había encontrado en estudios realizados por de Escalada Pla, Uribe, Fissore, Gerschenson, & Rojas, (2010), en fracciones de fibra dietaria obtenidas a partir de residuos del membrillo, siendo atribuida por los autores a la influencia de las características estructurales sobre la absorción de aceite.

La coordenada de color b^* , representa el rango de colores que oscila del azul (valores negativos de b^*) al amarillo (valores positivos de b^*). En la Tabla I.3.4, se observa un efecto significativamente ($p < 0,01$) negativo de E/M sobre este parámetro de color, lo cual significa que mayores cantidades de etanol, se produce una mayor pérdida del color, probablemente debido a la pérdida de carotenoides y compuestos fenólicos característicos del fruto y que pueden ser solubilizados durante el tratamiento etanólico. En la Figura I.3.4, esta tendencia se puede apreciar.

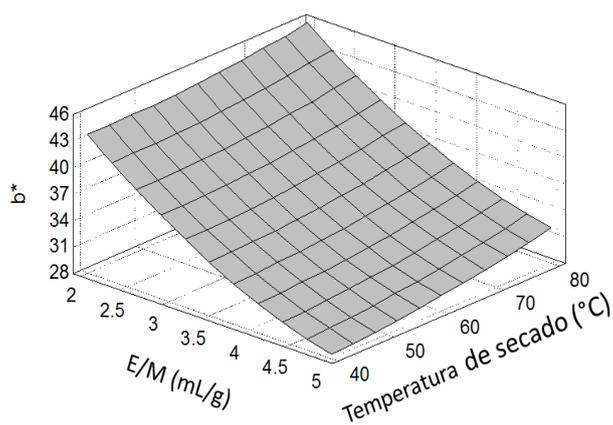


Figura I.3.4. Superficie de respuesta representando la coordenada de color b^* .

En investigaciones realizadas por Gayosso-García Sancho, Yahia, & González-Aguilar, (2011), se cuantificaron diferentes compuestos bioactivos en la pulpa de papaya variedad Maradol, entre ellos β -caroteno, licopeno y β -criptoxantina, los cuales han sido correlacionados con el aporte característico de los colores de los frutos (Lancaster, Lister, Reay, & Triggs, 1997). Por otra parte, autores como Craft & Soares, (1992), reportaron valores de solubilidad en etanol para compuestos como el β -caroteno de 30 mg/L.

En la Tabla I.3.4, se observa para los polifenoles algunas tendencias que también han sido documentadas por otros autores. Por ejemplo, se encontró que los polifenoles se vieron afectados ($p < 0,01$), de forma negativa por E/M , y de forma positiva por T_s . El efecto negativo de E/M , significa que el aumento del etanol durante el tratamiento etanólico para producir los CFD, da lugar a concentrados con menor cantidad de compuestos fenólicos, probablemente debido a que durante este proceso, se produce una solubilización de polifenoles en la solución etanólica. Al respecto, se ha encontrado que el etanol es un solvente que se ha estudiado como extractante para el análisis y cuantificación de compuestos fenólicos (Spigno, Tramelli, & De Faveri, 2007). También se encontró un efecto positivo de la T_s , el cual puede ser atribuido, a una reducción importante en los tiempos de secado, producto del incremento en la temperatura, lo cual

podría contribuir a la inactivación de la actividad enzimática residual, como por ejemplo la de la polifenol oxidasa. Este efecto positivo de la temperatura de secado fue también encontrado por Madrau et al., (2009), para el secado de albaricoques con aire caliente y a diferentes temperaturas.

I.3.3. Optimización por superficie de respuesta

El objetivo de la optimización fue maximizar las respuestas para las propiedades analizadas. En la Tabla I.3.5 se resumen las condiciones de procesamiento (t , E/M , T_s) propuestas estadísticamente para lograr obtener los valores óptimos de cada propiedad y el valor optimizado que se estima para cada una de ellas.

Tabla I.3.5. Resumen del análisis de superficie de respuesta para cada propiedad.

| Propiedad | Tiempo de Tratamiento (min) | Relación etanol/muestra (mL/g) | Temperatura de secado (°C) | Valor estimado |
|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------|
| WHC (g/g) | 44,99 | 2,00 | 40,00 | 96,71 |
| SC (mL/g) | 45,00 | 2,03 | 40,00 | 100,91 |
| WRC (g/g) | 45,00 | 3,02 | 40,00 | 40,67 |
| RW (g/100g) | 31,87 | 2,00 | 40,00 | 66,15 |
| OHC (g/g) | 15,00 | 3,33 | 80,00 | 1,38 |
| Volumen específico (mL/g) | 45,00 | 3,19 | 40,00 | 1,83 |
| FSA (g/100g) | 15,00 | 5,00 | 54,57 | 25,95 |
| b* | 15,00 | 2,00 | 40,00 | 45,38 |
| Compuestos fenólicos (g/100g) | 15,00 | 4,99 | 80,00 | 0,50 |

Se observó que para las propiedades de hidratación (WHC, SC, WRC y RW) hay una tendencia similar para la optimización. Es decir que es necesario utilizar bajas cantidades de etanol, un alto tiempo de tratamiento, así como bajas temperaturas de secado. De esta forma se esperaría obtener CFD con valores optimizados para las propiedades WHC, SC, WRC y RW de 96,71g/g, 100,91 mL/g, 40,67 g/g y 66,15 g/100g respectivamente.

Las demás propiedades mostraron diferentes condiciones de proceso para maximizar sus valores (Tabla I.3.5). Este análisis es de gran utilidad porque se obtiene de forma

individual las condiciones de proceso adecuadas para obtener el valor máximo de cada propiedad. Debido a que en esta investigación se evaluaron diferentes tipos de propiedades, la elección de las condiciones de proceso apropiadas, dependerá básicamente de la funcionalidad del producto que se desee obtener.

Asimismo, en esta investigación se planteó una optimización para diferentes propiedades, mediante un análisis multi-respuesta. Las propiedades que se incluyeron para este análisis, fueron: WHC, SC, WRC, RW, OHC, volumen específico, FSA, el parámetro de color b^* y los compuestos fenólicos, debido a su importancia en cuanto a la calidad del producto y además que fueron las propiedades que presentaron los mejores valores para el R^2 .

El análisis multi-respuesta, tuvo el objetivo de optimizar maximizando todas las propiedades analizadas. Los resultados obtenidos mostraron que para la etapa de producción de los CFD se sugiere un tratamiento con etanol, utilizando una E/M de 2,9 mL/g y un (t) de 15 minutos, mientras que para la etapa de deshidratación, la T_s calculada fue de 40°C. Para estas condiciones de proceso la función deseabilidad del análisis obtuvo un valor de $d=0,82$. El rango de la función deseabilidad oscila entre $d=0$ para una respuesta completamente indeseable y $d=1$ para una respuesta completamente deseable (Bezerra, Santelli, Oliveira, Villar, & Escaleira, 2008). En la Figura I.3.5, se puede observar la superficie multi-respuesta con las tendencias del efecto de la T_s y la E/M sobre la función deseabilidad.

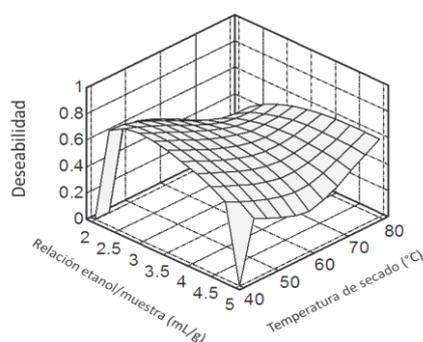


Figura I.3.5. Análisis multi-respuesta para optimizar 9 de las propiedades estudiadas.

En la Tabla I.3.6 se puede observar los resultados estimados para cada respuesta del CFD de pulpa de papaya, luego del análisis multi-respuesta. Con el objetivo de verificar los resultados para las propiedades estimados estadísticamente mediante el análisis multi-respuesta, se produjo un nuevo lote de CFD de pulpa de papaya, utilizando las condiciones de proceso antedichas (E/M : 2,9 mL/g, t : 15 min, T_s : 40°C). Estas mismas condiciones de proceso, además, fueron utilizadas para producir un CFD a partir de la cáscara de la papaya y sus resultados fueron comparados. Los resultados experimentales para ambos CFD, se presentan en la Tabla I.3.6.

Tabla I.3.6. Valores estimados mediante el análisis multi-respuesta y valores experimentales encontrados para las propiedades de los CFD de pulpa y cáscara.

| Propiedad | Valor estimado para el CFD de pulpa | Valor experimental para el CFD de pulpa | Valor experimental para el CFD de cáscara |
|-------------------------------|-------------------------------------|---|---|
| WHC (g/g) | 86,39 | 90,7 ± 0,9 ^a | 27 ± 1 ^b |
| SC (mL/g) | 85,11 | 84,0 ± 0,9 ^a | 20,3 ± 0,2 ^b |
| WRC (g/g) | 38,31 | 30,4 ± 0,4 ^a | 21 ± 2 ^b |
| RW (g/100g) | 61,52 | 46,3 ± 0,7 ^a | 39 ± 2 ^b |
| OHC (g/g) | 1,23 | 1,20 ± 0,01 ^a | 1,37 ± 0,03 ^b |
| Volumen específico (mL/g) | 1,68 | 1,64 ± 0,01 ^a | 1,921 ± 0,006 ^b |
| FSA (g/100g) | 16,90 | 24 ± 2 ^a | 15 ± 1 ^b |
| b* | 39,84 | 37,61 ± 0,04 ^a | 38,78 ± 0,03 ^b |
| Compuestos fenólicos (g/100g) | 0,44 | 0,47 ± 0,03 ^a | 0,99 ± 0,03 ^b |

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas

En la Tabla I.3.6, se observa que el nuevo CFD de pulpa producido bajo las condiciones de la optimización multi-respuesta, presentó valores para las propiedades similares con los que habían sido estimados estadísticamente, por lo cual se puede inferir que los modelos estadísticos utilizados fueron adecuados para optimizar las propiedades de interés.

I.3.4. Propiedades de los concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya

El tratamiento con etanol del tejido fresco de pulpa y cáscara de papaya y la deshidratación posterior de estos mismos produjo 8,8 g/100g de CFD de cáscara y 2,56 g/100g de CFD de pulpa, los cuales además presentaron un contenido de humedad de 6,6 y 8,7 g/100 g respectivamente. Autores como Garau et al., (2007), también reportaron mayores rendimientos en concentrados de fibra dietaria obtenidos a partir de la cáscara de naranja que en los obtenidos de la pulpa. Por otra parte, de Escalada Pla et al., (2012), encontraron rendimientos del orden de 2,6 y 4,6 g/100g tejido fresco, en fracciones de fibra obtenidas a partir de la pulpa y la cáscara de durazno variedad Calred. Los CFD de pulpa y cáscara de papaya obtenidos se muestran en la Figura I.3.6.

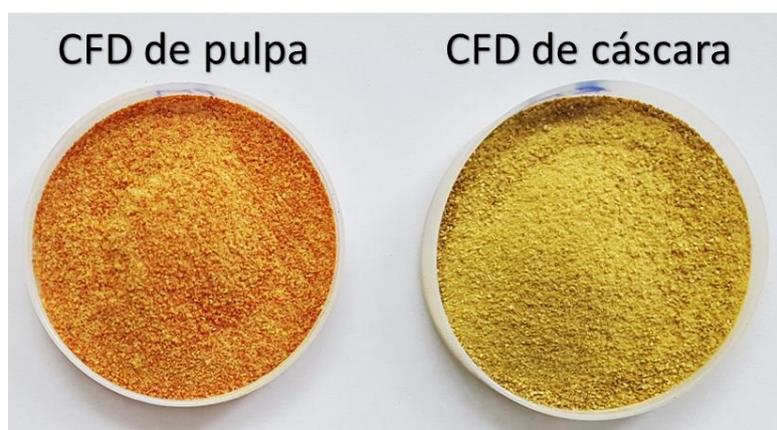


Figura I.3.6. Concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara, producidos luego de los tratamientos de optimización.

El CFD de pulpa presentó propiedades de hidratación con valores más altos que los CFD de cáscara (Tabla I.3.6). Estas diferencias encontradas para este tipo de propiedades pueden ser atribuidas a diferencias estructurales y composicionales entre los dos concentrados (Guillon et al., 2011). Propiedades como la WHC, evalúan el agua levemente asociada a la matriz de fibra, por lo cual tendría efectos benéficos para el cuerpo, debido al incremento en el peso de las heces (Cadden, 1987). Por otra parte la

WRC, representa el agua fuertemente retenida por la matriz de fibra, luego de ser sometida a fuerzas externas como la centrifugación. Esta propiedad, permite obtener una aproximación al comportamiento de este CFD si se utilizase en la formulación de productos que sean sometidos a fuerzas de cizalla equivalentes, como por ejemplo, en la elaboración de productos de panadería que involucran etapas de amasado, o también en productos fluidos, que sean sometidos a etapas de mezclado y transporte del producto por cañerías.

La capacidad de hinchamiento y de absorción de agua son dos propiedades que mostraron tener una alta correlación (momento producto de Pearson: 0.9970), ya que ambas están directamente relacionadas con la absorción de agua, otorgando al concentrado una característica especial teniendo en cuenta su importancia a nivel fisiológico e industrial. Es de gran importancia resaltar que los valores encontrados para las propiedades WHC y SC en el CFD de pulpa (90,7 g/g y 84,0 mL/g respectivamente), son mucho mayores que los que se han reportado en otros concentrados obtenidos a partir de diferentes tejidos y tratamientos. Por ejemplo, autores como Grigelmo-Miguel et al., (1999), resumieron valores para WHC, encontrados por diferentes investigadores en productos tales como: salvado de trigo (6,6 g/g) y de avena (5,5 g/g), fibra dietaria de manzana (6,3 g/g), de pera (6,8 g/g), de naranja (12,4 g/g), de durazno (12,6 g/g), de alcaucil (13,2 g/g) y de espárragos (11,2 g/g). Así mismo, Guillon et al., (2011), reportaron valores para SC en fibra dietaria de remolacha (10,8 mL/g), de coliflor (22,9 mL/g), de manzana deshidratada a 50°C (32,0 mL/g) y en salvado de trigo (7,0 mL/g). Esto denota que el CFD de la pulpa de papaya obtenido en esta investigación, posee una muy alta capacidad de absorción de agua y, por consiguiente de hinchamiento, lo cual permite inferir que su uso como ingrediente en la formulación de productos alimenticios podría otorgar propiedades viscosantes mediante el atrapamiento de moléculas de agua.

También, se encontró en este trabajo que los CFD de pulpa y cáscara presentaron valores para la FSA, de 24 y 15 g/100g, respectivamente. Estos valores son del orden de los encontrados en fracciones de fibra dietaria obtenida a partir de residuos del durazno y mediante diferentes tratamientos, en estudios realizados por Nieto Calvache et al., (2015), donde se reportaron valores entre 11 y 16 g/100g para esta misma propiedad.

Por otra parte los CFD de cáscara presentaron mayores ($p < 0,05$) valores para las propiedades OHC y volumen específico que los CFD de pulpa. Esta tendencia, puede estar asociada con la correlación positiva entre el volumen específico y el OHC, discutida anteriormente. Los valores de OHC para los CFD de pulpa y cáscara (1,20 y 1,37 g/g respectivamente) son del orden de los reportados por Gómez-Ordóñez, Jiménez-Escrig, & Rupérez, (2010), en aislados de fibra dietaria obtenidos a partir de algas comestibles de la costa noroeste española (1,22 y 1,67 g/g).

El color es uno de los atributos sensoriales más importantes a la hora de evaluar la aceptación de un nuevo ingrediente o producto en la industria de alimentos (Tosh & Yada, 2010). De acuerdo a lo observado en las Tablas I.3.1 y I.3.2, los diferentes tratamientos con etanol y temperatura de secado, produjeron variaciones en el color del concentrado. El aclaramiento de las muestras puede ser atribuido al efecto extractante que tiene el etanol sobre los pigmentos característicos de la muestra, como se discutió anteriormente, mientras que el oscurecimiento de las muestras puede ser debido a reacciones de caramelización (Krokida & Maroulis, 2007). En la Figura I.3.7, se puede observar mejor el efecto del procesamiento sobre el color final de los CFD producidos. Las imágenes mostradas corresponden a una parte de los CFD obtenidos durante el desarrollo del primer diseño experimental (16 sistemas y 4 puntos centrales).



Figura I.3.7. Efecto del procesamiento sobre el color de los CFD, obtenidos con el diseño factorial.

La concentración de los compuestos fenólicos encontrada en el CFD de cáscara (0,99 g/100g), fue casi el doble de la encontrada en el CFD de pulpa (0,47 g/100g) (Tabla I.3.6). La literatura usualmente informa una mayor concentración de compuestos fenólicos en el tejido de la cáscara que en el de la pulpa de distintas frutas y hortalizas y esta característica puede explicarse por el hecho que estos compuestos además de aportar al color de los vegetales, actúan generando un mecanismo de defensa en contra de organismos patógenos, parásitos y predadores (Liu, 2004). En los trabajos de Rivera-Pastrana, Yahia, & González-Aguilar, (2010) se observó esta misma tendencia durante el análisis de los tejidos frescos de papaya (cáscara y pulpa) variedad Maradol. Por otra parte, los valores obtenidos en el presente trabajo, son del orden de los reportados en las investigaciones realizadas por Saura-Calixto, Serrano, & Goñi, (2007) y por Hervert-

Hernández, García, Rosado, & Goñi, (2011), quienes informaron valores promedio de polifenoles de 0,538 y 0,742 g/100g en muestras deshidratadas de los frutos típicos consumidos en la dieta española y mejicana, respectivamente. Teniendo en cuenta que los CFD producidos en este trabajo están proyectados para ser utilizados como ingredientes o aditivos en la formulación de otros productos de la industria alimentaria, la presencia de compuestos fenólicos es una propiedad deseable ya que se ha reportado que estos compuestos pueden proveer actividad antioxidante tanto en el alimento como en el organismo (Wootton Beard, Moran, & Ryan, 2011).

I.4. CONCLUSIONES

- Se desarrolló una metodología para la producción de un CFD a partir de la pulpa de papaya mediante un tratamiento con etanol y una etapa posterior de deshidratación con microondas. La metodología fue sustentada mediante los resultados obtenidos del desarrollo de un diseño factorial y un diseño de superficie de respuesta.
- El análisis de los resultados del diseño factorial, demostró que los factores o variables de proceso que afectaban un mayor número de propiedades analizadas, eran el tiempo de tratamiento etanólico y la relación etanol/muestra.
- El desarrollo del diseño de superficie de respuesta permitió optimizar las respuestas analizadas y además demostró que las condiciones de procesamiento que maximizaron las propiedades de hidratación eran similares (bajas cantidades de etanol, alto tiempo de tratamiento y baja temperatura de secado) mientras que para las demás propiedades, esas condiciones diferían.
- El análisis multi-respuesta, propuso una técnica de producción de CFD con varias propiedades optimizadas (propiedades de hidratación y de absorción de aceite, volumen específico, FSA, b^* , contenido de compuestos fenólicos), el cual involucra una etapa de tratamiento con etanol durante 15 minutos, utilizando una relación etanol/muestra de 2,9 mL/g y una temperatura de secado de 40°C. Estas mismas condiciones fueron utilizadas para obtener CFD a partir de la cáscara.
- Los resultados para las propiedades, predichos estadísticamente para el CFD de pulpa, mediante el análisis de múltiple-respuesta, fueron similares a los encontrados experimentalmente en dichos CFD, validando los tratamientos estadísticos aplicados para este desarrollo.

- El CFD de la pulpa presentó valores para propiedades de hidratación tales como WHC y SC, mucho más altos que los reportados en la literatura para fibra dietaria producida a partir de otros tejidos vegetales, lo cual sugiere un gran potencial para que este producto pueda ser utilizado como ingrediente y/o aditivo alimenticio para mejorar propiedades reológicas/texturales.
- Los CFD de la pulpa presentaron una mayor capacidad de retención de agua que los de CFD de la cáscara, pero estos últimos presentaron mayor capacidad de absorción de aceite y volumen específico que los CFD de pulpa.
- Ambos CFD presentaron contenido de compuestos fenólicos, siendo el de la cáscara el doble del encontrado en el CFD de la pulpa, otorgando una característica importante a estos concentrados debido a su posible aporte de actividad antioxidante en la formulación de un alimento y/o en el organismo.

CAPÍTULO II

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y FUNCIONALES DE LOS ANTIOXIDANTES PRESENTES EN LOS CONCENTRADOS DE FIBRA DIETARIA OBTENIDOS A PARTIR DE PULPA Y CÁSCARA DE PAPAYA

RESUMEN DEL CAPÍTULO II

Concentrados de fibra dietaria (CFD) de pulpa y cáscara de papaya, producidos mediante tratamiento con etanol y deshidratación por microondas, se caracterizaron químicamente en cuanto a su composición y actividad antioxidante y posteriormente se analizó su digestibilidad *in vitro*. Los CFD demostraron tener capacidad antioxidante evaluada mediante los métodos del FRAP y DPPH. Entre los compuestos antioxidantes que se detectaron en los CFD se pueden mencionar: compuestos fenólicos, carotenoides y ácido ascórbico. El análisis cromatográfico de los CFD, permitió la identificación de cinco compuestos fenólicos: hexósido de ácido protocatecuico, manghaslina, quercetina-3-O rutinósido, cafeoil hexósido y ácido ferúlico. Del mismo modo, se identificaron y cuantificaron los carotenoides, luteína, zeaxantina, β -caroteno y β -criptoxantina mediante cromatografía de alta resolución. Por último, el análisis de digestibilidad demostró que alrededor del 65% de los polifenoles asociados a los CFD de la pulpa y la cáscara, son potencialmente bioaccesibles en el intestino delgado y que la porción de fibra indigestible, además, tenía capacidad antioxidante. En vista de los resultados obtenidos se puede inferir que los CFD producidos en esta investigación, retienen compuestos antioxidantes luego del proceso aplicado. Más aún, dichos compuestos pueden ejercer acción antioxidante aunque se encuentren asociados a la fibra dietaria. Todo ello le confiere a los CFD una potencial aplicación para ser utilizados como ingredientes funcionales ayudando a prevenir y/o minimizar la oxidación de lípidos y otros nutrientes en alimentos y los mecanismos oxidativos en el ser humano.

OBJETIVOS DEL CAPÍTULO II

- Profundizar en el estudio de otras propiedades de los CFD optimizados, cuya metodología fue desarrollada en el capítulo I.
- Determinar la capacidad antioxidante de los CFD de pulpa y cáscara, mediante dos metodologías que cuantifican la capacidad antirradicalaria y la capacidad reductora.
- Cuantificar los compuestos con actividad antioxidante, tales como compuestos fenólicos, carotenoides y ácido ascórbico.
- Identificar mediante cromatografía líquida de alta resolución y espectrometría de masa, los compuestos fenólicos presentes en los CFD de pulpa y cáscara.
- Identificar y cuantificar mediante cromatografía líquida de alta resolución los carotenoides presentes en los CFD de pulpa y cáscara.
- Realizar un ensayo de digestibilidad *in vitro* de los CFD.
- Determinar los compuestos fenólicos bioaccesibles en el intestino delgado.
- Determinar el contenido de fenólicos asociados a las fracciones indigestibles soluble e insoluble, luego del proceso de digestión *in vitro*.
- Determinar la capacidad antioxidante en las fracciones indigestibles solubles e insolubles luego del proceso de digestión *in vitro*.

II.1. INTRODUCCIÓN

Existe una creciente demanda de alimentos que contribuyan al bienestar y la salud de las personas, lo cual ha hecho que las investigaciones que se dedican a la búsqueda de compuestos que confieran a los productos dichos beneficios hayan tenido un importante crecimiento. En este sentido, los frutos y vegetales pueden ser considerados como una buena fuente de compuestos como vitaminas y fitoquímicos, a los cuales se les ha adjudicado diferentes propiedades en favor de la salud.

La palabra “fitoquímico” proviene de la combinación del término *phyto* que significa planta en griego, con el vocablo “químico” por lo cual los fitoquímicos son sustancias químicas presentes en las plantas y que se producen de forma natural para protegerse de virus, bacterias y hongos (García, 2007).

Los fitoquímicos también son definidos como compuestos bioactivos no nutrientes, que están presentes en los frutos, vegetales, semillas y otros alimentos de las plantas, que se han asociado con la reducción de diferentes enfermedades crónicas. Se estima que más de 5000 compuestos fitoquímicos se han identificado en frutos, vegetales y granos, sin embargo otro amplio porcentaje todavía permanece sin identificar (Liu, 2004).

Algunos autores sugieren que los beneficios de los fitoquímicos presentes en las frutas y verduras pueden ser incluso mayores que los que se conocen actualmente por su incidencia en disminuir el estrés oxidativo inducido por radicales libres, el cual está implicado en una amplia gama de enfermedades crónicas (Ames & Gold, 1991).

Los fitoquímicos se pueden clasificar en diferentes grupos: carotenoides, compuestos fenólicos, alcaloides, compuestos que contienen nitrógeno y compuestos organosulfurados (Figura II.1.1.)

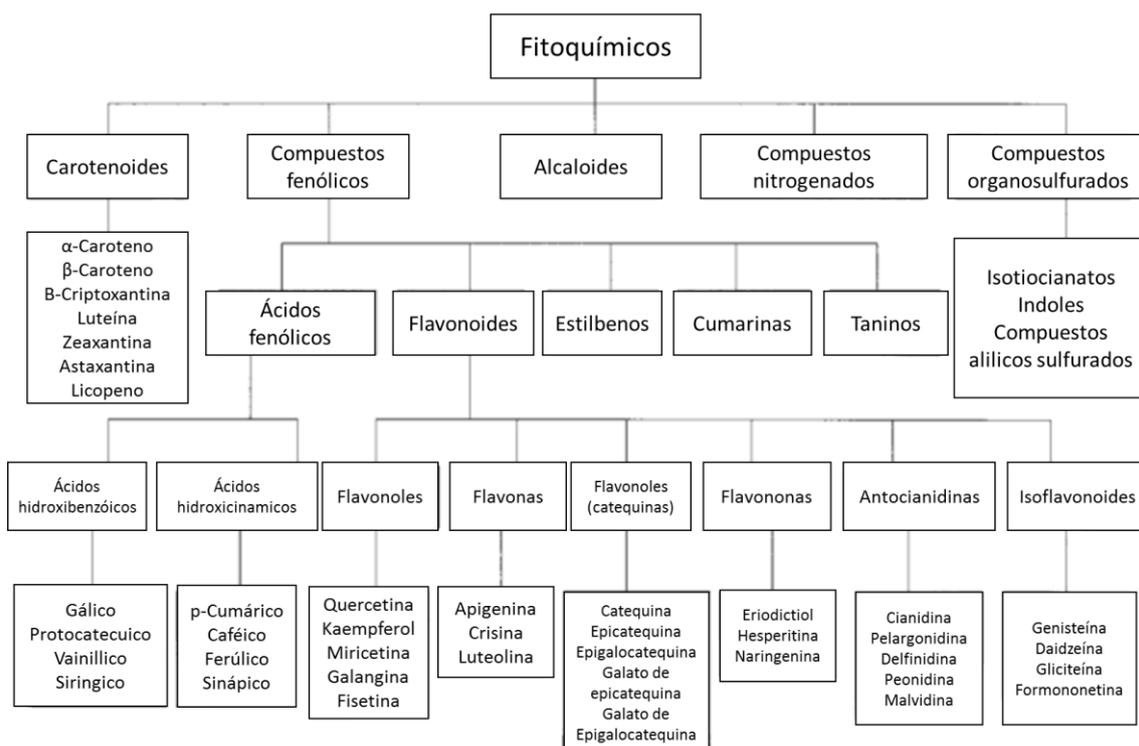


Figura II.1.1. Clasificación de los fitoquímicos de la dieta. Adaptado de Liu, (2004).

En la actualidad hay un creciente interés en estos compuestos por su actividad biológica, debido a sus propiedades antioxidantes y su capacidad para aliviar diferentes tipos de enfermedades crónicas (Gardner, White, McPhail, & Duthie, 2000; Rice-Evans, Miller, & Paganga, 1997; Vinson, Su, Zubik, & Bose, 2001). 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, 2003).

II.1.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son compuestos que poseen uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilo y, en general se clasifican como ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, cumarinas y taninos (Figura II.1.1). Los compuestos fenólicos son productos secundarios del metabolismo en las plantas, que desarrollan funciones esenciales en la reproducción y el crecimiento y en los mecanismos de defensa.

Asimismo, los compuestos fenólicos presentes en nuestra dieta pueden proporcionar beneficios para la salud asociados con un menor riesgo de enfermedades crónicas. Por ejemplo, entre las frutas comúnmente consumidas en la dieta estadounidense, el arándano tiene el más alto contenido de fenoles totales, seguido de manzana, uva roja, fresa, ananá, plátano, melocotón, limón, naranja, pera y pomelo (Sun, Chu, Wu, & Liu, 2002).

Por otra parte, entre los vegetales comúnmente consumidos en los Estados Unidos, el brócoli posee el mayor contenido de fenoles totales, seguido de la espinaca, cebolla amarilla, pimiento rojo, zanahoria, col, patata, lechuga, apio y pepino (Chu, Sun, Wu, & Liu, 2002). Se estima que los flavonoides representan alrededor de dos tercios de los compuestos fenólicos de la dieta y el tercio restante corresponde a ácidos fenólicos (Liu, 2004).

II.1.1.1. Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de compuestos fenólicos con actividad antioxidante que se han identificado en las frutas, verduras y otros alimentos de origen vegetal y que se han relacionado con la reducción del riesgo de enfermedades crónicas importantes. Más de 4000 flavonoides distintos han sido identificados. Ellos tienen comúnmente una estructura genérica que consta de dos anillos aromáticos (anillos A y B) unidas por 3 átomos de carbono que integran, por lo general, un anillo heterocíclico oxigenado como el anillo C (Figura II.1.2).

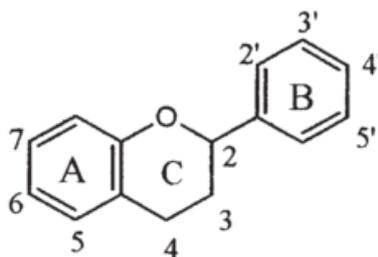


Figura II.1.2. Estructura genérica de los flavonoides.

Las diferencias en la estructura genérica del anillo heterocíclico C, permite clasificarlos como flavonoles, flavonas, flavanoles (catequinas), flavanonas, antocianidinas, e isoflavonoides (Figura II.1.1 y Figura II.1.3). Los flavonoles (quercetina, kaempferol y miricetina), flavonas (luteolina y apigenina), flavanoles (catequina, epicatequina, epigallocatequina, galato de epicatequina y galato de epigallocatequina), flavanonas (naringenina), antocianidinas, e isoflavonoides (genisteína) son flavonoides comunes en la dieta (Figuras II.1.1 y II.1.4).

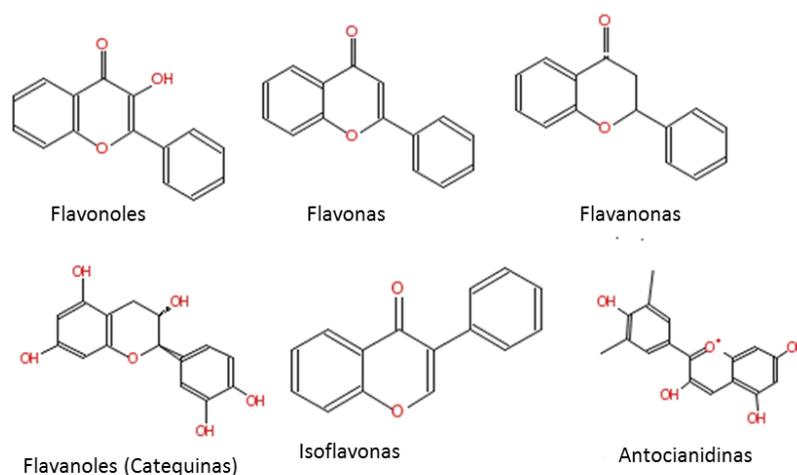


Figura II.1.3. Estructura de los principales flavonoides dietarios (Lakhanpal & Rai, 2007)

Los flavonoides se encuentran más frecuentemente en la naturaleza en formas conjugadas, glicosiladas o esterificadas, y también pueden aparecer junto con agliconas, especialmente como resultado de los efectos del procesamiento de alimentos (Liu, 2004). Muchos glucósidos diferentes se pueden encontrar en la naturaleza más de 80 azúcares diferentes se han descubierto unidos a los flavonoides (Hollman & Arts, 2000). Las antocianidinas son las responsables de los colores rojo y azul en algunas frutas y verduras.

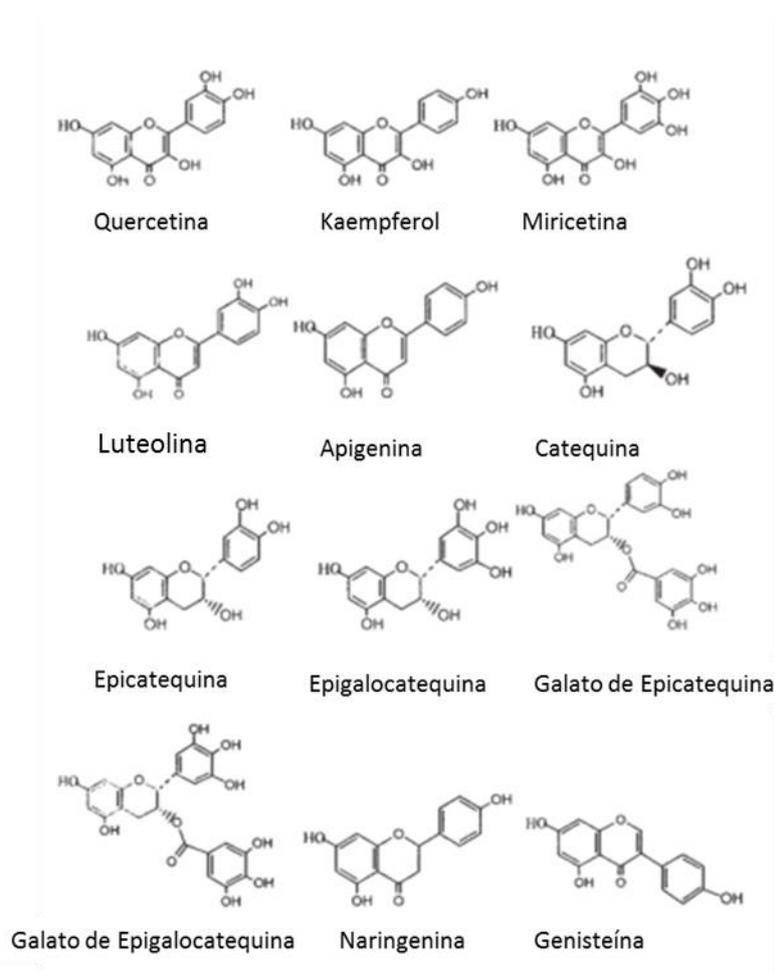


Figura II.1.4. Estructuras químicas de los flavonoides comunes de la dieta (Liu, 2004)

II.1.1.2. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos se pueden subdividir en dos grupos principales: ácidos derivados del hidroxibenzoico y ácidos derivados del hidroxicinámico (Figura. II.1.5). Los derivados del ácido hidroxibenzoico incluyen a los ácidos, p-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico, siríngico y gálico. Están comúnmente presentes en forma unida y son típicamente componentes de estructuras complejas como ligninas y taninos hidrolizables. También se pueden encontrar en forma de derivados de azúcares y ácidos orgánicos en alimentos vegetales. Los derivados del ácido hidroxicinámico incluyen a los ácidos p-cumárico, cafeico, ferúlico, sinápico (Figura II.1.5) y se encuentran

principalmente presentes unidos o ligados a los componentes estructurales de la pared celular, tales como celulosa, lignina, y proteínas a través de enlaces éster (Liu, 2004).

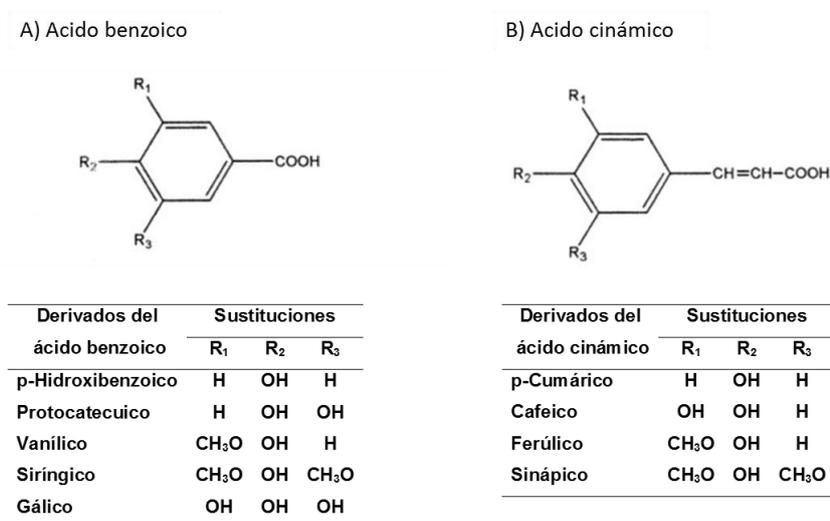


Figura II.1.5. Estructura de los ácidos fenólicos: (A) Derivados del ácido benzoico, (B) Derivados del ácido cinámico.

El ácido ferúlico se produce principalmente en las semillas y hojas de las plantas, principalmente conjugado covalentemente a mono y disacáridos, polisacáridos de la pared celular de la planta, glicoproteínas, poliaminas, ligninas, y biopolímeros de carbohidratos insolubles (Liu, 2004). Factores del procesamiento de alimentos, como tratamientos térmicos, pasteurización, fermentación, y la congelación, contribuyen a la liberación de estos ácidos fenólicos unidos (Dewanto, Wu, & Liu, 2002). Los ácidos cafeico, ferúlico, p-cumárico, protocatecuico, y vanílico están presentes en casi todas las plantas (Liu, 2004).

II.1.2. Carotenoides

El estudio de los carotenoides y sus propiedades antioxidantes ha recibido un especial interés por parte de investigadores, profesionales de la salud y agencias reguladoras, por su aporte a la prevención de enfermedades crónicas (Rao & Rao, 2007).

Los carotenoides son una familia de compuestos pigmentados que son sintetizados por las plantas y microorganismos. En las plantas, contribuyen a la maquinaria fotosintética, protegiéndolas contra los daños causados por la luz, siendo las frutas y verduras quienes constituyen las principales fuentes de carotenoides en la dieta humana (Agarwal & Rao, 2000; Mangels, Holden, Beecher, Forman, & Lanza, 1993). Están presentes como micro componentes en frutas y vegetales y son responsables de los colores amarillo, naranja y rojo. Se cree que los carotenoides son responsables de las propiedades beneficiosas de las frutas y hortalizas en la prevención de enfermedades humanas, incluyendo las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y otras enfermedades crónicas (Astorg, Gradelet, Bergès, & Suschetet, 1997; Paiva & Russell, 1999).

Más de 600 carotenoides han sido identificados hasta ahora en la naturaleza, sin embargo, sólo alrededor de 40 están presentes en una dieta humana típica. De estos 40, cerca de 20 carotenoides han sido identificados en la sangre y tejidos humanos. Cerca de 90% de los carotenoides de la dieta está representado por β -caroteno, α -caroteno, licopeno, luteína y criptoxantina (Gerster, 1997).

II.1.2.1. Química de los carotenoides y fuentes de la dieta

Todos los carotenoides poseen una estructura poliisoprenoide, una larga cadena conjugada de dobles enlace y una simetría bilateral en torno al doble enlace central, como características químicas comunes (Britton, 1995).

Diferentes carotenoides se derivan esencialmente de modificaciones en la estructura de base por ciclación de los grupos terminales y por la introducción de funciones de oxígeno que les dan sus colores característicos y propiedades antioxidantes. Las estructuras de algunos carotenoides comunes se muestran en la Figura II.1.6.

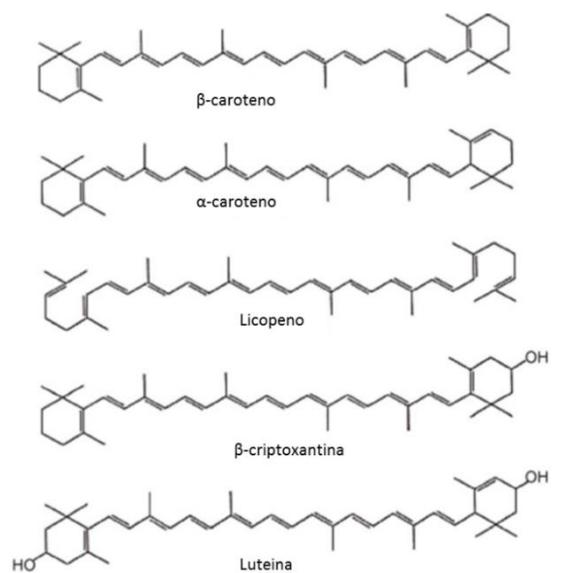


Figura II.1.6. Estructura de algunos de los principales carotenoides de la dieta (Rao & Rao, 2007).

Aunque los carotenoides están presentes en muchos alimentos comunes de la dieta humana, las frutas muy pigmentadas, los jugos y las verduras constituyen las principales fuentes, siendo las frutas y verduras de color amarillo-naranja los que proporcionan la mayor parte de los β -carotenos y α -carotenos. Las frutas y verduras naranjas proveen α -criptoxantina, los vegetales verdes oscuros proveen luteína y productos como el tomate son fuente de cantidades importantes de licopeno (Rao & Rao, 2007).

A pesar del reconocimiento del papel beneficioso de los carotenoides en la salud humana, estos no son considerados como nutrientes esenciales, y como tal no tienen un valor de ingesta dietaria de referencia (IDR) que se les asigne (Rao & Rao, 2007).

II.1.2.2. Metabolismo de los carotenoides

Con excepción del β -caroteno y el licopeno, el mecanismo de absorción de los principales carotenoides no es bien conocido. Hay varios factores que influyen en la absorción de carotenoides. El procesamiento de alimentos y la cocción que causan roturas mecánicas del tejido, liberan los carotenoides y mejoran su absorción (Parker,

1997). Ellos son absorbidos en las células de la mucosa gastrointestinal y aparecen sin cambios en la circulación y el tejido (Erdman, Bierer, & Gugger, 1993).

En el intestino, los carotenoides son absorbidos por difusión pasiva después de haber sido incorporados en las micelas que se forman por grasas y ácidos biliares. Los carotenoides micelares son incorporados en quilomicrones y transportados a través del sistema linfático. A continuación, se incorporan a la lipoproteína en el hígado y se liberan en el torrente sanguíneo. Los carotenoides son absorbidos diferencialmente por diferentes tejidos. Poco se sabe acerca de los mecanismos de absorción en los tejidos de los carotenoides en este momento. El sitio principal de almacenamiento de los carotenoides en los tejidos es el tejido adiposo (Parker, 1988).

El supuesto de que una serie de compuestos sintéticos comúnmente usados como ingredientes de alimentos, pueden tener efectos peligrosos, ha incrementado las investigaciones en el campo de los antioxidantes naturales. Por ejemplo, se pueden citar investigaciones sobre el uso de complejantes naturales de radicales, presentes en el extracto de té verde (Buetler, Renard, Offord, Schneider, & Ruegg, 2002) o sobre el uso de los extractos obtenidos a partir de plantas aromáticas como el romero y la salvia, como aditivos y/o conservantes alimentarios (Karpińska, Borowski, & Danowska-Oziewicz, 2000; Zupkó, Hohmann, Rédei, Falkay, Janicsák, & Máthé, 2001).

Las reacciones de oxidación no son una preocupación exclusiva de la industria alimentaria (Peschel et al., 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 & Elmets, 2001).

Es bien sabido, que durante la industrialización o procesamiento de alimentos y durante las etapas de producción agrícola, se generan cantidades sustanciales de residuos o subproductos ricos en componentes fenólicos, que podrían ser valiosas fuentes de antioxidantes naturales, los cuales pueden ser recuperados y utilizados como

ingredientes para la obtención de nuevos productos, teniendo en cuenta que diversos estudios epidemiológicos han indicado que el consumo de frutas y verduras se asocia con una reducción del riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas, por la presencia de estos compuestos antioxidantes presentes en dichos tejidos. Los compuestos fenólicos son los compuestos bioactivos más importantes que contribuyen a los beneficios para la salud mencionados anteriormente (Yang, Meyers, Van der Heide, & Liu, 2004).

II.1.3. Ácido L-ascórbico

El ácido L-ascórbico o vitamina C, es una vitamina importante para la nutrición humana, ya que es una sustancia esencial que previene enfermedades como el escorbuto, y que desempeña el papel de antioxidante biológico. Debido a que los seres humanos no tienen la capacidad de sintetizar este compuesto, el mismo debe ser suministrado por la dieta. Su estabilidad en los alimentos está relacionada con las condiciones de proceso y de almacenamiento y además con la composición de la matriz. La vitamina C puede degradarse, dependiendo de factores tales como la temperatura, pH, luz, el tiempo, la presencia de enzimas, catalizadores metálicos y oxígeno (Santos & Silva, 2008).

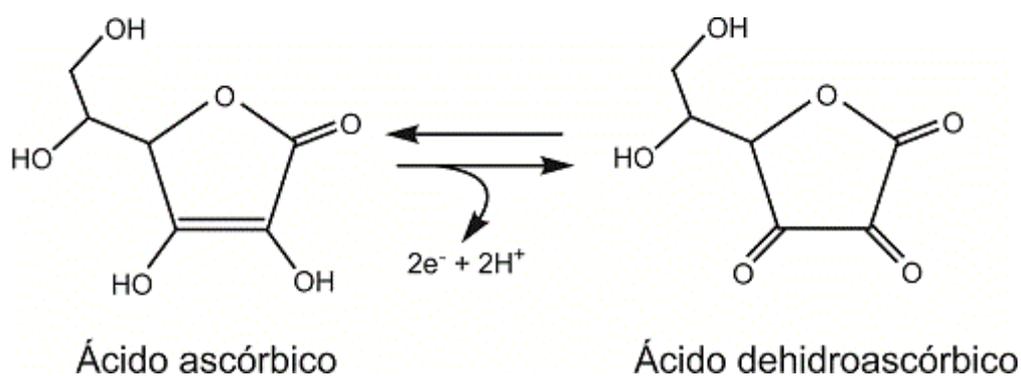


Figura II.1.7. Estructura del ácido L-ascórbico (vitamina C) y reacción de oxidación en la que se convierte en dehidroascórbico. El conjunto ascórbico-dehidroascórbico constituye un *par redox* (Meléndez Hevia, 2011).

Esta vitamina es generalmente considerada como un indicador de la calidad de los nutrientes durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos, ya que es muy sensible y si no está degradada, los otros nutrientes también están bien conservados (Santos & Silva, 2008). Por lo tanto, diversas investigaciones han sido enfocadas a la evaluación de la influencia de mecanismos de secado sobre la retención de ácido ascórbico en diferentes frutas, como por ejemplo en residuos de la acerola (Duzzioni, Lenton, Silva, & Barrozo, 2013), albaricoque (Igual, García-Martínez, Martín-Esparza, & Martínez-Navarrete, 2012), ananá (Ramallo & Mascheroni, 2012; Santos & Silva, 2009), pimiento rojo (Vega Gálvez et al., 2009), pera (Djendoubi Mrad, Boudhrioua, Kechaou, Courtois, & Bonazzi, 2012), tomate (Demiray, Tulek, & Yilmaz, 2013; Vega Gálvez et al., 2009).

II.1.4. Antioxidantes y su asociación con la fibra dietaria durante la digestión

La bioaccesibilidad y la biodisponibilidad de cada antioxidante difiere en gran medida, y los antioxidantes más abundantes en las frutas que se ingieren no son necesariamente los que conducen a las más altas concentraciones de metabolitos activos en los tejidos (Williamson & Manach, 2005). Varios factores interfieren con la biodisponibilidad de los antioxidantes, tales como la fuente del alimento o las interacciones químicas con otros fitoquímicos y biomoléculas presentes en el alimento (Parada & Aguilera, 2007).

Investigaciones relacionadas con la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos y otros antioxidantes a partir de matrices sólidas son de gran importancia, ya que sólo los compuestos liberados de la matriz del alimento y/o absorbidos en el intestino delgado son potencialmente biodisponibles y se encuentran en adecuada condición para ejercer sus efectos benéficos (Tagliacruzchi, Verzelloni, Bertolini, & Conte, 2010).

Los efectos *in vivo* de los antioxidantes dependen no sólo de la concentración en las frutas y verduras, sino también de su bioaccesibilidad y biodisponibilidad después de la

ingesta y muchos estudios se han centrado en este tema de investigación (Parada & Aguilera, 2007; Williamson & Manach, 2005).

Comprender el concepto de biodisponibilidad es esencial para todas las personas involucradas en la producción de alimentos y la evaluación nutricional, así como para determinar la relación entre la dieta y la salud (Manach, Scalbert, Morand, Remesy, & Jimenez, 2004; Williamson & Manach, 2005). La biodisponibilidad se define como la proporción de un antioxidante que se digiere, absorbe, y utiliza en un metabolismo normal (Palafox-Carlos, Ayala-Zavala, & González-Aguilar, 2009). Sin embargo, la medición de la biodisponibilidad depende en gran medida de las estimaciones de cantidades de antioxidantes absorbidos. Por otro lado, bioaccesibilidad es un término usado comúnmente, y se define como la cantidad de un nutriente ingerido que está disponible para la absorción en el intestino después de la digestión (Hedrén, Diaz, & Svanberg, 2002). En estos términos, la biodisponibilidad depende estrictamente de la bioaccesibilidad. El proceso global del metabolismo de los compuestos fenólicos en alimentos pobres en fibra dietaria, se muestra en la Figura II.1.8.

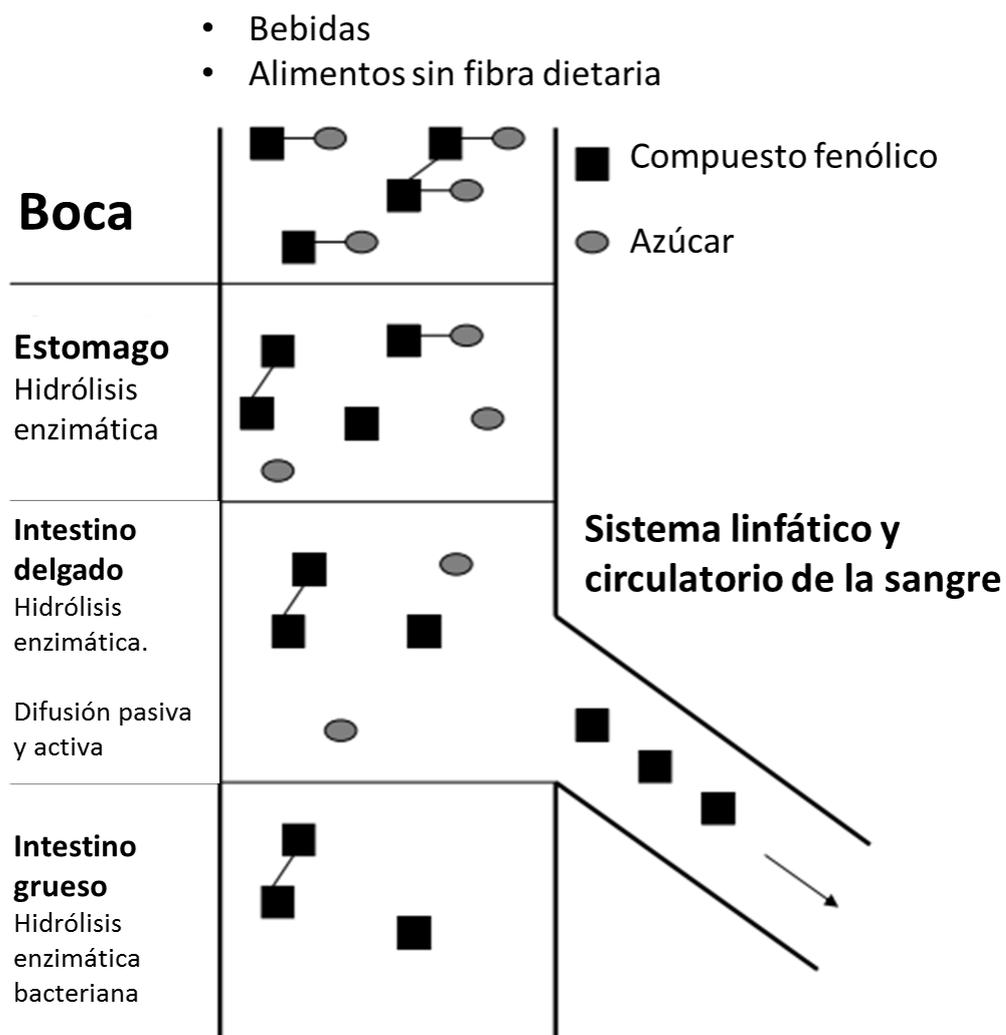


Figura II.1.8. Bioabsorción de compuestos fenólicos contenidos en bebidas o alimentos pobres en fibra dietaria (Palafox-Carlos et al., 2009).

El metabolismo de los compuestos fenólicos de bebidas y alimentos que no contienen fibra dietaria, se inicia prácticamente en el lumen del intestino delgado y las pequeñas modificaciones de la post absorción ocurren en el hígado y otros órganos (Williamson & Manach, 2005). Para los polifenoles, como los flavonoides, la mayoría de estos compuestos son absorbidos en el intestino delgado después del consumo y pueden pasar a través de la pared del intestino hacia el torrente sanguíneo (Palafox-Carlos et al., 2009). Para que la absorción de los flavonoides en el intestino delgado se produzca, primero deben ser removidos los azúcares que están unidos a la cadena del flavonoide

(Pérez Jiménez et al., 2009). Este proceso es controlado por la acción de enzimas producidas en el intestino delgado, lo que resulta en la liberación de la cadena del flavonoide de su azúcar (la aglicona). Otra parte importante de los flavonoides y compuestos relacionados de la ingesta no se absorben en el intestino delgado sino que pasan al intestino grueso donde son degradados por la microflora del colon a ácidos fenólicos simples, que pueden ser absorbidos en el sistema circulatorio o ejercer actividad antioxidante en el entorno del intestino (Del Rio, Costa, Lean, & Crozier, 2010).

Una vez que los azúcares se han removido del esqueleto para la absorción, los flavonoides se metabolizan adicionalmente en el intestino y, posteriormente, en el hígado y los riñones para producir un gran número de moléculas modificadas, conocidas como metabolitos secundarios de flavonoides (Palafox-Carlos et al., 2009).

En el caso de las bebidas tales como el vino, los compuestos fenólicos contenidos en las matrices líquidas son rápidamente bioaccesibles y para ejercer sus efectos beneficiosos sobre el tracto gastrointestinal, pero este no es el caso para los compuestos fenólicos contenidos en matrices sólidas tales como los de frutas y vegetales (Palafox-Carlos et al., 2009).

Un modelo de digestión propuesto para los compuestos fenólicos contenidos en alimentos ricos en fibra dietaria se presenta en la Figura II.1.9.

- Frutos y vegetales
- Alimentos ricos en fibra dietaria

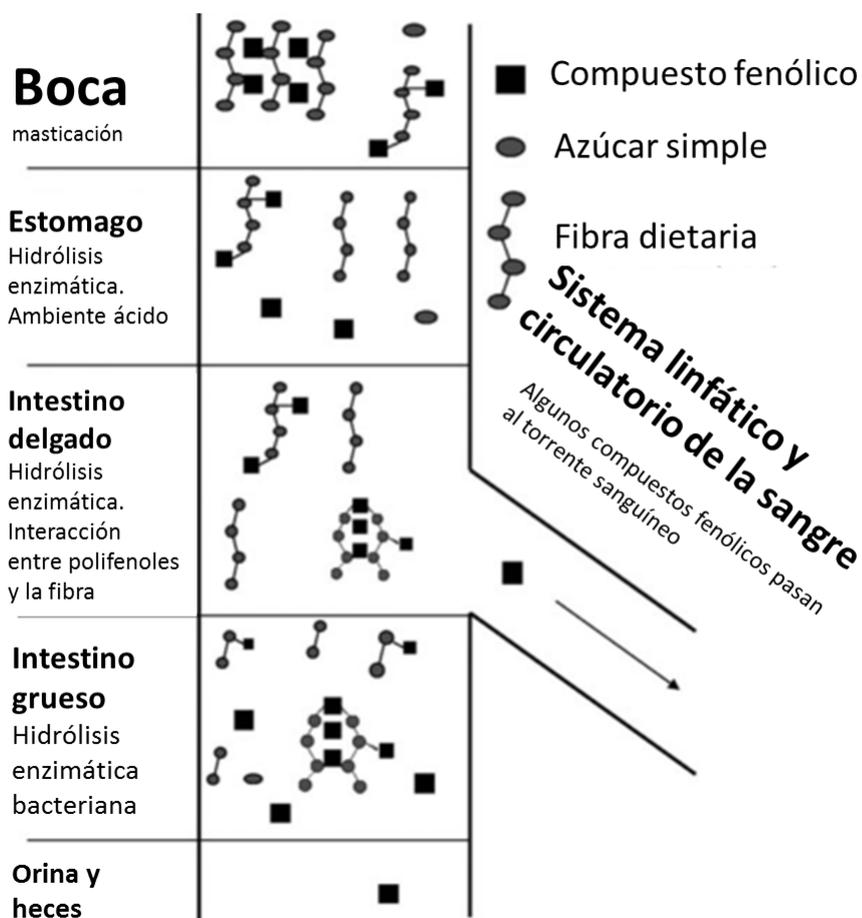


Figura II.1.9. Bioabsorción de compuestos fenólicos contenidos en los alimentos ricos en fibra dietaria como por ejemplo frutas y verduras (Palafox-Carlos et al., 2009).

El tracto gastrointestinal puede ser considerado como un extractor donde tanto la acción mecánica durante la masticación en la boca como la acción química y enzimática durante la fase digestiva en el estómago y el intestino contribuyen a la extracción de compuestos fenólicos a partir de matrices sólidas tales como frutas y verduras. Algunos de los polifenoles unidos a los compuestos de pared celular, se liberan durante la fase digestiva gastro-pancreática como consecuencia de la acción enzimática, el entorno ácido del estómago y del medio ambiente alcalino del intestino (Tagliazucchi et al., 2010).

En este caso, sólo una parte de compuestos fenólicos son capaces de atravesar la pared del intestino delgado. Otros compuestos, asociados con la fibra dietaria que representan una parte importante de la dieta, no son biodisponibles en la parte superior del intestino humano y llegan al colon, donde se convierten en sustratos fermentables para la microflora bacteriana junto con los hidratos de carbono no digeribles y proteínas (Williamson & Manach, 2005).

Los ácidos fenilacético, fenilpropiónico y fenilbutírico, urolitina A y urolitina B, son metabolitos absorbibles de la fermentación de polifenoles en el colon que pueden ejercer efectos sistémicos (Rechner et al., 2004). Los metabolitos no absorbibles y compuestos fenólicos no fermentados, permanecen en el lumen del colon, y pueden contribuir a un ambiente saludable antioxidante complejando radicales libres y contrarrestando los efectos de la dieta pro-oxidante (Goñi & Serrano, 2005). Por otra parte, otros polifenoles pueden ser excretados en las heces fecales (Bravo et al., 1994).

II.2. MATERIALES Y MÉTODOS

II.2.1. Reactivos

Para la preparación de todas las soluciones se utilizó agua desionizada (Milli-QTM). Los reactivos utilizados fueron de grado analítico marca Merck o Anedra (Argentina). Los reactivos utilizados como patrones fueron marca SIGMA (USA).

II.2.2. Determinación de la actividad antioxidante

Los CFD de cáscara y pulpa obtenidos previamente y cuya proceso de obtención, se detalló en el capítulo I, se analizaron en cuanto a su actividad antioxidante, para lo cual se utilizó la metodología que evalúa la capacidad para complejar el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) y la medición del poder antioxidante para reducir hierro (FRAP). Asimismo, se analizaron los posibles compuestos responsables de dicha capacidad antioxidante, determinando el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y ácido ascórbico presentes en ambas fracciones.

Adicionalmente, muestras de tejido fresco de pulpa y cáscara de papaya, se deshidrataron mediante liofilización, posteriormente se realizó una reducción de tamaño y un tamizado de forma análoga a la que se realizó para los CFD. Los polvos liofilizados obtenidos, fueron también analizados en cuanto a su actividad antioxidante y sus resultados se tomaron como una medida aproximada a la del tejido fresco. Además esta información fue útil para comparar con datos bibliográficos.

Para los CFD, los resultados obtenidos se expresaron en la base del peso de cada CFD, mientras que para los productos liofilizados, los resultados se expresaron en la base de peso del polvo liofilizado. En algunos casos, los resultados se convirtieron a la base de tejido fresco (pulpa o cáscara), utilizando los valores del rendimiento (Tabla II.3.1), con el objetivo de comparar los resultados obtenidos con datos reportados en bibliografía y

también para evaluar los efectos del tratamiento con etanol y secado sobre las características antioxidantes, por comparación de los CFD con las muestras liofilizadas.

II.2.2.1. Método del DPPH

Para este ensayo se utilizó una variación del método espectrofotométrico propuesto por Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, (1995), el cual mide la habilidad de los componentes presentes en un material, para complejar el radical DPPH, a través de la disminución de la absorbancia. Para esto, se pesó una cantidad de $\approx 0,2000$ g de muestra y se mezcló con 5 mL de solución de DPPH 6×10^{-5} M, preparada en solución de etanol (96mL/100mL). Se monitoreó el cambio en la absorbancia ($\lambda = 515$ nm) en intervalos de 10 minutos con agitación constante, hasta obtener constancia en los valores de absorbancia. Se construyó una curva de calibración con una solución de antioxidante patrón 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico (Trolox), $8,8 \times 10^{-4}$ M. Finalmente se preparó también un blanco de reactivos y de muestra. Los resultados se expresaron como μmol equivalentes de Trolox /100g of muestra.

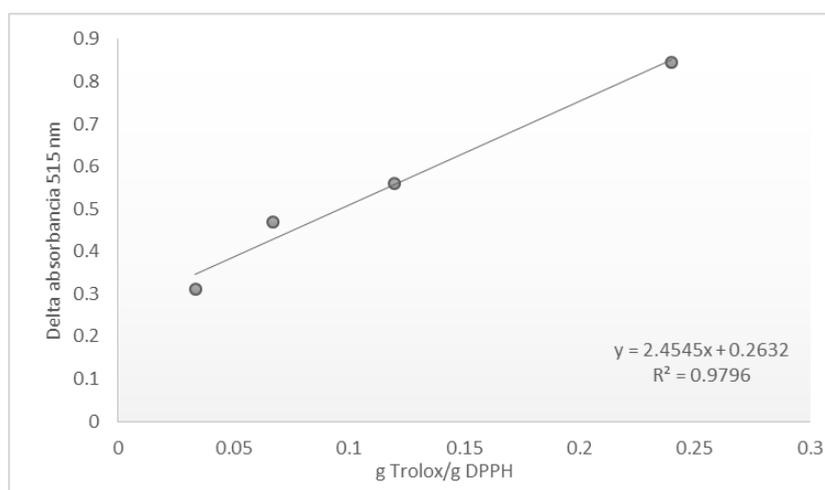


Figura II.2.1. Curva de calibración para referir la capacidad antioxidante (DPPH) en equivalentes de Trolox.

II.2.2.2. Método del FRAP

Para este ensayo se utilizó una modificación del método espectrofotométrico de Benzie & Strain, (1996), el cual mide la capacidad de los compuestos presentes en un material para reducir el hierro. A bajos valores de pH, cuando el complejo ion férrico-tripiridil-triazina (Fe^{III} -TPTZ), es reducido a la forma ferrosa Fe^{II} , se produce un color azul intenso en la solución con una absorción máxima a 593 nm. En este trabajo, se procedió según Basanta, de Escalada Plá, Raffo, Stortz, & Rojas, (2014). Brevemente, una cantidad de muestra 4,5 mg se mezcló con 2mL de agua, posteriormente se adicionó el reactivo FRAP el cual constó de las soluciones de TPTZ (2,4,6-tripiridil-5-triazina) 10mmol/L, de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mmol/L y de buffer acetato 0,3M (pH 3,6). Se monitoreó el cambio en la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm. Se construyó una curva de calibración con solución acuosa de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2 $\mu\text{mol}/\text{mL}$). Se determinó además, la capacidad reductora de un antioxidante patrón, Trolox, en concentración conocida y en iguales condiciones. Finalmente, se realizó también un blanco de reactivos y de muestra. Los resultados se expresaron como μmol equivalentes de Trolox /g de muestra.

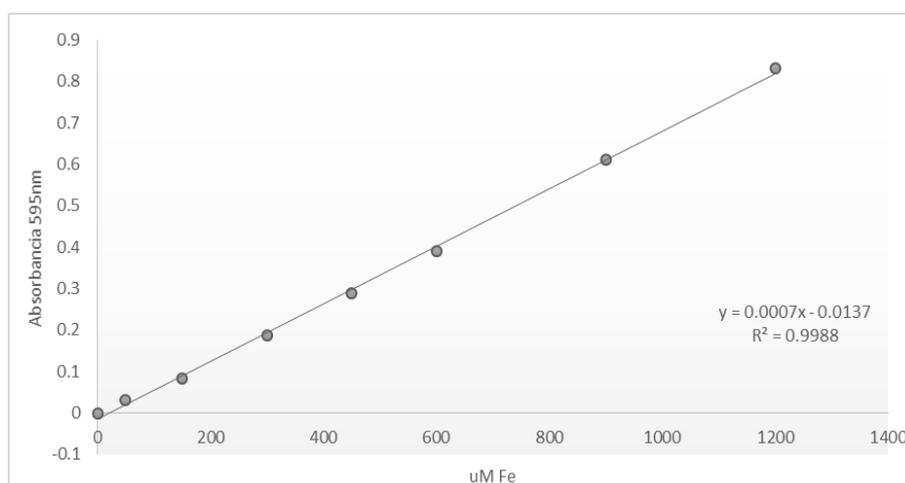


Figura II.2.2. Curva de calibración para la absorbancia en función de la concentración de Fe^{2+} .

II.2.3. Determinación de compuestos fenólicos mediante espectrofotometría

Los compuestos fenólicos encontrados en los CFD de cáscara y pulpa corresponden a los informados en el capítulo I. De esta forma, para la determinación de los compuestos fenólicos en los productos liofilizados, se procedió mediante el método espectrofotométrico detallado en el capítulo anterior para los CFD.

II.2.4. Cromatografía Líquida de Alta Resolución, para la identificación de compuestos fenólicos

II.2.4.1. Extracción de los compuestos fenólicos

La extracción de los compuestos fenólicos, se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Santo Domingo, Soria, Rojas, Fissore, & Gerschenson, (2015). Se pesó una cantidad de $\approx 0,40$ g de CFD y se mezclaron con 4 mL de metanol. La solución se sonicó en un baño con ultrasonido, durante 45 minutos a 25°C. Los extractos se almacenaron durante 48 horas al abrigo de la luz y con agitación constante. Posteriormente, la solución se filtró a través de filtro de 0,45 μm (Millipore, Bedford, MA, USA) y se inyectó en el sistema de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

II.2.4.2. Determinación de compuestos fenólicos

El extracto metanólico, se inyectó manualmente (volumen de inyección: 20 μL) en cromatógrafo Waters 1525 (Milford, Massachusetts), equipado con sistema de bomba binario y con detector de arreglo de diodos (DAD). Se utilizó una columna XBridge C18 de dimensiones 150 mm \times 4,6 mm, 5 μm , manteniendo una temperatura de columna de 40°C durante la corrida. La fase móvil se compuso de ácido acético 0,5 mL/100mL (A) y acetonitrilo (B). El gradiente utilizado fue: 0% B (0 min), 20% B (10 min), 30% B (15 min), 50% B (20 min), 75% B (25 min), 100% B (30 min), 0% B (37 min), manteniendo

posteriormente las condiciones iniciales por 5 minutos. La velocidad de flujo fue de 0,80 mL/min. El rango de detección fue configurado entre 210 y 800 nm.

II.2.4.3. Cromatografía Líquida de Alta Resolución y Espectrometría de masa para la identificación de compuestos fenólicos

La identificación de los compuestos fenólicos presentes en los CFD, se realizó mediante un equipo de cromatografía Agilent 1200 (Agilent Technologies, CA, USA), provisto de una columna Phenomenex Luna, C18 de dimensiones 100 mm × 2,00 mm, 3 µm. La fase móvil utilizada y el gradiente de elución fue el mismo descrito anteriormente para HPLC-DAD. La velocidad de flujo de la fase móvil fue configurada a 0,20 mL/min. El sistema HPLC se acopló a espectrómetro de masa micrOTOF-Q II, Bruker Daltonik GmbH, (Bremen, Alemania), un espectrómetro de masa Q-TOF acelerado ortogonalmente, equipado con una fuente de ionización con electro spray (ESI), que fue usada en el modo de ion negativo, con nitrógeno como gas de colisión.

Los espectros fueron adquiridos en un rango de relación masa a carga (m/z) entre 50 y 1000. Los valores óptimos de los parámetros ESI-MS fueron: voltaje capilar +3,5 kV, temperatura del gas desecado 200 °C, flujo del gas de secado 7,0 L/min, nebulizador 51 psi, y colisión RF 150 Vpp. Los compuestos fenólicos se identificaron por medio de los espectros UV, la relación m/z , la fórmula molecular obtenida y datos bibliográficos.

II.2.5. Determinación de carotenoides mediante método espectrofotométrico

La extracción y determinación de carotenoides se realizó por medio de una adaptación del método propuesto por Biehler, Mayer, Hoffmann, Krause, & Bohn, (2010). Brevemente, 0,3335g de muestra se mezclaron con 0,1665g de carbonato de calcio, 2,5 mL de metanol y 1mL de hidróxido de potasio metanólico 30% (p/v) en un tubo de vidrio para centrífuga. Se agitó la mezcla con ayuda de un vortex y se mantuvo en hielo durante 15 minutos; a continuación, se centrifugó la mezcla 10 minutos a 2500 x g a

20°C. Se separó el sobrenadante y se realizaron dos extracciones sobre el residuo con 4mL de una mezcla hexano:acetona (1:1, v:v); posteriormente, se combinaron los tres extractos orgánicos. En una ampolla de decantación, se agregaron 12mL de una solución saturada de cloruro de sodio y los extractos combinados y se agitó. La fase hexano sobrenadante se separó y la fase acuosa se re-extrajo con 4mL de hexano. Se combinaron las fases y se registró el peso del hexano. Dos mililitros del extracto hexano se evaporaron hasta sequedad en un Rotavap (R-124, Buchi, Switzerland) bajo vacío y a 25°C. Se re-disolvió el residuo en 3,5 mL de acetona y se midió la absorbancia a 450 nm.

Se realizó un análisis espectrofotométrico basado en la propuesta de (Rao & Rao, 2007). Estos autores propusieron tomar en cuenta en el análisis únicamente los carotenos mayoritarios en la dieta y cuerpo humano, es decir el β -caroteno, α -caroteno, licopeno, luteína y criptoxantina, y utilizar el valor de $135310 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, como coeficiente de absorción molar promedio (ϵ_λ) a longitud de onda promedio, según parámetros propuestos por Biehler et al., (2010). Así, el cálculo de la concentración (c) de carotenoides promedio se realizó por medio de la ecuación de Lambert Beer:

$$c(\text{mol} / \text{L}) = \frac{A_{450}}{135310 * d}$$

Donde A_{450} es la absorbancia máxima promedio a 450 nm, d es el paso de la cubeta ($d=1\text{cm}$) y $135310 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ es el coeficiente de absorción molar promedio (ϵ_λ) a longitud de onda promedio. Utilizando la masa molar promedio de 548 g/mol (Biehler et al., 2010) los resultados se expresaron en miligramos por 100 gramos de muestra (mg/100g).

II.2.6. Cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de carotenoides

II.2.6.1. Extracción de carotenoides

Los procedimientos para la extracción de carotenoides, se realizaron de acuerdo a Rodriguez-Amaya & Kimura, (2004). Esta metodología involucra una extracción primaria en acetona y un cambio de fase a éter de petróleo. Brevemente, ≈0,5000 g de CFD se pesaron y se hidrataron con 2 mL de agua durante 30 minutos. Al cabo de este tiempo se adicionaron 5 mL de acetona y después de 15 minutos el solvente se filtró a través de un filtro de 0,45 µm (Millipore, Bedford, MA, USA). Al menos dos extracciones adicionales con 10 mL de acetona fueron necesarias hasta que visualmente todo el color fue removido. Un tercio del extracto se transfirió a un tubo de decantación con 5 mL de éter de petróleo y suavemente se agregaron 50 mL de agua sin agitación. Se descartó el agua y el procedimiento se repitió 3 veces. Luego las muestras se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporaron en un sistema Rotavap. Las muestras secas se re-suspendieron en 2mL de acetona:metanol (50:50) y butilhidroxitolueno, para minimizar el cambio de volumen y para asegurarse de que todos los compuestos sean disueltos. Los viales se cerraron y luego se roció la superficie con N₂ con el fin de evitar la degradación de los carotenoides. Todos los procedimientos se realizaron en condiciones de baja luz y, además, se añadió butilhidroxianisol (0,5%) a los solventes.

II.2.6.2. Cuantificación de carotenoides

Se cuantificaron algunos de los principales carotenoides presentes en los CFD de pulpa y cáscara, mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se utilizó un cromatógrafo Waters 2576 (Milford, Massachusetts), equipado con una columna XBridge C18 (100 mm × 2,1 mm, 3,5 µm) y con detección DAD. La velocidad de flujo fue de 1 mL/min y la temperatura de columna, 25°C. El gradiente de elución se inició con 93% de metanol y 7% de agua, alcanzando un 100% de metanol en 30 minutos y

utilizando una curva de tipo convexo. El tiempo de corrida fue de 60 minutos incluyendo la etapa de re-equilibramiento. La identificación de los carotenoides se realizó a 450 nm. Se realizaron curvas de calibración para luteína, xeaxantina, β -criptoxantina y β -caroteno, con estándares analíticos (Extrasynthese, Lyon Nord, France). El rango de concentraciones utilizado para cada estándar fue 0,03 – 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($R^2=0,989$), 0,06 – 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($R^2=0,999$), 0,2 – 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($R^2=0,984$), 0,4 – 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($R^2=0,987$), respectivamente. El volumen de inyección fue de 20 μL para cada muestra y solución estándar. Para corroborar la reproducibilidad se inyectó aleatoriamente una solución estándar cada día de análisis. Los resultados se expresaron como $\text{mg}/100\text{g}$.

II.2.7. Cuantificación de ácido ascórbico

La extracción del ácido ascórbico se realizó según el método descrito por De'Nobili et al., (2013). Brevemente, una cantidad de $\approx 0,1000\text{g}$ de cada muestra (CFD y liofilizadas) se colocó en un vaso de precipitados con 6 mL de una solución 6% (p/v) de ácido oxálico; la mezcla se mantuvo con agitación (Agitador magnético, Velp, Usmate, Italia) durante 1,5 horas a 5°C para lograr la extracción total del ácido ascórbico. La suspensión fue finalmente centrifugada a $2500 \times g$ y 6°C durante 30 min. Se tomó una alícuota de 100 μL del sobrenadante y la concentración de ácido ascórbico se determinó usando el método espectrofotométrico del 2,6-diclorofenolindofenol. Los resultados se expresaron como gramos de ácido ascórbico por 100g de muestra.

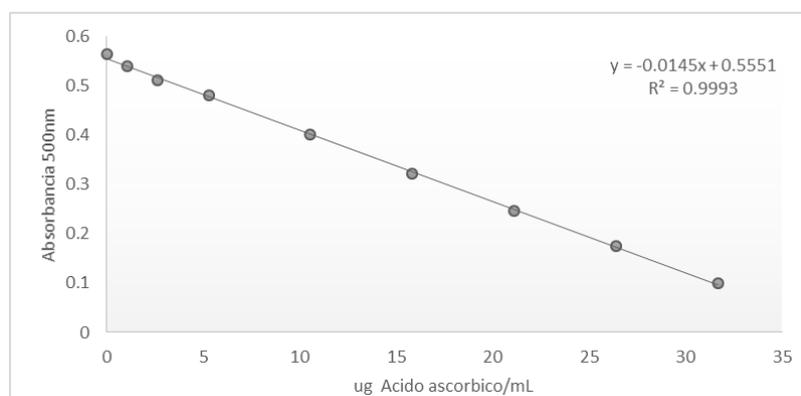


Figura II.2.3. Curva de calibración para la determinación de ácido ascórbico.

II.2.8. Ensayo de digestibilidad *In vitro*

Este ensayo de simulación gastrointestinal, incluyó las etapas de digestión gástrica e intestinal de acuerdo a la metodología propuesta por Saura-Calixto, Serrano, & Goñi, (2007), con algunas modificaciones. Brevemente, $\approx 1,200$ g de cada CFD se mezclaron con 30 mL de solución de pepsina - HCl la cual estuvo compuesta de 0,3g/100mL de pepsina (Merck, 0,7 FIP-U/mg) en HCl 0,04N y se incubaron por 2 h con agitación orbital (Vicking, Buenos Aires, Argentina) a 2 s^{-1} . Posteriormente se ajustó el pH del sistema a 7,5 – 8,0 con solución de NaOH 2N, Finalmente, se adicionaron 40 mL de solución intestinal (0,05M KH_2PO_4), conteniendo 0,6 g/100 mL de sales biliares y 0,3 g/100 mL de pancreatina (Parafarm Argentina) y el sistema se incubó durante 2 horas a 37°C , con agitación orbital a 2 s^{-1} . Las soluciones se centrifugaron (15 min, 3000 x g) y se separó el sobrenadante. La fracción insoluble indigestible se lavó dos veces con 5 mL de agua destilada, y posteriormente se combinaron todos los sobrenadantes. Estas soluciones se transfirieron a tubos de diálisis (12000–14000 de peso molecular de corte) y se dializaron contra agua durante 48 h a 37°C (flujo de agua 7/L h) para eliminar residuos de sales biliares y otros.

La fracción soluble indigestible resultante de la diálisis (retentato), se congeló mientras que la fracción insoluble indigestible se liofilizó y almacenó a -18°C hasta su análisis.

El contenido de compuestos fenólicos, así como la capacidad antioxidante evaluada mediante la técnica del FRAP, se determinaron en las fracciones indigestibles solubles e insolubles, mediante los métodos espectrofotométricos descritos anteriormente.

Los polifenoles accesibles en el intestino delgado se calcularon como la diferencia entre el contenido de polifenoles en la muestra original y los polifenoles asociados a la fracción indigestible (soluble e insoluble) de acuerdo con Saura-Calixto et al., (2007).

II.2.9. Análisis estadístico

Un test t no pareado se realizó para comparar los resultados obtenidos para los CFD de pulpa y cáscara cuando correspondió. Además un ANOVA de una vía con un test a posteriori de Tukey, se realizó para comparar los resultados obtenidos del ensayo de digestibilidad *in vitro*. Para todos los análisis se utilizó el utilitario GraphPad Prism versión 5.00 para Windows, (San Diego, California, USA).

II.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el capítulo I de esta investigación, se informó que el tratamiento de la pulpa y la cáscara de papaya con etanol, seguido de una etapa de deshidratación con microondas, permitía producir concentrados de fibra dietaria (CFD) con propiedades funcionales optimizadas. En este capítulo, la profundización en el estudio de otras de sus propiedades químicas y funcionales dio origen a los resultados que se describen a continuación.

II.3.1. Evaluación de la capacidad antioxidante

La capacidad de algunos materiales para ejercer actividad antioxidante ha sido un tema de interés en la investigación científica, y por tal motivo, ha sido ampliamente estudiado en los últimos años. Muchos investigadores han utilizado las técnicas del DPPH y FRAP para evaluar la capacidad antioxidante en materiales provenientes de frutas y verduras frescas, haciendo énfasis en las diferencias observadas entre sus componentes principales (pulpa, cáscara y semillas) (Martínez et al., 2012; Rufino, Fernandes, Alves, & de Brito, 2009). Por otra parte, la inclusión de ingredientes naturales como la fibra dietaria en el desarrollo de nuevos productos alimenticios, ha demostrado que, además de hacer aportes nutricionales importantes, también puede ejercer un beneficio extra en el alimento contenedor, como por ejemplo ejerciendo un efecto de protección contra la rancidez oxidativa en productos alimenticios con tenor graso (Tseng & Zhao, 2013).

Los resultados obtenidos en esta investigación demostraron que ambos CFD tenían actividad antioxidante evaluada mediante los métodos del DPPH y FRAP (Tabla II.3.1). Además, se observó que la capacidad antioxidante mediante el método del DPPH, del CFD de cáscara era casi cinco veces mayor ($p < 0,05$) que la del CFD de pulpa (54,86 vs 12 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$). Sin embargo, teniendo en cuenta la capacidad antioxidante original, se observa que la capacidad antiradicalaria, se ve bastante disminuida luego

del proceso de obtención de los CFD. Esto se evidencia mejor al transformar los resultados obtenidos con el método del DPPH, tanto de los polvos liofilizados como de los CFD, a la base de peso de tejido fresco (TF) utilizando los rendimientos presentados en la Tabla II.3.1. En este sentido, los polvos liofilizados de cáscara y pulpa presentan una capacidad antioxidante de 96,5 y 45,5 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g TF}$ respectivamente, mientras que los CFD de cáscara y pulpa representa valores de 4,8 y 0,3 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g TF}$. Con lo cual se observa que un 5% de la capacidad antioxidante inicial se preserva en el CFD de cáscara luego del tratamiento aplicado. En el caso del CFD de pulpa, este porcentaje es del de 0,7%.

Así mismo, la capacidad antioxidante del CFD de cáscara evaluada mediante el ensayo del FRAP fue más del doble ($p < 0,05$) que la que se encuentra en el CFD de pulpa (25 vs 10,2 $\mu\text{mol Trolox}/\text{g}$). Es de destacar que ambos CFD preservan mejor la actividad reductora original después de los tratamientos de producción. En este sentido, se observó que la capacidad antioxidante (FRAP) se conserva mejor en los CFD de cáscara que los de pulpa. Contreras-Calderón, Calderón-Jaimes, Guerra-Hernández, & García-Villanova, (2011), encontraron valores para el ensayo FRAP de 3,71 $\mu\text{mol Trolox}/\text{g}$ de tejido fresco, en muestras de papaya de la montaña (*Carica pentagona*). En el presente trabajo, la conversión de los valores de FRAP para los polvos liofilizados de cáscara y pulpa a la base de tejido fresco, corresponden a 5,26 y 1,92 $\mu\text{mol Trolox}/\text{g}$ de tejido fresco (TF), mientras que esta misma conversión de los valores de FRAP para los CFD de cáscara y pulpa, corresponde a valores de 2,2 y 0,26 $\mu\text{mol Trolox}/\text{g TF}$, respectivamente. Los valores encontrados, están en el orden de los encontrados por los autores citados anteriormente y, por otra parte, se observa que el CFD de cáscara preservó un 41% de la capacidad reductora inicial, mientras que el CFD de pulpa preservó un 13%.

Tabla II.3.1. Características antioxidantes de los CFD y de los tejidos frescos liofilizados

| | CFD de pulpa | CFD de cáscara | Polvo de pulpa fresca liofilizada | Polvo de cáscara fresca liofilizada |
|--|--------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| DPPH (umol trolox/100g) ¹ | 12 ± 1 ^a | 54,86 ± 0,08 ^b | 450 ± 5 ^A | 485 ± 4 ^B |
| FRAP (umol trolox/g) ¹ | 10,2 ± 0,6 ^a | 25 ± 1 ^b | 19 ± 1 ^A | 26,4 ± 0,9 ^B |
| Compuestos fenólicos (g/100g) ¹ | 0,47 ± 0,03 ^a | 0,99 ± 0,04 ^b | 0,53 ± 0,01 ^A | 1,18 ± 0,05 ^B |
| Ácido ascórbico (mg/100g) ¹ | 4,7 ± 0,6 ^a | 14 ± 1 ^b | 419 ± 11 ^A | 32 ± 3 ^B |
| Carotenoides totales (mg/100g) ¹ | 5,10 ± 0,03 ^a | 8,1 ± 0,8 ^b | 14,0 ± 0,2 ^A | 12,5 ± 0,1 ^B |
| Rendimiento (g/100g de tejido fresco) ² | 2,56 ± 0,07 ^a | 8,8 ± 0,8 ^b | 10,1 ± 0,1 ^A | 19,9 ± 0,9 ^B |

¹Para los CFD de pulpa y cáscara, los resultados se expresan en la base de peso de cada CFD. Para los tejidos frescos (pulpa y cáscara) liofilizados, los resultados se expresan en la base de cada polvo liofilizado obtenido.

²Tejido fresco significa pulpa o cáscara fresca.

Diferente letra minúscula en una misma fila significa que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los CFD.

Diferente letra mayúscula en una misma fila significa que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los polvos.

II.3.2. Análisis espectrofotométrico para la determinación de compuestos antioxidantes

II.3.2.1. Compuestos fenólicos

En el capítulo I, se reportó que el contenido de compuestos fenólicos encontrados en el CFD de cáscara era el doble ($p < 0,05$) que el encontrado en el CFD de pulpa (0,99 vs 0,47 g/100 g). Asimismo, los compuestos fenólicos determinados en las muestras liofilizadas, de cáscara y pulpa respectivamente, presentaron la misma tendencia (1,18 vs 0,53 g/100g), tal y como se aprecia en la Tabla II.3.1. Analizando el efecto del procesamiento (transformando a base de TF) sobre el contenido de compuestos fenólicos, se encontró que alrededor del 22% y más del 37% de polifenoles que se encuentran en las muestras frescas de la pulpa y cáscara de papaya, respectivamente, se mantuvieron unidos a los CFD correspondientes.

Los posibles tipos de interacciones químicas entre los compuestos fenólicos y la fibra dietaria, incluyen enlaces no covalentes entre grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos y grupos polares de las moléculas de los polisacáridos (enlaces de hidrógeno,

interacciones electrostáticas y dipolares y atracciones de Van der Waals) (Palafox-Carlos et al., 2009).

II.3.2.2. Carotenoides

Se encontró que las muestras liofilizadas de pulpa y la cáscara (Tabla II.3.1) tenían un contenido de carotenoides de 14,0 y 12,5 mg/100g, respectivamente. La conversión de estos valores a base de peso de TF corresponde a valores de 1,4 y 2,48 mg/100g TF. En investigaciones realizadas por Gayosso-García Sancho, Yahia, & González-Aguilar, (2011) se estudió el contenido de carotenoides en papayas cosechadas en diferentes etapas de maduración, encontrando valores entre 0,92 y 3,27 mg/100g TF, con una mayor concentración de carotenoides en las etapas avanzadas de la maduración. En este sentido, los valores encontrados en esta investigación están en el orden de los reportados en el trabajo citado anteriormente. Por otra parte, se encontró un contenido de carotenoides en los CFD de pulpa y cáscara de 5,10 y 8,1 mg/100g respectivamente (Tabla II.3.1). Estos datos transformados a la base de TF corresponden a valores de 0,13 y 0,71 mg/100g TF de pulpa y cáscara respectivamente. Esto nos indica que alrededor del 29% de los carotenos iniciales de la cáscara permanecieron en los CFD luego del procesamiento, mientras que los CFD de la pulpa mantuvieron alrededor del 9% de ellos. Es evidente que el contenido de carotenoides se ve afectado por el procesamiento, ya sea por el tratamiento con etanol o por el calentamiento durante la deshidratación. Algunos investigadores han informado degradación de carotenoides por tratamientos térmicos. de Ancos, Cano, Hernandez, & Monreal, (1999) reportaron pérdidas de alrededor del 57% en el contenido de carotenoides totales en puré de papaya, debido al calentamiento durante 45 segundos con microondas a una potencia de 475 W. Por otra parte, se ha reportado que compuestos como el β -caroteno y luteína tienen valores de solubilidad relativa en etanol de 300 mg/L (Craft & Soares, 1992), con lo cual gran parte de ellos también se pudieron perder durante el tratamiento con etanol.

II.3.2.3. Ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico, también se determinó tanto en las muestras liofilizadas como en los CFD. Se encontró un contenido de ácido ascórbico en la pulpa liofilizada de 419 mg/100g (Tabla II.3.1). En los trabajos realizados por Wall, (2006) se reportaron valores para ácido ascórbico entre 45,3 y 55,6 mg/100 g TF, en pulpa de papaya cultivada en diferentes ubicaciones de Hawái. Asimismo, Valente, Albuquerque, Sanches-Silva, & Costa, (2011), encontraron valores de ácido ascórbico de 64,2 y 77,1 mg/ 100g, en la parte comestible de frutos de papaya variedad Formosa y Sunrise. Es importante señalar que el ácido ascórbico es una vitamina soluble en agua, presente en frutas exóticas como la papaya, y su contenido en gran parte depende de la variedad de fruta y el grado de madurez. En la presente investigación, la conversión del dato de ácido ascórbico del polvo liofilizado a la base del peso de pulpa fresca, corresponde a 42 mg/100 g TF, el cual, está en el orden de los datos citados anteriormente por la literatura. Por otra parte el ácido ascórbico encontrado en la cáscara liofilizada fue de 32 mg/100g o en base al peso del tejido fresco, 6,4 mg/100g TF.

Aunque los procesos de extracción y secado produjeron una notable pérdida de ácido ascórbico en los CFD con respecto a las muestras liofilizadas, el CFD de cáscara mostró un mayor contenido de ácido ascórbico ($p < 0,05$) que el CFD de pulpa (14 vs 4,7 mg/100 g). La conversión de estos valores a base de TF corresponde a valores de 1,2 y 0,1 mg/100 g TF, en CFD de cáscara y pulpa respectivamente. Se puede concluir que el contenido de ácido ascórbico en la pulpa (42,3 mg/100 g TF) se perdió casi por completo debido al proceso de producción del CFD, sin embargo en el CFD de cáscara, se conservó alrededor de un 19% del ácido ascórbico presente en la muestra original, mientras que en el CFD de pulpa solo un 3% fue detectado. Posiblemente, un entorno más reductor mostrado por las muestras de cáscara (Tabla II.3.1) podría haber ejercido un efecto protector contra la pérdida del ácido ascórbico.

II.3.3. Identificación de compuestos fenólicos

La introducción de los compuestos fenólicos en la dieta humana se ha asociado con beneficios para la salud tales como la reducción del riesgo de diferentes enfermedades crónicas (Liu, 2004), la protección contra la proliferación de células cancerosas, la reducción de la vascularización, la protección de las neuronas contra el estrés oxidativo, la estimulación de la vasodilatación y el aumento de la secreción de insulina (Palafox-Carlos et al., 2009).

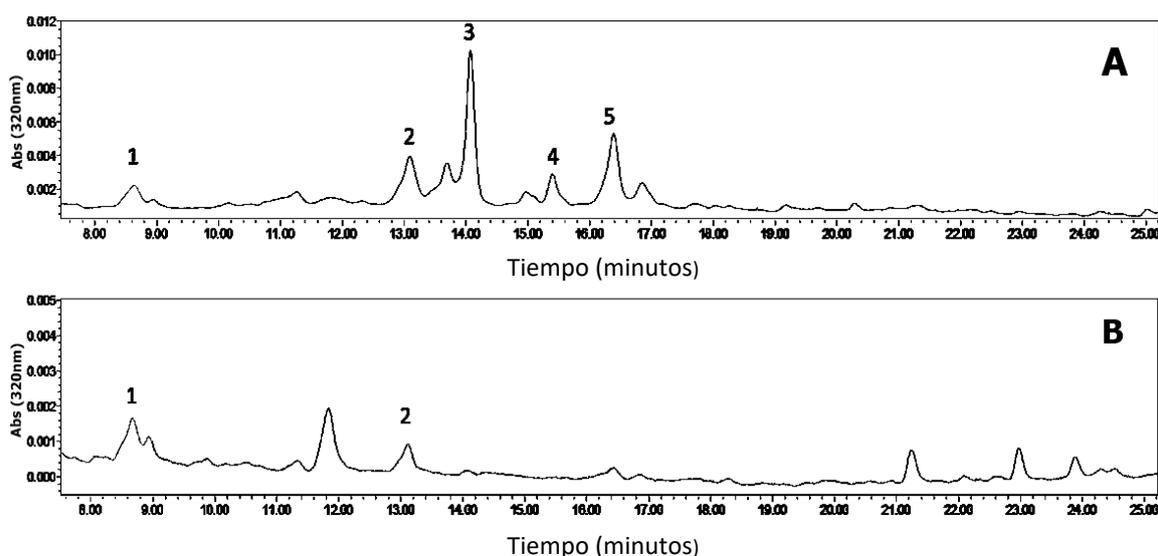
Los picos correspondientes a los compuestos fenólicos detectados a una longitud de onda de 320 nm para los CFD de pulpa y cáscara se muestran en la Figura II.3.1. El resumen del análisis para los picos identificados mediante HPLC-MS se muestra en la Tabla II.3.2. El pico 1, se identificó en ambos CFD (cáscara y pulpa). De acuerdo con su relación masa/carga (m/z) de 315,07, correspondiente a su ion desprotonado, y la fórmula molecular propuesta para este compuesto, $C_{13}H_{15}O_9$, se identificó como hexósido de ácido protocatecuico. De acuerdo a la clasificación de los fitoquímicos presentada en la Figura II.1.1, este compuesto corresponde a un ácido fenólico derivado del ácido hidroxibenzoico. Este ácido fenólico, también fue reportado por Rivera-Pastrana, Yahia, & González-Aguilar, (2010) en muestras procedentes del exocarpio y mesocarpio de papayas variedad Maradol y también en hojas de papaya, de acuerdo con los estudios realizados por Canini, Alesiani, D'Arcangelo, & Tagliatesta, (2007).

Se encontraron dos picos (2 y 3), derivados de la quercetina, los cuales pertenecen a la familia de los flavonoides (Figura II.1.1). El compuesto correspondiente al pico 2 se identificó como manghaslina con un valor de m/z de 755,20 y fórmula molecular $C_{33}H_{39}O_{20}$; este compuesto fenólico estuvo presente en ambos CFD. Manghaslina es un compuesto que también fue identificado en extractos de papaya en metanol en los estudios realizados por Brasil et al., (2014). Así mismo, este compuesto también fue identificado en muestras de papaya de la montaña (*Vasconcellea pubescens*) en los estudios realizados por Simirgiotis, Caligari, & Schmeda-Hirschmann, (2009).

Tabla II.3.2. Compuestos fenólicos encontrados en los CFD de pulpa y cáscara de papaya mediante HPLC-MS.

| Pico numero | Formula Molecular | Tiempo de retención | m/z experimental | Compuesto identificado |
|-------------|---|---------------------|------------------|----------------------------------|
| 1 | C ₁₃ H ₁₅ O ₉ | 8,6 | 315,07173 | Hexósido de ácido protocatecuico |
| 2 | C ₃₃ H ₃₉ O ₂₀ | 13,1 | 755,20405 | Manghaslina |
| 3 | C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆ | 14,1 | 609,14730 | Quercetina- 3-O-rutinósido |
| 4 | C ₁₅ H ₁₇ O ₉ | 15,4 | 341,09009 | Cafeoil-hexósido |
| 5 | C ₁₀ H ₉ O ₄ | 16,4 | 193,05098 | Ácido ferúlico |

El pico 3 corresponde a un compuesto con un valor de m/z de 609,14 y con fórmula molecular C₂₇H₂₉O₁₆, que se identificó como quercetina-3-O-rutinósido y sólo se encontró en el CFD de la cáscara. En los estudios llevados a cabo por Rivera-Pastrana et al., (2010) también se identificó este compuesto solo en el exocarpio de papaya variedad Maradol.

**Figura II.3.1.** Compuestos fenólicos identificados en los CFD de cáscara (A) y pulpa (B)

En los picos 4 y 5 se identificaron ácidos fenólicos derivados del ácido hidroxicinámico (Figura II.1.1). El pico 4, un compuesto con m/z de 341,09 y fórmula molecular C₁₅H₁₇O₉ fue identificado tentativamente como cafeoil hexósido y sólo se encontró en el CFD de

cáscara. Este compuesto también fue identificado por Sulaiman, George, & Balachandran, (2013), en frutas como *Garcinia gummi-gutta* y *Terminalia chebula*.

El pico 5, sólo se detectó en el CFD de la cáscara. Este compuesto presentó un valor de m/z de 193,05 y una fórmula molecular $C_{10}H_9O_4$, por lo cual se identificó como ácido ferúlico. Este compuesto también ha sido identificado en el tejido fresco de cáscara de papaya en los estudios realizados por Gayosso-García Sancho et al., (2011) y por Rivera-Pastrana et al., (2010).

Estudios realizados en otros tejidos de frutas han demostrado que los compuestos derivados del ácido hidroxicinámico son generalmente más abundantes que los del ácido hidroxibenzoico, y que, además, la cáscara de las frutas normalmente tiene una mayor concentración de compuestos fenólicos que la pulpa (Castillo Muñoz, Fernández González, Gómez Alonso, García Romero, & Hermosín Gutiérrez, 2009).

II.3.4. Identificación y cuantificación de carotenoides

Los carotenoides son pigmentos naturales que se encuentran en frutas y verduras y son responsables de sus colores característicos (Perera & Yen, 2007). Estudios recientes mostraron que las dietas altas en β -caroteno y α -caroteno se asocian con una reducción de la incidencia de la diabetes tipo 2 en los hombres y las mujeres (Sluijs et al., 2015). Mediante un análisis por HPLC, se cuantificaron algunos de los principales carotenoides (Figura II.3.2) presentes en los CFD (Tabla II.3.3).

Tabla II.3.3. Carotenoides identificados y cuantificados mediante HPLC en los CFD de pulpa y cáscara

| | CFD de pulpa | CFD de cáscara | Tiempo de retención (min) |
|--|--------------|----------------|---------------------------|
| Luteína (mg/100g) ¹ | ND | 0,54 ± 0,04 | 17 |
| Zeaxantina (mg/100g) ¹ | ND | 0,11 ± 0,01 | 19 |
| β-criptoxantina (mg/100g) ¹ | 1,0 ± 0,1 | 2,0 ± 0,1 | 29 |
| β-caroteno (mg/100g) ¹ | 1,33 ± 0,05 | 1,5 ± 0,2 | 38 |

¹Para los CFD de pulpa y cáscara los resultados se expresan en la base de peso de cada CFD. ND, significa que el compuesto no fue detectado.

En el CFD de pulpa, se encontraron cantidades de 1,0 y 1,33 mg/100g de β-criptoxantina y β-caroteno, respectivamente, o 0,026 y 0,034 mg/100g TF convertidos respectivamente a base de peso de tejido fresco. Además en el CFD de cáscara se encontraron 0,54 y 0,11 mg/100 g de luteína y zeaxantina, respectivamente o 0,047 y 0,0097 mg/100g TF, respectivamente. Además, se encontró en el CFD de cáscara un contenido de 2,0 y 1,5 mg/100g o 0,176 y 0,132 mg/100 g TF de β-criptoxantina y β-caroteno, respectivamente. Otros picos del cromatograma que también aparecen (Figura II.3.2) y que no fueron cuantificados, podrían corresponder a compuestos como el licopeno, β-criptoxantina éster I o β-criptoxantina éster II, los cuales también han sido detectados y reportados en bibliografía, como por ejemplo en los trabajos de Wall, (2006), donde se cuantificaron los carotenoides presentes en papayas producidas en diferentes cultivares de Hawái, reportando valores para β-caroteno entre 0,08 y 0,410 mg/100g TF, entre 0,2884 y 1,0344 mg/100g TF para β-criptoxantina y valores entre 0,0933 - 0,3176 mg/100 g TF para la luteína, los cuales son del orden de los valores reportados en este trabajo.

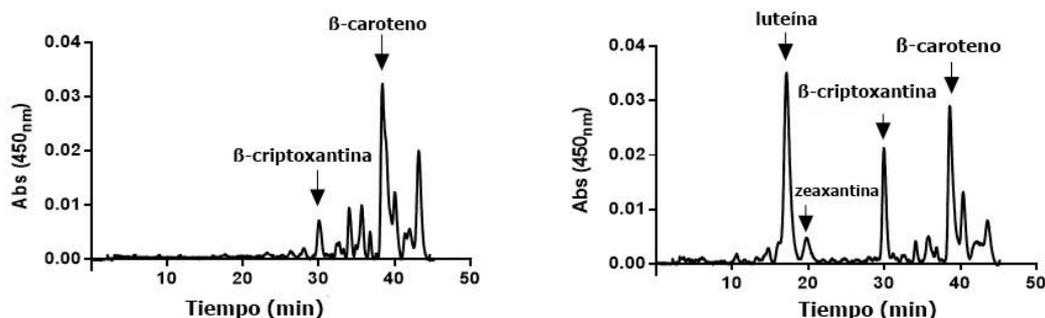


Figura II.3.2. Carotenoides presentes en los CFD de pulpa y cáscara, respectivamente.

De acuerdo con los análisis realizados en los CFD de pulpa y cáscara de papaya, la actividad antioxidante demostrada por estos dos productos, en gran parte podría explicarse por la presencia de compuestos reconocidos por su actividad antioxidante tales como el ácido ascórbico, los carotenoides y los compuestos fenólicos, los cuales pueden hacer su contribución en diferentes grados, dependiendo del tipo de muestra (pulpa o cáscara). De acuerdo con Gardner et al., (2000), los compuestos fenólicos son los principales antioxidantes de la dieta y también aportan una mayor capacidad antioxidante *in vitro* que las vitaminas.

De acuerdo con los resultados observados anteriormente, las siguientes tendencias se pueden destacar:

- i) La actividad antioxidante del CFD de cáscara, evaluada mediante los métodos del DPPH y FRAP, fue siempre mayor ($p < 0,05$) que la del CFD de la pulpa.
- ii) Asimismo, los compuestos fenólicos, el ácido ascórbico y los carotenoides siempre fueron mayores en los CFD de cáscara ($p < 0,05$) que en los CFD de pulpa.
- iii) La ocurrencia de diferentes compuestos fenólicos y carotenoides fue diversa de acuerdo con el tejido utilizado para la producción de los CFD.

- iv) A pesar de que la pulpa liofilizada demostró valores más altos para el contenido de ácido ascórbico, la pérdida debida al proceso de producción fue mayor en el CFD de pulpa.

II.3.5. Digestibilidad *in vitro* de los concentrados de fibra dietaria y bioaccesibilidad de los polifenoles en el intestino delgado

Se realizaron procedimientos para liberar los compuestos fenólicos de la matriz de fibra dietaria mediante un ensayo de digestión *in vitro*. A continuación, se determinó la cantidad de compuestos fenólicos potencialmente bioaccesibles en el intestino delgado.

Los resultados obtenidos para este ensayo se muestran en la Tabla II.3.4. Se observó que en los CFD de pulpa y cáscara alrededor de 0,31 y 0,63 g/100g de compuestos fenólicos atravesaron la membrana de diálisis, lo cual corresponde a un 66 y 64%, respectivamente, de los polifenoles presentes en la muestra original (Figura II.3.3).

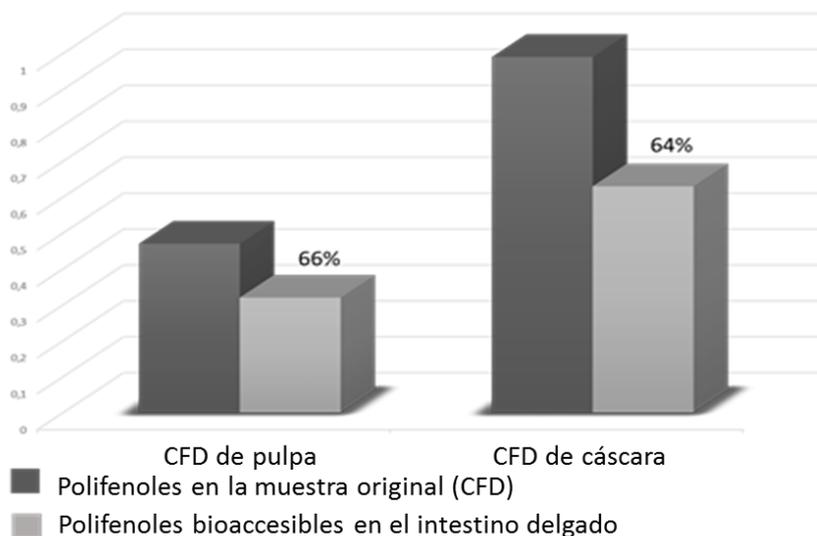


Figura II.3.3. Polifenoles bioaccesibles en el intestino delgado y en la muestra original

Esta cantidad de compuestos fenólicos, son considerados como potencialmente bioaccesibles en el intestino delgado. En investigaciones realizadas por Saura-Calixto et al., (2007), se estudiaron los polifenoles potencialmente bioaccesibles en el intestino

delgado a partir de frutos consumidos en la dieta típica de España, encontrando que, en promedio, 1,157 g/100 g (base seca) de los polifenoles de estos frutos son bioaccesibles en el intestino delgado y que, además, estos polifenoles bioaccesibles son potencialmente susceptibles a la absorción a través de la barrera intestinal.

El ensayo de digestión *in vitro* también demostró que por cada 100 g de CFD de pulpa y cáscara digeridas, aproximadamente 0,112 g y 0,209 g de polifenoles permanecen asociados a las respectivas fracciones solubles indigestibles, mientras que 0,049 g y 0,155 g de polifenoles permanecen asociados a las respectivas fracciones insolubles indigestibles (Tabla II.3.4). Es evidente que, una cantidad significativa de polifenoles se mantuvo en las fracciones indigestibles (soluble e insoluble), los cuales alcanzarían el intestino grueso, en donde otra cantidad de compuestos fenólicos podrían ser liberados mediante procesos de fermentación, realizados por la flora bacteriana del medio y, posteriormente, ejercer una actividad antioxidante en el ambiente (Palafox-Carlos et al., 2009).

Tabla II.3.4. Análisis de digestibilidad *in vitro* y de bioaccesibilidad de compuestos fenólicos en el intestino delgado de CFD de pulpa y cáscara de papaya.

| | | Compuestos fenólicos (g/100g CFD) | FRAP (μ mol trolox/g CFD) |
|---|----------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| Fracción soluble indigestible | CFD de pulpa | 0,112 \pm 0,004 ^a | 1,54 \pm 0,07 ^a |
| | CFD de cáscara | 0,209 \pm 0,006 ^b | 4,10 \pm 0,08 ^b |
| Fracción insoluble indigestible | CFD de pulpa | 0,049 \pm 0,002 ^c | 0,17 \pm 0,01 ^c |
| | CFD de cáscara | 0,155 \pm 0,004 ^d | 0,77 \pm 0,02 ^d |
| Polifenoles bioaccesibles en el intestino delgado | CFD de pulpa | 0,31* | |
| | CFD de cáscara | 0,63* | |

*Compuestos fenólicos contenidos en los CFD (Tabla II.3.1), menos los compuestos asociados a la fracción indigestible (soluble más insoluble).

Letras diferentes en una misma columna, significa diferencias significativas ($p < 0,05$).

Finalmente, luego de los procesos de digestión *in vitro* de los CFD de pulpa y cáscara, la capacidad antioxidante de las fracciones indigestibles soluble e insoluble fue determinada. La capacidad antioxidante evaluada mediante la técnica del FRAP (Tabla II.3.4) de las fracciones indigestibles de cáscara fue 4,10 (soluble) y 0,77 (insoluble)

$\mu\text{mol Trolox/g}$, las cuales fueron mayores ($p < 0,05$) que las encontradas en las fracciones indigestibles de pulpa 1,54 (soluble) y 0,17 (insoluble) $\mu\text{mol Trolox/g}$, coincidiendo con las tendencias observadas para los CFD y para las muestras liofilizadas de pulpa y cáscara discutidas anteriormente.

II.4. CONCLUSIONES

- Los CFD mostraron capacidad antioxidante, evaluada mediante las técnicas de FRAP y DPPH.
- El análisis de los CFD, demostró la presencia de ácido ascórbico y cantidades interesantes de fitoquímicos tales como compuestos fenólicos, de los cuales se identificaron a los compuestos hexósido de ácido protocatecuico, manghaslina, quercetina-3-O-rutinósido, cafeoil hexósido y ácido ferúlico. Adicionalmente, se identificaron y cuantificaron los carotenoides luteína, zeaxantina, β -criptoxantina y β -caroteno.
- La mayor cantidad de compuestos fenólicos, carotenoides y ácido ascórbico se detectaron en los CFD provenientes de la cáscara. Además, en esta fracción se identificaron compuestos fenólicos y carotenoides que no estuvieron presentes en las muestras de pulpa, lo cual podría explicar la mayor capacidad antioxidante observada en las muestras liofilizadas de cáscara y los CFD de cáscara.
- Las fracciones indigestibles obtenidas (soluble e insoluble) luego del ensayo de digestibilidad *in vitro* fueron analizadas en cuanto a su capacidad antioxidante mediante la técnica del FRAP y en cuanto al contenido de polifenoles, observándose mayor potencia antioxidante y contenido de polifenoles para las provenientes de la cáscara.
- Los CFD producidos en este trabajo, se pueden considerar como un material de múltiples beneficios, dentro de los cuales se pueden mencionar los beneficios ya conocidos de la fibra dietaria para el cuerpo y, además, su capacidad para actuar como un ingrediente funcional en aplicaciones específicas de la industria alimentaria. La presencia de compuestos fenólicos, carotenoides y ácido ascórbico en las fracciones obtenidas puede proporcionar una funcionalidad adicional para los

CFD, por ejemplo, ayudando a prevenir la oxidación de lípidos en alimentos con alto contenido de grasa o también para satisfacer la demanda del mercado alimenticio en relación al desarrollo de alimentos con capacidad de protección de la salud.

CAPÍTULO III

**CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y
FUNCIONALES DE LOS
CONCENTRADOS DE FIBRA
DIETARIA OBTENIDOS A PARTIR DE
PULPA Y CÁSCARA DE PAPAYA.
COMPARACIÓN DE DOS
METODOLOGÍAS DE
DESHIDRATACIÓN.**

RESUMEN DEL CAPÍTULO III

Tejido fresco de pulpa y cáscara de papaya fue sometido a un tratamiento con etanol y posteriormente fue deshidratado para producir CFD de pulpa y de cáscara, respectivamente. Se estudiaron dos alternativas de secado: por convección con aire caliente y deshidratación asistida por microondas. Se estudiaron las características químicas, físicas y funcionales de los productos obtenidos y se compararon los resultados. Los productos obtenidos mostraron estar constituidos principalmente por polímeros de la pared celular tales como celulosa, lignina, proteínas y carbohidratos no celulósicos. El secado con microondas presentó diferentes ventajas respecto al secado con aire caliente ya que además de deshidratar en un tiempo mucho menor los CFD, los mismos presentaron mejores propiedades de hidratación tales como SC y WHC. Por otra parte, los productos deshidratados por convección con aire caliente mostraron mejores propiedades antioxidantes que los deshidratados con microondas.

OBJETIVOS DEL CAPÍTULO III

- Producir CFD a partir de pulpa y cáscara de papaya, mediante el tratamiento etanólico optimizado en el capítulo I y utilizando un método de deshidratación por convección con aire caliente a la temperatura optimizada.
- Realizar la caracterización de los CFD obtenidos en cuanto a las propiedades de hidratación, de absorción de aceite, color, y la fracción soluble en agua.
- Caracterizar químicamente los CFD, tanto los obtenidos por secado por microondas como los producidos usando convección con aire caliente, en cuanto al contenido de compuestos de pared celular, tales como celulosa, hidratos de carbono no celulósicos, lignina y proteína, determinando además, el grado de metilación y acetilación de las pectinas encontradas.
- Comparar la composición química, la estabilidad termoquímica, las propiedades físicas y funcionales de los CFD deshidratados mediante los dos mecanismos de secado (microondas y convección con aire caliente).

III.1. INTRODUCCIÓN

III.1.1. Composición y función de las paredes celulares y fuentes alimentarias

Gran parte de lo que llamamos fibra dietaria constituye las paredes primarias de las células vegetales (Englyst, Liu, & Englyst, 2007; Ha, Jarvis, & Mann, 2000). Las paredes celulares son materiales poco convencionales. Sus estructuras, funciones y propiedades muestran una amplia y compleja variación biológica (Knox, 2008; Moller et al., 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 et al., 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, Jarvis, & Brett, 2000).
- * Expandir, bajo presión de turgor, a velocidad controlada, y precisa que 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 resistente (Niklas, 2004; Somerville et al., 2004).

Por otra parte, 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 sus funciones están involucradas con el almacenamiento de energía. La abundancia de un determinado polisacárido de pared celular las identifica, variando de una especie a otra (Buckeridge,

Pessoa dos Santos, & Tiné, 2000; Crombie, Chengappa, Hellyer, & Reid, 1998; Crombie, Chengappa, Jarman, Sidebottom, & Reid, 2002; Edwards et al., 1999).

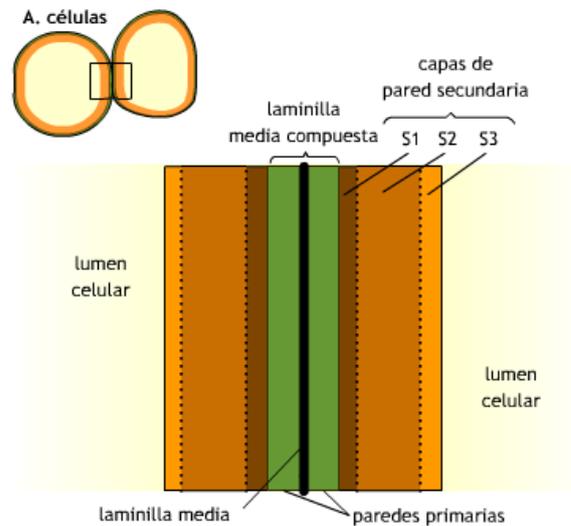


Figura III.1.1 Esquema de la disposición de las paredes celulares. Adaptada de (Moore, Clark, & Vodopich, 1996).

III.1.2. Componentes de la fibra dietaria

III.1.2.1. Celulosa

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



Figura III.1.2 Esquema de la composición química de la celulosa y de la estructura de la pared. Adaptada de (Moore et al., 1996)

Estos polisacáridos comprenden hasta 10000 unidades de glucosa estrechamente empaquetadas, dispuestas linealmente, lo que la hace muy insoluble y resistente a la digestión por las enzimas humanas. Es uno de los principales componentes de las paredes celulares de la mayoría de las plantas. Corresponde, aproximadamente, al 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.

III.1.2.2. Hemicelulosa

La hemicelulosa está compuesta por polisacáridos que contienen otros azúcares distintos de la glucosa. Están 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 hemicelulosa de la dieta son los cereales.

Los componentes de las hemicelulosas de la pared celular primaria, en la mayoría de las plantas, son xiloglucanos y glucomananos (Moller et al., 2007) sin embargo arabinoxilanos y glucanos mixtos de enlaces β , están presentes en los cereales (Cui & Wang, 2009) y en 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, 2011).

III.1.2.3. Pectinas

Las pectinas son polisacáridos compuestos por ácido galacturónico y una variedad de azúcares solubles en agua caliente, los cuales forman geles al enfriar. Se encuentra, en las paredes celulares y tejido intercelular 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 también son fuentes de pectina.

Los polisacáridos del grupo péctico tienen como característica distintiva, que son cadenas de galacturonano con enlaces $\alpha(1,4)$, parcialmente metil esterificados (Jarvis, 2011). 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 $\alpha(1\rightarrow5)/(1\rightarrow3)$, y galactanos mediante enlaces $\beta(1\rightarrow4)$ (Popper, 2008; Willats, Knox, & Mikkelsen, 2006). Otro tipo de cadena péctica menos abundante es el ramnogalacturonano II, que contiene azúcares poco comunes como la apiosa y la metilfucosa. (Nakamura, Furuta, Maeda, Takao, & Nagamatsu, 2002; O'Neill, Ishii, Albersheim, & Darvill, 2004; Willats et al., 2006). En la Figura III.1.3 se observa una representación de la estructura de la pared celular,

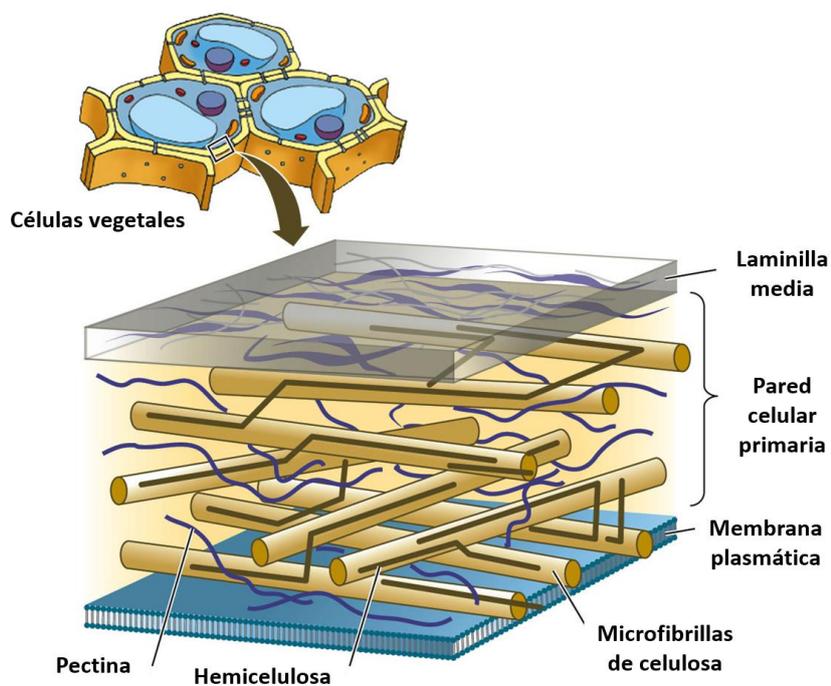


Figura III.1.3. Representación de la estructura de la pared celular adaptada de (Biology-forums, 2012).

III.1.2.4. β -glucanos

Los β -glucanos, son polímeros de glucosa que, a diferencia de la celulosa, tienen una estructura ramificada que les permite formar soluciones viscosas. Son los componentes principales del material de la pared celular en la avena y la cebada; en el trigo sólo están presentes en pequeñas cantidades.

III.1.2.5. Almidón resistente

El almidón resistente, se encuentra naturalmente presente en muchos alimentos ricos en almidón. Una parte de ese almidón presente en la dieta, no se digiere y absorbe en el intestino delgado y se fermenta en el intestino grueso de los seres humanos, con la producción de ácidos grasos de cadena corta, denominándose como "almidón resistente" (Raigond, Ezekiel, & Raigond, 2015). Se han identificado cuatro clases de almidón resistente: almidón resistente tipo I, se refiere a un almidón retenido internamente en la estructura del alimento, se puede encontrar en granos y semillas parcialmente fraccionados. El almidón resistente tipo II, es conocido también como almidón nativo. Suele estar presente en alimentos sometidos a tratamientos térmicos a baja temperatura y se encuentra en forma de gránulos en el interior de la célula vegetal. El almidón tipo 3, corresponde a almidón retrogradado y es producido durante los procesos de cocción, enfriamiento y almacenamiento de los alimentos y el almidón tipo 4, corresponde a un almidón modificado químicamente (Buttriss & Stokes, 2008).

III.1.2.6. Oligosacáridos no digeribles

Los Oligosacáridos no digeribles (NDOs), 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. Hay diferencias sobre el grado de polimerización considerado en la definición de fibra. En la propuesta actual de la Comisión Europea, solo sacáridos con tres o más unidades se incluyen en la definición precitada (Buttriss & Stokes, 2008).

III.1.2.7. Otros carbohidratos sintéticos

Derivados sintéticos de la celulosa, por ejemplo, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, son no digeribles y, a diferencia de la celulosa, son solubles. Pero difícilmente son fermentados por la microflora. La povidexosa 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 povidexosa, se utiliza por ejemplo, en algunos productos reducidos energéticamente 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.

III.1.2.8. Gomas y mucilagos

Las gomas son hidrocoloides derivados de exudados de plantas. Los mucilagos están presentes en las células de las capas externas de semillas de la familia de plantago, por ejemplo el psyllium. Ambos son usados como agentes gelificantes, espesantes, estabilizantes y agentes emulsionantes. Las gomas provienen de exudados vegetales

(goma Arábica y tragacanto), semillas (Guar y algarrobo) y de extractos de algas (agar, alginatos, carrageninas).

III.1.2.9. Lignina

No es un polisacárido, está unida a las hemicelulosas en las paredes celulares de las plantas. Las fuentes de la misma, incluyen los alimentos con componentes duros, por ejemplo el apio, y las capas externas de algunos frutos y granos de cereales.

III.1.3. 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 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 dietaria” (Sambucetti, 2006).

III.1.3.1. Métodos oficiales para el análisis de fibra

Los métodos internacionales oficiales de análisis (AOAC) están ampliamente aceptados para el etiquetado general del contenido de nutrientes de los alimentos, así como para las declaraciones de propiedades saludables y nutricionales. Los métodos AOAC están diseñados para extraer con precisión las matrices alimentarias y son métodos estudiados, rentables y reproducibles en diversos entornos analíticos en los que se basa el sector. Son los métodos más estudiados y homologados de que se dispone para la

cuantificación de componentes alimentarios. Estos métodos se han evaluado científicamente para ser métodos de referencia. No existe un único método AOAC homologado que pueda cuantificar todos los carbohidratos no digeribles de los alimentos. El AOAC 991.43 es uno de los métodos de análisis de la fibra dietaria “total” más empleados. Tanto este método como el AOAC 985.29 pueden cuantificar los polisacáridos insolubles y los componentes solubles de elevado peso molecular, es decir, aquellos que se precipitan en presencia de alcohol. Ninguno de ellos puede calcular completamente la fracción de almidón resistente ni recuperar todos los componentes polisacáridicos no digeribles, los cuales los miembros del Codex pueden decidir incluir en la definición de fibra dietaria. El método AOAC 991.43, permite obtener de forma separada la precipitación de las fibras insolubles (FDI) y de las fibras solubles (FDS). Las fibras totales ($FDT = FDI + FDS$) obtenidas mediante los 2 métodos llevan las mismas clases de polisacáridos (Codex-Alimentarius, 2009).

McCleary, (2007), elaboró un nuevo método integrado de análisis de la cantidad total de fibra que determina la cantidad total de fibra (incluido el almidón resistente), oligosacáridos no digeribles y carbohidratos disponibles. Basado principalmente en métodos AOAC oficiales existentes (AOAC 991.43, AOAC 2001.03 y AOAC 2002.02), este nuevo método integrado utiliza condiciones similares a las descritas en el método AOAC oficial 2002.02 (almidón resistente) y en el método AOAC oficial 991.43, para cuantificar los polisacáridos resistentes de elevado peso molecular. Otro proceso similar al descrito en el método AOAC oficial 2001.03 permite la cuantificación de los oligosacáridos no digeribles de GP 3 en adelante hasta el límite de la solubilidad de cualquier oligosacárido en 4 partes de alcohol y 1 parte de agua (Codex-Alimentarius, 2009).

En el Código Alimentario Argentino los métodos oficiales aceptados para la rotulación e información de los compuestos correspondientes a la fibra dietaria se presentan en el

capítulo XVII correspondiente a los alimentos de régimen o dietéticos, y se resumen en la Tabla III.1.1

Tabla III.1.1. Métodos de análisis de fibra dietaria.

| Método | Compuestos Cuantificados | Tipo de análisis |
|--------------|--|---|
| AOAC 991.43 | Polisacáridos solubles + insolubles (incluido AR3) + lignina | Enzimático gravimétrico |
| AOAC 985.29 | Polisacáridos solubles + insolubles (incluido AR3) + lignina | Enzimático gravimétrico |
| AOAC 994.13 | Polisacáridos solubles + insolubles (incluido AR3) + lignina | Enzimático gravimétrico |
| AOAC 995.16 | Beta-glucanos | Enzimático |
| AOAC 2002.02 | Fibra dietaria de almidón resistente y algas | Enzimático |
| AOAC 999.03 | Fructanos (oligofructanos, derivados de inulina, fructooligosacáridos) | Enzimático y colorimétrico |
| AOAC 997.08 | Fructanos (oligofructanos, derivados de inulina, fructooligosacáridos) | Enzimático y HPAEC |
| AOAC 2001.02 | Trans-galactooligosacáridos | HPAEC-PAD |
| AOAC 2001.03 | Fibra dietaria total en alimentos que contienen maltodextrina resistente | Enzimático gravimétrico y cromatografía líquida |
| AOAC 2000.11 | Polidextrosa | HPAEC |

Es de destacar la existencia de otras metodologías para la determinación química y cuantificación de los distintos componentes de la fibra dietaria en tejidos vegetales. Por ejemplo Basanta et al., (2014); Femenia et al., (2009); Fissore et al., (2011); Fissore, Ponce, Stortz, Rojas, & Gerschenson, (2007), determinaron el contenido de celulosa, carbohidratos no celulósicos y lignina en tejidos de cerezas, kiwi, remolacha y calabaza respectivamente. Aplicando estas metodologías se puede tener conocimiento de la peculiar composición de cada fibra dietaria presente en un tejido vegetal.

III.1.4. Usos tecnológicos de la fibra dietaria

La FD puede tener otro tipo de valor además del fisiológico ya que la modulación de sus propiedades funcionales a través de los procesos de producción, hace que sean importantes en distintas aplicaciones tecnológicas. 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 & 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 et al., 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 (Tunland & Meyer, 2002). La importancia de estas propiedades, se complementan con las desarrolladas en el capítulo I. Esto es importante en industrias, por ejemplo, de mermeladas, jaleas, dulces y otros productos donde el uso de hidrocoloides como ingredientes es indispensable para la adecuada formulación de productos. El uso de FD de nuevas fuentes y la posibilidad de mejorar sus propiedades ampliará el rango de aplicaciones posibles para la FD y proveerá herramientas para crear alimentos más saludables con características organolépticas mejoradas (Laufenberg, Kunz, & Nystroem, 2003).

III.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los reactivos utilizados fueron de grado analítico y marca Merck o Anedra. Los patrones utilizados fueron de marca Sigma y el etanol utilizado, de calidad farmacopea, y marca Porta.

III.2.1. Obtención de concentrados de fibra dietaria

Para esta parte de la investigación, se produjeron CFD de pulpa y cáscara de papaya utilizando un método de secado convencional (convección con aire caliente), a fin de verificar los efectos de los mecanismos de secado (microondas vs convección) sobre las propiedades físico-químicas y funcionales. Para esto, los tejidos de pulpa y cáscara de papaya se trataron con etanol, utilizando el método optimizado en el capítulo I, es decir un tratamiento con alcohol durante 15 minutos a 20°C y con una relación etanol/muestra de 2,9 mL/g. Para la etapa de deshidratación se utilizó la convección con aire caliente como mecanismo de secado, usando la misma temperatura 40°C y utilizando un secador de convección forzada (FAC, Argentina). El criterio para determinar el fin de la etapa de secado fue análogo al utilizado para los CFD con microondas. Los procedimientos de molienda, tamizado, empaclado y almacenado, fueron realizados siguiendo los mismos procesos descriptos en el capítulo I.

III.2.2. Caracterización química de los concentrados de fibra dietaria

Los cuatro concentrados de fibra dietaria que de aquí en adelante se denominarán, CFD-MW, cuando sean deshidratados con microondas y CFD-CV cuando sean deshidratados con convección con aire caliente, se caracterizaron en cuanto a su composición de polímeros de pared celular.

III.2.2.1. Obtención del Residuo Insoluble en Alcohol

El residuo insoluble en alcohol, denominado como AIR por sus siglas en inglés, Alcohol Insoluble Residue, permite concentrar el material obtenido en componentes de la pared celular. Este procedimiento se hace con el fin de realizar una caracterización adecuada de los mismos eliminando interferentes.

El AIR se obtuvo de acuerdo con de Escalada Pla, Uribe, Fissore, Gerschenson, & Rojas, (2010). Para ello, ≈ 10 g de cada CFD se mezclaron con 35 mL de solución de etanol al 96 mL/100mL, a ebullición y se homogeneizó con un agitador magnético (Velp, Usmate, Italia), durante 15 min bajo agitación constante. El residuo obtenido se siguió tratando con 35 mL de solución de etanol (80mL/100mL) en ebullición durante 15 min y dos veces con 25 mL de solución de etanol (80mL/100mL) en ebullición, durante 15 min. Finalmente, el residuo insoluble se separó y se lavó con 10 mL de solución de etanol (80mL/100mL) y con 10 mL de solución de etanol 96 mL/100mL. 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) para obtener partículas de tamaño, 420 micrones y, finalmente, se almacenó a -18°C , envasado al vacío, en bolsas de Cryovac™ hasta los posteriores usos.

III.2.2.2. Caracterización química del Residuo Insoluble en Alcohol

El AIR obtenido se caracterizó químicamente mediante las determinaciones de: lignina, celulosa, hidratos de carbono totales no celulósicos (HC), ácidos urónicos y proteínas. Para ello, se realizaron tres hidrólisis con ácido sulfúrico de diferente grado de intensidad, según Ng, Parr, Ingham, Rigby, & Waldron, (1998).

La determinación del contenido lignina se realizó dispersando $\approx 0,3$ g de AIR en 2,08 mL de solución de ácido sulfúrico 72 mL/100mL, durante 3 horas a temperatura ambiente.

Al cabo de este tiempo, la concentración de esta dispersión se ajustó a 1 M agregando el volumen necesario de agua desionizada (≈ 25 mL). Posteriormente, cada dispersión se calentó a 100°C durante 2,5 horas en un baño de agua. Al cabo de este tiempo y luego de que las soluciones se enfriaron, se centrifugaron durante 10 min a 12000 g y, finalmente, se separó el sobrenadante. El residuo se lavó tres veces con agua desionizada y luego se liofilizó. El residuo seco obtenido se pesó e informó como lignina.

Se llevó a cabo un segundo procedimiento con otra porción de $\approx 0,3$ g de AIR, a la cual se le agregó 2,08 mL de solución 72 mL/100mL de ácido sulfúrico; se dispersó el material e inmediatamente se agregó agua para alcanzar una dilución 1M. A continuación, la dispersión se calentó por 2,5 horas a 100°C en un baño de agua. 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, Gilles, Hamilton, Rebers, & Smith, 1956) usando glucosa como estándar y el contenido proteico de acuerdo al método de Lowry, Rosebrough, Farr, & Randall, (1951) usando albúmina de suero bovino (BSA) como estándar.

El tercer procedimiento de hidrólisis se llevó a cabo con una nueva porción de $\approx 0,3$ g de AIR, la cual fue tratada análogamente a la técnica aplicada durante el segundo procedimiento pero en este caso, se procedió con una hora de calentamiento a 100°C en baño de agua. Se separó el sobrenadante para la cuantificación del contenido de ácidos urónicos por el método espectrofotométrico reportado por Filisetti-Cozzi & Carpita, (1991), usando ácido galacturónico como estándar.

El grado de metilación de los ácidos urónicos, se evaluó a partir del método espectrofotométrico propuesto por Wood & Siddiqui, (1971), previa saponificación de los ésteres correspondientes según Fissore, Ponce, Stortz, Rojas, & Gerschenson,

(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).

Los grupos acetilos se determinaron según el método de Naumenko & Phillipov, (1992).

El grado de acetilación (GA) se calculó como la relación porcentual entre los moles de grupo acetilo y los moles de ácido galacturónico en las muestras.

III.2.3. Descripción de las técnicas usadas en las determinaciones químicas

III.2.3.1. Determinación de carbohidratos totales

El sobrenadante neutralizado, obtenido de la segunda hidrólisis ácida descrita anteriormente, se utilizó para cuantificar el contenido de hidratos de carbono según Dubois et al., (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 H₂O desionizada (Milli-QTM). Se agregaron 50 µL de la solución de fenol (Merck, Buenos Aires, Argentina) (80 g/100g), se homogeneizó y luego se agregaron 5000 µL de H₂SO₄ (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).

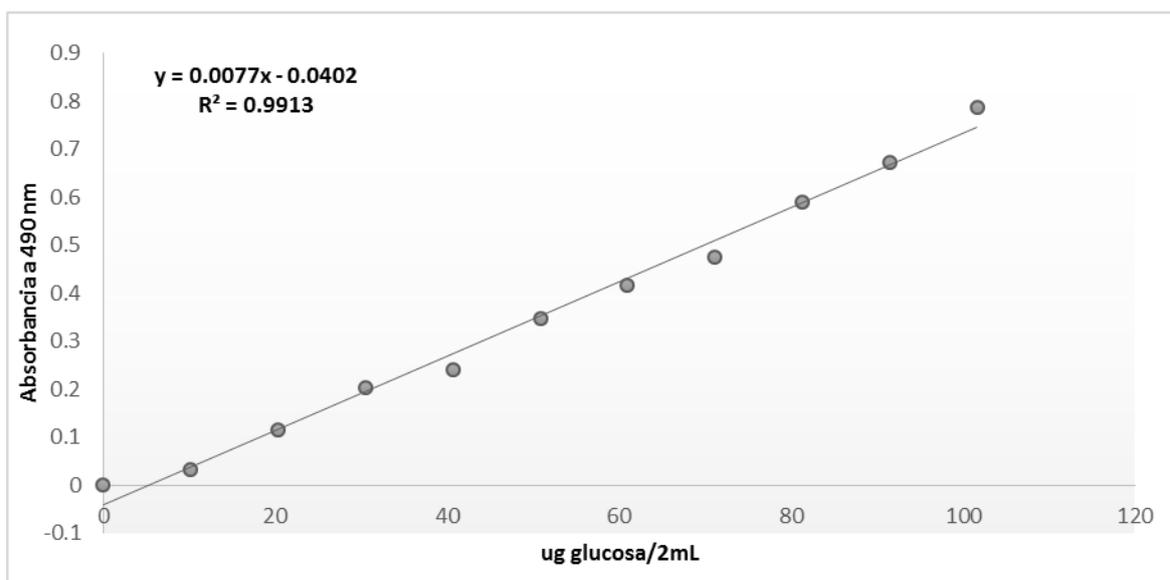


Figura III.2.1. Curva de calibración para la determinación del contenido de carbohidratos totales.

III.2.3.2. Determinación de ácidos urónicos

La determinación se realizó sobre el sobrenadante neutralizado, correspondiente al tercer procedimiento de la hidrólisis ácida, según el método de Filisetti-Cozzi & Carpita, (1991). Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica se tomó una alícuota de 20 μ L de muestra y se llevó a volumen final (400 μ L) con agua desionizada (Milli-QTM); se agregaron 40 μ L de ácido sulfámico (4 M; pH=1,6). Luego, se añadieron 2400 μ L 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 °C durante 20 minutos. La reacción se detuvo rápidamente colocando las muestras en un baño de agua con hielo. Se añadieron 80 μ L de solución de m-hidroxidifenilo 0,15 g/100mL en NaOH 0,5 g/100mL. 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.

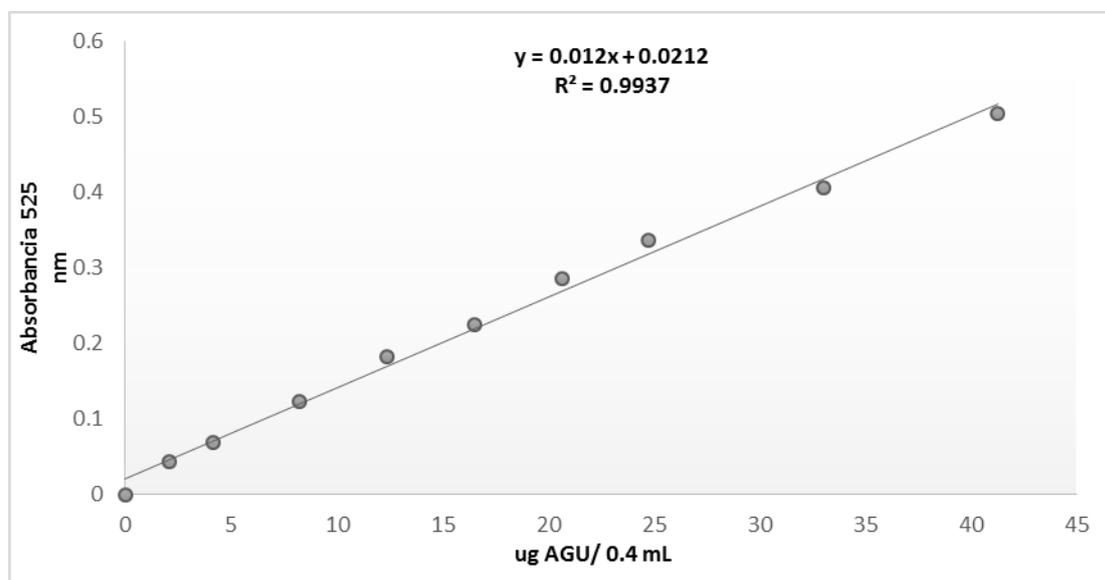


Figura III.2.2. Curva de calibración para la determinación del contenido de ácidos urónicos (AGU).

III.2.3.3. Determinación de proteínas

El contenido de proteínas fue determinado en el sobrenadante neutralizado correspondiente al primer procedimiento de la hidrólisis ácida, de acuerdo con el método propuesto por Lowry et al., (1951). Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica: se tomó una alícuota de 50 µL de muestra en una dilución 1:3 y se llevó a volumen final (100 µL) con agua desionizada (Milli-QTM) y se agregaron 1000 µL del reactivo A. Se colocaron las muestras tapadas en un baño de agua a 37 °C 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 °C 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 g/100mL en solución de NaOH 0,1N; sulfato de cobre pentahidratado 1 g/100mL y tartrato de sodio y potasio 1 g/100mL. Relación de mezcla de 100:1:1.

Reactivo B: Solución Folin Ciocalteu: agua desionizada Milli-QTM. Relación de mezcla (1:1).

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

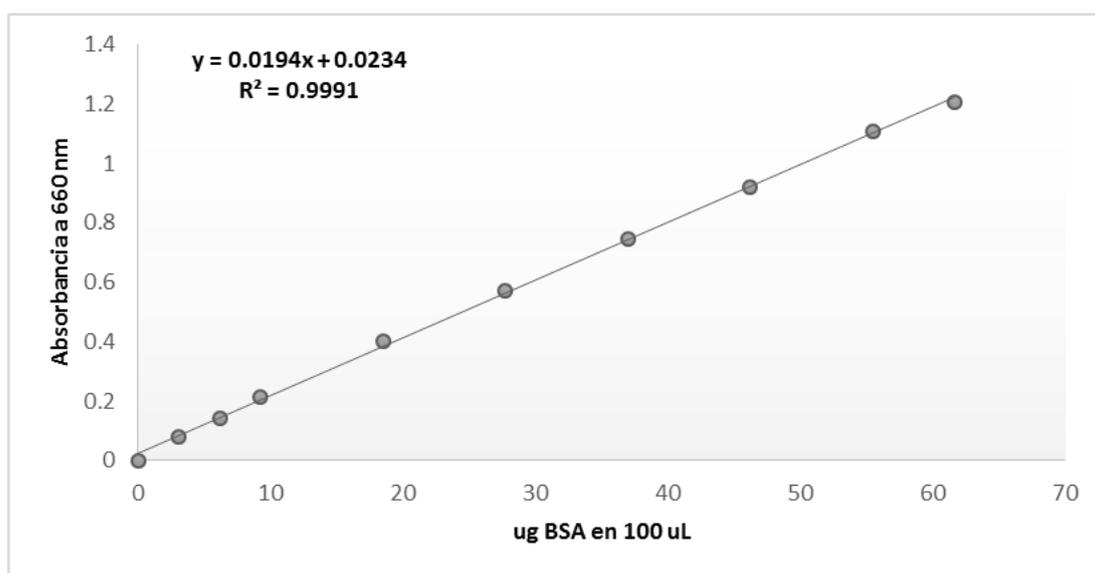


Figura III.2.3. Curva de calibración para la determinación del contenido de proteínas.

III.2.3.4. 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 ($\approx 0,028$ g) de AIR en contacto con 10 mL de NaOH (0,5 N), en un tubo con tapa y se homogeneizó cada 10 minutos durante el período de 1 hora a temperatura ambiente. Simultáneamente, se preparó un blanco de muestra ($\approx 0,028$ g) con 10 mL de agua desionizada MilliQTM. 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 (1,5 N); 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 g/100mL y se dejó enfriar las muestras durante 15 minutos en un baño de agua con hielo. Luego, se agregaron 200 μL de $\text{AsO}_3\text{H}_2\text{Na}$ 0,5 M (solución en H_2SO_4 0,12 N) y 600 μL de agua desionizada (MilliQTM); 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 $^\circ\text{C}$ 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).

El grado de metilación (GM) se calculó como la relación porcentual del número de moles de metanol y el número de moles de ácido galacturónico.

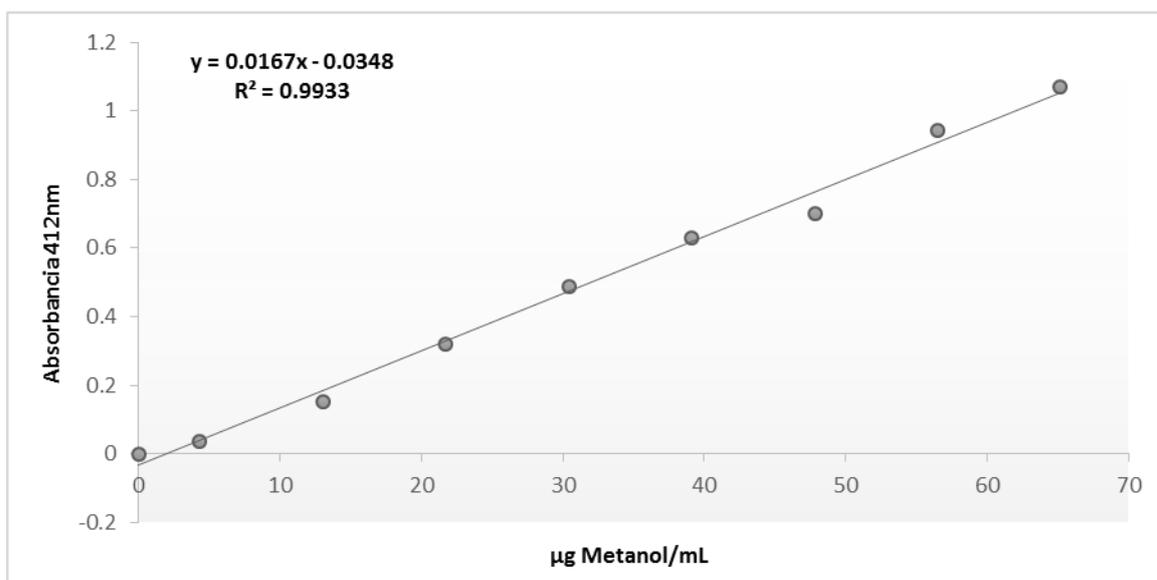


Figura III.2.4. Curva de calibración para la determinación del contenido de metanol.

III.2.3.5. Determinación del grado de acetilación

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

Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica, se tomó una masa adecuada de muestra ($\approx 0,1418\text{g}$) y se agregaron $5000\ \mu\text{L}$ de una mezcla de clorhidrato de hidroxilamina ($0,125\ \text{M}$) y NaOH ($0,25\ \text{M}$) en relación (1:1). La suspensión se agitó durante 1 hora. De la solución obtenida se tomaron $1000\ \mu\text{L}$, se agregaron $1000\ \mu\text{L}$ de HNO_3 $0,125\ \text{M}$ y $3000\ \mu\text{L}$ de una solución de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ $0,01\ \text{M}$; 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 $495\ \text{nm}$. Se utilizó como blanco de reacción un volumen de $1000\ \mu\text{L}$ de una mezcla de clorhidrato de hidroxilamina ($0,125\ \text{M}$) y NaOH ($0,25\ \text{M}$) (relación 1:1), $1000\ \mu\text{L}$ de HNO_3 ($0,125\ \text{M}$) y $3000\ \mu\text{L}$ de $\text{Fe}(\text{NO}_3)$ ($0,01\ \text{M}$).

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

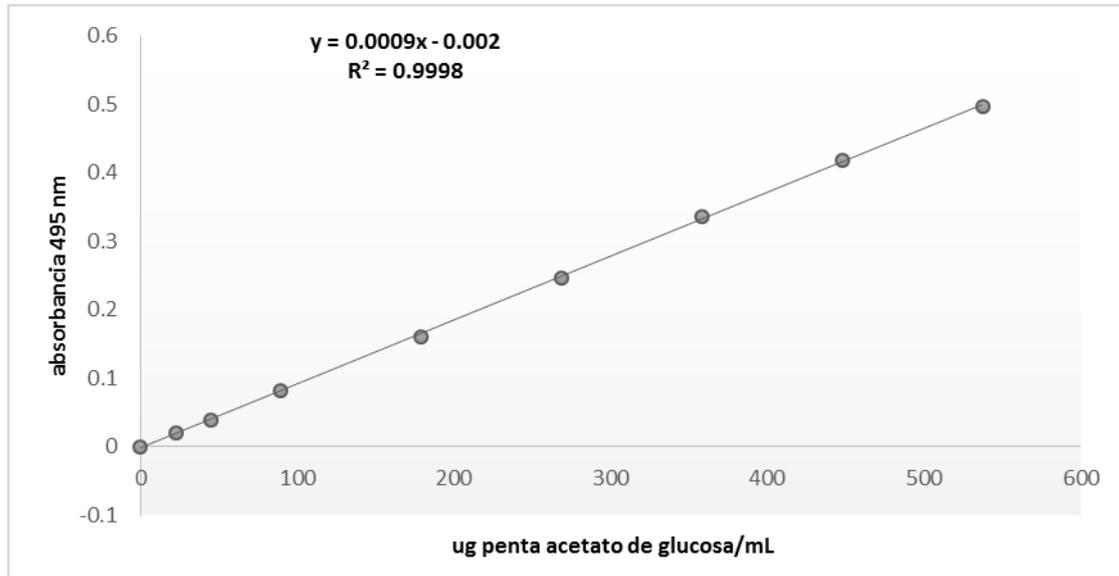


Figura III.2.5. Curva de calibración para la determinación del contenido de acetilos.

III.2.4. Caracterización de los concentrados de fibra dietaria deshidratados por microondas y convección

III.2.4.1. Propiedades de hidratación, de absorción de aceite, fracción soluble en agua y color

Los CFD-CV, de pulpa y cáscara, fueron caracterizados funcionalmente de la misma forma que se realizó con los CFD-MW. Las propiedades analizadas en este nuevo producto fueron, propiedades de hidratación (WRC, RW, WHC y RW), de absorción de aceite (OHC), fracción soluble en agua (FSA) y color, siguiendo las mismas técnicas descritas en el capítulo I.

III.2.4.2. Capacidad antioxidante y compuestos asociados

Así mismo los CFD-CV, se caracterizaron en cuanto a su capacidad antioxidante mediante las técnicas FRAP y DPPH, y también en cuanto a su composición de compuestos fenólicos, carotenoides y ácido ascórbico utilizando los métodos espectrofotométricos descritos en el capítulo II.

III.2.4.3. Estabilidad termoquímica

La temperatura de transición vítrea T_g se determinó mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) mediante un equipo Mettler Toledo 822 y un sistema de análisis térmico STARe software versión 3.1 (Mettler Toledo AG, Suiza). El instrumento fue calibrado usando compuestos estándar (de indio y zinc) de punto de fusión y calor de fusión definido. Las mediciones se realizaron por duplicado con 14 a 17 mg de cada muestra, utilizando cubetas de aluminio herméticamente cerradas de 0,04 mL de volumen interior (Mettler) que se calentaron de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a una relación de $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$; un recipiente vacío se utiliza como referencia. El intervalo de confianza estimado para temperatura fue de $2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

III.2.5. Análisis estadístico

Un análisis de la varianza (One-way ANOVA) con test a posteriori de Tukey, se realizó utilizando GraphPad Prism versión 5.00 para Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, para comparar las medias de los resultados obtenidos.

III.3. RESULTADOS DISCUSIÓN

III.3.1. Composición química de los concentrados de fibra dietaria

Los resultados obtenidos luego del análisis químico (Tabla III.3.1) mostraron que los CFD obtenidos de la pulpa y cáscara de papaya, estaban constituidos principalmente por polímeros característicos de la pared celular, encontrando un porcentaje de AIR de alrededor de 77 g por cada 100g de CFD para las muestras provenientes de la pulpa y alrededor de 83 g por cada 100g de CFD para las muestras provenientes de la cáscara.

Tabla III.3.1. Resumen del rendimiento y la caracterización química de los CFD.

| | ¹ CFD-MW de pulpa | ² CFD-CV De pulpa | ³ CFD-MW de cáscara | ⁴ CFD-CV de cascara |
|--|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Rendimiento, (g CFD/100g tejido fresco) | 2,56 ± 0,07 ^a | 2,53 ± 0,09 ^a | 8,8 ± 0,8 ^b | 8,9 ± 0,5 ^b |
| Rendimiento del AIR, (g AIR/100g CFD) | 76,1 ± 0,6 ^a | 78,0 ± 0,3 ^b | 83,1 ± 0,7 ^{c,f} | 84 ± 1 ^{d,f} |
| Humedad (g/100g) [*] | 8,7 ± 0,1 ^a | 6,6 ± 0,3 ^b | 7,1 ± 0,4 ^b | 6,8 ± 0,3 ^b |
| <i>a_w</i> | 0,47 ± 0,02 ^a | 0,40 ± 0,01 ^{b,f,g} | 0,41 ± 0,02 ^{c,f} | 0,36 ± 0,02 ^{d,g} |
| Celulosa (g/100g) [*] | 31,9 ± 0,7 ^{a,c} | 31,1 ± 0,3 ^{a,d} | 27,8 ± 0,4 ^b | 30,9 ± 0,3 ^{c,d} |
| Lignina (g/100g) [*] | 0,93 ± 0,07 ^a | 0,97 ± 0,03 ^a | 4,2 ± 0,8 ^{b,e} | 2,9 ± 0,9 ^{d,e} |
| Carbohidratos no celulósicos (g/100g) [*] | 16,6 ± 0,4 ^a | 17,2 ± 0,7 ^a | 14 ± 1 ^{b,c} | 13 ± 1 ^c |
| Proteína (g/100g) [*] | 4,1 ± 0,5 ^a | 3,9 ± 0,2 ^a | 7,4 ± 0,1 ^{b,d} | 7,2 ± 0,5 ^{c,d} |
| Ácidos urónicos (g/100g) [*] | 16,1 ± 0,9 ^a | 10 ± 1 ^{e,f} | 11 ± 2 ^{c,e} | 7,5 ± 0,8 ^{d,f} |
| Grado de metilación | 82 ± 4 ^a | 89 ± 4 ^a | 83 ± 4 ^a | 80 ± 3 ^a |
| Grado de acetilación | 25,3 ± 0,7 ^a | 38,3 ± 0,3 ^b | 30,1 ± 0,4 ^c | 33,8 ± 0,8 ^d |

¹CFD-MW de pulpa: Concentrado en fibra dietaria obtenido a partir de la pulpa y deshidratado por microondas.

²CFD-CV de pulpa: Concentrado en fibra dietaria obtenido a partir de la pulpa y deshidratado por convección.

³CFD-MW de cáscara: Concentrado en fibra dietaria obtenido a partir de la cáscara y deshidratado por microondas.

⁴CFD-CV de cáscara: Concentrado en fibra dietaria obtenido a partir de la cáscara y deshidratado por convección.

^{*}Los resultados están expresados en la base de peso de 100g de cada CFD.

Letras iguales en una misma fila significa que no hay diferencias significativas (p<0,05)

Los cuatro CFD obtenidos presentaron contenidos similares de celulosa, cuyos valores oscilaron entre 27,8 y 31,9 g/100. Por otra parte se encontró que el contenido de lignina y proteína encontrado en los CFD de cáscara fue mayor (p<0,05) que en los de pulpa. En los trabajos de Lund & Smoot, (1982), se reportaron valores de celulosa y lignina en el tejido fresco (TF) de pulpa de papaya de 0,72 g/100g TF y 0,086g/100g TF respectivamente. En esta investigación, la transformación de los valores del contenido de celulosa, por ejemplo del CFD-MW de pulpa, a la base de TF, utilizando los valores del rendimiento de la Tabla III.3.1, da como resultado valores de 0,82g/100g TF. Así

mismo, la conversión del contenido de lignina en este mismo producto (CFD-MW de pulpa) a base peso de TF, se traduce en un valor de 0,02g/100 TF, con lo cual se observa que los resultados obtenidos en este trabajo están en el orden de los mencionados anteriormente.

La celulosa es el componente que le otorga rigidez y resistencia ante roturas a la pared celular, mientras que las sustancias pécticas le confieren plasticidad y la habilidad de estirarse. Por otra parte, la lignina es un polímero complejo derivado de compuestos fenólicos, la cual aparece en cantidades significativas durante las últimas etapas de la madurez de la pared celular, encontrándose en concentraciones bajas en las células de frutas y verduras en sus etapas comestibles (Van Buren, 1979). El contenido de proteína encontrado en los CFD de pulpa y cáscara (Tabla III.3.1) son del orden de los hallados en fracciones de fibra dietaria obtenida de durazno (6,6 g/100g) en los estudios reportados por Nieto Calvache et al., (2015). El contenido de hidratos de carbono no celulósicos fue ligeramente mayor ($p < 0,05$) en los CFD provenientes de la pulpa que en los de cáscara, y además son menores que los encontrados en concentrados de fibra dietaria del durazno por de Escalada Pla et al., (2012), quienes reportaron valores entre 31 y 45 g/100g de fibra.

Las muestras tanto de pulpa como de cáscara, deshidratadas con microondas retuvieron mayores concentraciones ($p < 0,05$) de ácidos urónicos respecto de aquellas deshidratadas por convección (Tabla III.3.1) En todos los CFD, se encontró que las pectinas presentaban un alto grado de metilación (>50%) y un porcentaje de acetilación menor al 50%. Garau, Simal, Rosselló, & Femenia, (2007), reportaron mayores pérdidas de azúcares de pared celular en subproductos de naranja al deshidratar a altas temperaturas (90°C), sin embargo a bajas temperaturas (30°C) también una importante pérdida de polímeros pécticos se producía debido a un mayor tiempo de exposición al calor. Esto podría explicar en parte que los CFD-CV hayan presentado un menor

($p < 0,05$) contenido de ácidos urónicos que los CFD-MW, ya que estos últimos tuvieron un tiempo de secado mucho menor (Tabla III.3.2).

Tabla III.3.2. Análisis comparativo de las propiedades obtenidas y los tiempos de secado, para los CFD-MW vs los CFD-CV.

| Propiedad | ¹ CFD-MW de pulpa | ² CFD-CV de pulpa | ³ CFD-MW de cáscara | ⁴ CFD-CV de cáscara |
|---------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| SC (mL/g) | 84,0 ± 0,9 ^a | 57 ± 1 ^b | 20,3 ± 0,2 ^c | 18 ± 1 ^c |
| WRC (g/g) | 30,4 ± 0,4 ^a | 21 ± 2 ^{b,e} | 21 ± 2 ^{c,e} | 25 ± 1 ^{d,e} |
| WHC (g/g) | 90,7 ± 0,9 ^a | 64,2 ± 0,7 ^b | 27 ± 1 ^c | 24,3 ± 0,2 ^d |
| OHC (g/g) | 1,20 ± 0,01 ^a | 1,116 ± 0,002 ^b | 1,37 ± 0,03 ^c | 1,278 ± 0,006 ^d |
| FSA | 24 ± 2 ^a | 23,5 ± 0,8 ^a | 15 ± 1 ^b | 14 ± 1 ^b |
| L* | 56,81 ± 0,01 ^a | 56,1 ± 0,2 ^b | 63,8 ± 0,0 ^c | 64,9 ± 0,02 ^d |
| a* | 29,99 ± 0,04 ^a | 28,98 ± 0,03 ^b | 4,33 ± 0,02 ^c | 3,347 ± 0,007 ^d |
| b* | 37,61 ± 0,04 ^a | 35,42 ± 0,08 ^b | 38,78 ± 0,03 ^c | 37,66 ± 0,01 ^a |
| ⁵ Tiempo (min) | 178 ± 17 ^a | 440 ± 25 ^b | 90 ± 5 ^c | 410 ± 23 ^b |

¹CFD-MW de pulpa: Concentrado en fibra dietaria obtenido a partir de la pulpa y deshidratado por microondas.

²CFD-CV de pulpa: Concentrado en fibra dietaria obtenido a partir de la pulpa y deshidratado por convección.

³CFD-MW de cáscara: Concentrado en fibra dietaria obtenido a partir de la cáscara y deshidratado por microondas.

⁴CFD-CV de cáscara: Concentrado en fibra dietaria obtenido a partir de la cáscara y deshidratado por convección.

⁵Tiempo de deshidratación.

Letras iguales en una misma fila significa que no hay diferencias significativas ($p < 0,05$)

III.3.2. Propiedades físicas y funcionales

Las propiedades de hidratación como SC, WRC, WHC, entre otras propiedades han sido ampliamente estudiadas en diferentes materiales obtenidos de materias primas vegetales mediante diferentes procesos (de Escalada Pla et al., 2010; Garau et al., 2007; Guillon & Champ, 2000). En dichos estudios, además de resaltar los beneficios asociados al consumo de fibra para la salud, también se mencionan los posibles efectos de la incorporación de estos materiales en algunos sistemas alimenticios.

En esta parte de la investigación se observó que los CFD-MW y los CFD-CV de pulpa de papaya, presentaron altos valores para las propiedades SC y WHC (Tabla III.3.2) si se compara con los resultados obtenidos para productos enriquecidos en fibra de pulpa (41,8 mL/g y 43g/g) y cáscara (22mL/g y 27g/g) de calabaza que fueron informados por

de Escalada Pla, Ponce, Stortz, Gerschenson, & Rojas, (2007), o para productos ricos en fibra obtenidos a partir de residuos de membrillo (11,6 mL/g y 15 g/g) por de Escalada Pla et al., (2010). Adicionalmente los valores de WRC y OHC encontrados en los CFD de esta investigación fueron del orden de los encontrados en otros tejidos, por los investigadores mencionados anteriormente.

Por otra parte los CFD-MW de pulpa, presentaron mayores valores ($p < 0,05$) para las propiedades de hidratación (WHC, SC, WRC y RW) y de absorción de aceite (OHC) que los CFD-CV de pulpa. Para los CFD provenientes de la cáscara se observaron mayores valores en las propiedades WHC y OHC, en los CFD-MW que en los CFD-CV. Adicionalmente, se observó también que las propiedades de hidratación SC y WHC al igual que la FSA en los CFD de pulpa (deshidratados por ambos métodos), presentaron mayores valores que los provenientes de la cáscara. Los altos valores de FSA, podrían dar lugar a una disminución en los valores de la temperatura de transición vítrea, T_g , teniendo en cuenta que esta fracción puede estar compuesta de azúcares de bajo peso molecular.

En términos del color, aunque se encontraron diferencias significativas para los valores de los parámetros L^* , a^* , b^* , entre los CFD-MW y CFD-CV, tanto para los de pulpa como los de cáscara, dichas diferencias fueron muy bajas. Desde este punto de vista el uso de cualquiera de los CFD sin importar el mecanismo de secado, da lugar a fracciones con similares atributos de color y, por tanto, puede influir en el producto al que sea adicionado de una forma similar.

En el capítulo II se había determinado que los CFD-MW presentaban interesantes características antioxidantes, por lo cual en este capítulo dichos resultados también se compararon con los obtenidos para los CFD-CV. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla III.3.3.

Tabla III.3.3. Análisis comparativo de las características antioxidantes de CFD-MW vs CFD-CV

| | CFD-MW de pulpa | CFD-CV de pulpa | CFD-MW de cáscara | CFD-CV de cáscara |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Compuestos fenólicos (g/100g)* | 0,47 ± 0,03 ^{a,c} | 0,58 ± 0,04 ^c | 0,99 ± 0,04 ^b | 1,2 ± 0,1 ^d |
| Ácido ascórbico (mg/100g)* | 4,7 ± 0,6 ^{a,c} | 4,6 ± 0,6 ^c | 14 ± 1 ^b | 10 ± 2 ^d |
| Carotenoides (mg/100g)* | 5,10 ± 0,03 ^a | 6,6 ± 0,7 ^c | 8,1 ± 0,8 ^b | 9,4 ± 0,3 ^d |
| DPPH (μmol trolox/100g)* | 12 ± 1 ^a | 23 ± 2 ^b | 54,86 ± 0,08 ^c | 60,05 ± 0,09 ^d |
| FRAP (μmol trolox/g)* | 10,2 ± 0,6 ^a | 14,3 ± 0,5 ^b | 25 ± 1 ^c | 29 ± 1 ^d |

*Para todos los CFD los resultados están expresados en la base de peso de cada CFD. Letras diferentes en una misma fila significa que son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Se encontró que la capacidad antioxidante evaluada mediante los métodos FRAP y DPPH fue significativamente mayor en los CFD de cáscara que en los de pulpa ($p < 0,05$) para ambos tipos de secado. Este hecho puede explicarse en gran parte debido a que los CFD que provienen de la cáscara, para ambos sistemas de secado, siempre presentan mayor contenido de polifenoles, carotenos y ácido ascórbico que los que provienen de la pulpa ($p < 0,05$). En general, la cáscara de muchos frutos se caracteriza por tener mayor actividad antioxidante que la pulpa. Ello se ha observado en estudios realizados en frutos cítricos cultivados en Brasil (naranja lima, naranja pera, lima Tahiti, lima dulce, mandarina Ponkan) donde se encontró que las cáscaras de estos frutos tenían mayor capacidad antioxidante evaluada mediante los métodos FRAP y DPPH y mayor contenido de compuestos fenólicos que la pulpa de estos frutos (de Moraes Barros, Pinto de Castro Ferrerira, & Genovese, 2012). Asimismo, Contreras-Calderón, Calderón-Jaimes, Guerra-Hernández, & García-Villanova, (2011) encontraron que muchos frutos tropicales consumidos en Colombia, presentaron mayor capacidad antioxidante (FRAP) y compuestos fenólicos en la cáscara que en la pulpa.

Por otra parte, se encontró que los CFD-CV (cáscara y pulpa) tuvieron una mayor ($p < 0,05$) capacidad antioxidante (DPPH y FRAP) que los CFD-MW. Esto puede asociarse al contenido de algunos compuestos antioxidantes de dichos CFD. Por ejemplo, en los CFD-CV de pulpa, el contenido de carotenoides fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que para los CFD-MW. Por otra parte, los CFD-CV provenientes de la

cáscara tuvieron un contenido de polifenólicos y carotenoides significativamente mayor ($p < 0,05$) que los CFD-MW, mientras que la retención de ácido ascórbico fue menor. Por lo cual, las diferencias en la capacidad antioxidante observadas entre los dos métodos de secado para una misma fuente (cáscara o pulpa) pueden ser debidas principalmente a los diferentes efectos del mecanismo de secado, sobre el contenido de carotenoides remanentes en el caso de la pulpa y al contenido de carotenoides y polifenólicos en el caso de la cáscara. De Ancos, Cano, Hernandez, & Monreal, (1999), informaron que, el calentamiento con microondas de la pulpa macerada de papaya produce un pérdida de porcentajes mayores al 50% del contenido de carotenoides totales.

La transición vítrea puede explicarse como un cambio que se produce en materiales amorfos y que determina que los mismos sufran una transformación desde un estado de alta viscosidad (estado vítreo) a uno de baja viscosidad (estado gomoso) (Carter & Schmidt, 2012). Los alimentos con características vítreas pueden considerarse potencialmente estables, y el mantenimiento del estado vítreo tendría alta relevancia en las características texturales de los alimentos crocantes tales como papas fritas, galletitas y snacks extrudados (Slade & Levine, 1994).

En los análisis de la temperatura de transición vítrea (T_g) de un material, comúnmente se estudia las temperaturas de inicio, la del punto medio y la temperatura final de esta transición, siendo las temperaturas de inicio y del punto medio las que comúnmente se reportan como el valor de T_g (Hancock & Zografi, 1994). En este trabajo de investigación, se tomó la temperatura del punto medio como el valor de T_g .

La evaluación de la temperatura de transición vítrea (T_g), mostró que los CFD de pulpa y de cáscara presentaron diferentes valores (Tabla III.3.4). La primera tendencia que se puede observar es que la T_g de los CFD de la cáscara es mayor que la de los CFD de pulpa, para ambos métodos de secado. Esta tendencia podría explicarse por el hecho que los CFD de cáscara presentaron una mayor concentración de polímeros de la pared

celular que los CFD de pulpa, lo que se evidencia en el mayor rendimiento de AIR, (Tabla III.3.1); estos polímeros contribuyen a un incremento en el valor de la Tg (Hancock & Zografi, 1994).

Tabla III.3.4. Temperatura de transición vítrea encontrada en los CFD.

| | CFD-MW | | CFD-CV | |
|----------------------------|--------|---------|--------|---------|
| | pulpa | cáscara | pulpa | cáscara |
| Temperatura de inicio (°C) | 5,52 | 28,03 | -3,74 | 31,45 |
| Tg (°C) | 7,64 | 38,34 | 18,81 | 46,70 |
| Temperatura final (°C) | 9,15 | 43,75 | 47,61 | 59,02 |

Adicionalmente, las diferencias en los valores de Tg entre los CFD-MW de cáscara y pulpa (38,34 vs 7,64 °C), pueden estar asociadas, por una parte, al mayor contenido de humedad (Tabla III.3.1) del CFD-MW de pulpa, (8,7 g/100g) que en el CFD-MW de la cáscara (6,6 g/100g) ya que, se sabe, que un mayor contenido de humedad tiende a disminuir los valores de Tg (Slade & Levine, 1995). Además, el CFD-MW de pulpa presentó valores de FSA (Tabla III.3.2) más altos que el CFD-MW de cáscara (24 vs 16 g/100g), lo que también podría haber contribuido a valores de Tg más bajos en los CFD-MW de pulpa, considerando que en esta fracción puede haber una cantidad considerable de azúcares simples, los cuales son responsables de la transición vítrea observada en frutas (Slade & Levine, 1995; Vega-Gálvez et al., 2012). Esta misma tendencia se observó, para los CFD-CV de pulpa y cáscara, en cuanto a los valores de FSA (23,5 y 14 g/100g respectivamente), contribuyendo ello a explicar la diferencia de Tg, para estos dos productos.

Por otra parte, también se observó una menor Tg en el CFD-MW de pulpa que en el CFD-CV de pulpa (7,64 vs 18,81°C). Por una parte, esta diferencia también puede asociarse al contenido de humedad, de los CFD y por otra parte a su concentración de polímeros de pared celular visto como el porcentaje de AIR. Para los CFD-MW y CFD-CV de cáscara también se encontraron diferencias en los valores de la Tg (38,34 vs

46,70 °C respectivamente). Para estos dos productos las diferencias en los valores de Tg pueden estar asociadas a las diferencias en el contenido de celulosa.

Se ha reportado que grandes moléculas como la celulosa presentan valores de Tg de 226,85 °C (Hancock & Zografi, 1994), mientras que para otros compuestos como la pectina, se han reportado valores de Tg entre 16,8 a -26,6 °C para rangos de a_w entre 0,12 a 0,91 (Basu, Shivhare, & Muley, 2013). Estos valores también podrían ayudar a explicar los resultados observados en los valores de Tg de los CFD, teniendo en cuenta que el contenido de ácidos urónicos para los CFD-MW para un mismo tejido, siempre fue mayor, que el de los CFD-CV, con lo cual para los valores de a_w observados en estos productos, podría producirse una disminución en los valores de Tg en los primeros.

Debido a la alta Tg observada para los CFD de cáscara, y a su contenido de polímeros de pared celular, se puede inferir que estos productos podrían ser utilizados en formulaciones de alimentos, no solamente como un aportador de fibra dietaria y otros compuestos al organismo, sino también para ayudar a modificar algunas propiedades y/o características reológicas, así como propiedades termoquímicas de productos alimenticios. Por ejemplo, podrían contribuir a aumentar la vida útil a lo largo del almacenamiento, de productos horneados como galletitas, ayudando a mantener estables sus características organolépticas, que dependen en gran medida del mantenimiento de su estado vítreo (Slade & Levine, 1995), o también para aumentar la Tg en formulaciones de otro tipo de productos, como por ejemplo helados, en los cuales los fenómenos de cristalización son comunes durante el almacenamiento y distribución del producto (Soukoulis, Lebesi, & Tzia, 2009).

III.4. CONCLUSIONES

- Se produjeron CFD de pulpa y cáscara de papaya mediante un tratamiento con etanol y la técnica de secado por convección. Se analizó el efecto de la deshidratación realizada por esta técnica o asistida por microondas, sobre las propiedades físicas y funcionales de los CFD de pulpa y cáscara de papaya. El análisis químico, demostró que todos los CFD estuvieron constituidos por celulosa, carbohidratos no celulósicos y proteínas. Además se encontró que la deshidratación con microondas produjo CFD con un mayor contenido de ácidos urónicos, los cuales tuvieron alto grado de metilación (> 50%) y bajo grado de acetilación (< 50%).
- La capacidad antioxidante evaluada mediante los métodos del DPPH y FRAP fue significativamente mayor en los CFD-CV, que en los CFD-MW, lo cual podría relacionarse principalmente al contenido de compuestos fenólicos y carotenoides presentes en cada producto.
- Los CFD de pulpa presentaron valores mayores para las propiedades de hidratación que los obtenidos de la cáscara. Asimismo, el CFD-MW de la pulpa tuvo mejores propiedades de hidratación que el CFD-CV de pulpa.
- Los CFD de cáscara presentaron mayores valores de Tg que los de pulpa. Y el secado por convección de aire aumenta los valores.
- Los CFD producidos a partir del tejido de pulpa y cáscara de papaya, resultan ser materiales que muestran un gran potencial para ser usados como ingredientes en la formulación de nuevos alimentos, debido a su alta capacidad de absorción y retención de agua y de modificación de la viscosidad de sistemas acuosos, así como por su aporte de compuestos con actividad antioxidante y otros nutrientes característicos de la fibra dietaria. Existen diferentes productos

alimentarios donde se podrían aplicar estos CFD, como por ejemplo, productos horneados como galletitas, en los cuales ayudarían a mantener el estado vítreo durante el almacenamiento; emulsiones alimenticias aceite/agua, en los cuales podrían contribuir a la estabilidad en el almacenamiento y aportar actividad antioxidante contra la rancidez; helados, en los cuales podrían contribuir a evitar la cristalización de la lactosa.

CAPÍTULO IV

UTILIZACIÓN DE CONCENTRADOS DE FIBRA DIETARIA COMO ESTABILIZANTES EN LA PRODUCCIÓN DE EMULSIONES ACEITE/AGUA

RESUMEN DEL CAPÍTULO IV

Teniendo en cuenta todas las propiedades y características de los concentrados de fibra dietaria (CFD) descritas hasta este momento, se eligió una aplicación alimenticia para analizar el efecto de su incorporación. Los cuatro CFD obtenidos, fueron incorporados en las formulaciones de emulsiones aceite en agua, tipo aderezos, evaluando su estabilidad durante el almacenamiento. Se encontró que la adición de CFD de pulpa, obtenido por ambos métodos de secado, en las emulsiones, evitó la aparición de cremado, al menos durante las 18 semanas de almacenamiento. Algunas de las emulsiones que contenían CFD de cáscara, a partir de la semana 6, presentaron separación de fases (cremado) y aparición de una capa de suero. Por otra parte, se observó un decaimiento en la formación de peróxidos en las emulsiones, cuando se incrementó el porcentaje de CFD. Adicionalmente, los CFD de cáscara produjeron un menor índice de peróxidos que los CFD de pulpa. Los aderezos con 5% (m/m) de CFD de pulpa fueron adecuadamente aceptados por un panel no entrenado. Por todo ello, algunos de los productos obtenidos en este trabajo permitirían sustituir parcial y/o totalmente, un estabilizante comúnmente utilizado como la goma xántica y además, podrían otorgar actividad antioxidante a la emulsión.

OBJETIVOS DEL CAPÍTULO IV

- Utilizar los CFD de pulpa y cáscara producidos, para la formulación de emulsiones aceite en agua, tipo aderezo.
- Evaluar la estabilidad al cremado de las emulsiones durante el almacenamiento.
- Determinar el tamaño de gota de las emulsiones formuladas, durante el periodo de almacenamiento.
- Determinar el efecto antioxidante de los CFD, respecto a la producción de peróxidos en las emulsiones, al final del almacenamiento.
- Evaluar la aceptabilidad sensorial de algunos de los aderezos formulados.

IV. 1. INTRODUCCIÓN

IV.1.1. Emulsiones alimenticias

Una emulsión se compone de dos líquidos inmiscibles, con uno de ellos disperso como pequeñas gotas esféricas en el otro líquido (McClements, 2005). El diámetro medio de las gotas en los productos alimenticios emulsificados, típicamente cae en algún intervalo de 0,1 a 100 μm . Las emulsiones pueden ser convenientemente clasificadas de acuerdo con la distribución espacial relativa de las diferentes fases. Una emulsión que consiste en gotas de aceite dispersadas en una fase acuosa es denominada como de aceite en agua (O/W), como por ejemplo, leche, crema, helados, aderezos, mayonesa, bebidas, sopas y salsas (McClements, 2007).

Una emulsión que consiste en gotas de agua dispersadas en una fase de aceite se conoce como una emulsión agua en aceite (W/O), como por ejemplo, la mantequilla, la margarina y algunas pastas para untar. El material que compone las gotas, por lo general se conoce como la fase dispersa, fase discontinua o fase interna, mientras que el material que conforma el líquido circundante se conoce como la fase de dispersión, fase continua o fase externa (McClements, 2007).

También es posible crear varios tipos de emulsiones múltiples, por ejemplo, de aceite en agua en aceite (O/W/O), agua en aceite en agua (W/O/W), aceite en agua en agua (O/W/W) (Friberg, Larsson, & Sjoblom, 2004; Garti, 1997a, 1997b; Garti & Bisperink, 1998).

El proceso de conversión de aceite y agua en una emulsión, o de reducir el tamaño de las gotas ya existentes en una emulsión, se conoce como "homogeneización" (Pieter Walstra, 1993). En la industria alimentaria, la homogeneización se consigue normalmente mediante la aplicación de intensa agitación mecánica a una mezcla líquida usando un dispositivo mecánico conocido como un "homogeneizador", por ejemplo, un

mezclador de alto cizallamiento, un homogeneizador de válvula de alta presión, un molino coloidal, microfluidizador o un homogeneizador ultrasónico (McClements, 2005).

La preparación de emulsiones que sean cinéticamente estables durante un período de tiempo que es de uso práctico para la industria alimentaria (por ejemplo, días, semanas, meses o años), requiere de la incorporación de sustancias conocidas como estabilizadores (McClements, 2007).

IV.1.2. Estabilizadores de emulsiones

Los estabilizadores pueden clasificarse de acuerdo con su modo de operación, ya sea como "emulsionantes" o "modificadores de textura". Un emulsionante es una sustancia con actividad interfacial que se adsorbe a la superficie de las gotas de emulsión para formar una capa protectora que evita la agregación de las gotas una contra la otra, por ejemplo, algunas proteínas, polisacáridos, fosfolípidos, pequeñas moléculas surfactantes y partículas sólidas (Stauffer, 1999; Whitehurst, 2004). Un emulsionante también reduce la tensión interfacial y por lo tanto facilita la ruptura de gotas de la emulsión durante la homogeneización, lo cual ayuda a la formación de emulsiones que contienen gotas más pequeñas (Walstra, 2003).

Un modificador de textura es una sustancia que, o bien aumenta la viscosidad de la fase continua ("agente espesante") o forma una red de gel dentro de la fase continua ("agente gelificante"), retrasando así el movimiento de las gotas debido a la gravedad o el movimiento browniano. Además, proporciona al producto atributos de textura característicos (Cui, 2005; Doublier & Cuvelier, 2006).

Algunos tipos de polisacáridos y proteínas se pueden utilizar como ingredientes espesantes o gelificantes en emulsiones alimenticias, incluyendo almidón, almidón modificado, celulosa, celulosa modificada, pectina, alginato, carragenina, gelatina,

proteína de suero, caseinato, proteína de soja y proteína de huevo (Cui, 2005; D J McClements, 2005).

Muchos estabilizantes y espesantes son polisacáridos, como la goma arábica, goma guar, goma xántica, carboximetilcelulosa, carragenato, almidón y pectinas. Como son sustancias hidrofílicas y se dispersan en solución como los coloides, se han denominado hidrocoloides. Muchos hidrocoloides se utilizan ampliamente por las singulares características texturales, estructurales y funcionales que imparten a los alimentos, proporcionando estabilidad a emulsiones, suspensiones y espumas y por sus propiedades espesantes en general. La mayoría de las gomas proceden de fuentes naturales, como semillas y exudados de plantas, aunque otros se modifican químicamente para conseguir las características deseadas. Los hidrocoloides se utilizan generalmente en concentraciones menores o iguales al 2%, ya que muchos presentan una capacidad limitada de dispersión y la funcionalidad deseada se logra a esas concentraciones. En muchas ocasiones la eficacia de los hidrocoloides está relacionada con su capacidad de aumentar la viscosidad, siendo este uno de los mecanismos por el cual los hidrocoloides estabilizan las emulsiones aceite en agua (Castro, 2006).

La goma xántica es un exopolisacárido producido por la bacteria *Xanthomonas campestris* y puede considerarse un polielectrolito aniónico. Su estructura primaria consiste de un esqueleto de glucosas unidas por enlaces β -1,4, como en la celulosa, pero cada dos residuos de glucosa existe una cadena lateral constituida por un trisacárido cargado de unidades de β -D-manopiranosil- β -(1 \rightarrow 4)-D-glucuronopiranosil-(1 \rightarrow 2)-6-o-acetil- β -D-manopiranosil y, aproximadamente la mitad de ellos tienen un ácido pirúvico unido al acetal cíclico (BeMiller & Daniels, 2002). El éxito comercial de esta goma se debe a su elevada viscosidad, tolerancia al NaCl, estabilidad térmica y compatibilidad para ser utilizada en alimentos (Kwon, Foss, & Rha, 1987). Cada molécula está constituida por unos 7000 pentámeros, su peso molecular se encuentra en el rango comprendido entre 0,9-1,6 millones Da y es menos polidispersa que la

mayoría de los hidrocoloides. Las moléculas de goma xántica que poseen mayor proporción de ácido pirúvico son las que originan soluciones de mayor viscosidad y estabilidad térmica (BeMiller y Danlels, 2002).

IV.1.3. Mecanismos de inestabilidad en una emulsión

El término "estabilidad" de una emulsión es ampliamente utilizado para describir la habilidad de una emulsión para resistir cambios en sus propiedades fisicoquímicas a lo largo del tiempo (McClements, 2005).

Durante el análisis de estabilidad, es importante identificar claramente los mecanismos físicos y/o químicos dominantes responsables de la inestabilidad de una emulsión, ya que esto determinará la estrategia más efectiva para garantizar su vida útil. Las emulsiones alimentarias pueden ser inestables debido a diferentes mecanismos físico-químicos (Friberg et al., 2004; McClements, 2005), incluyendo separación gravitacional (formación de crema/sedimentación), floculación, coalescencia, coalescencia parcial, maduración de Ostwald inversión de fases (Figura IV.1.1)

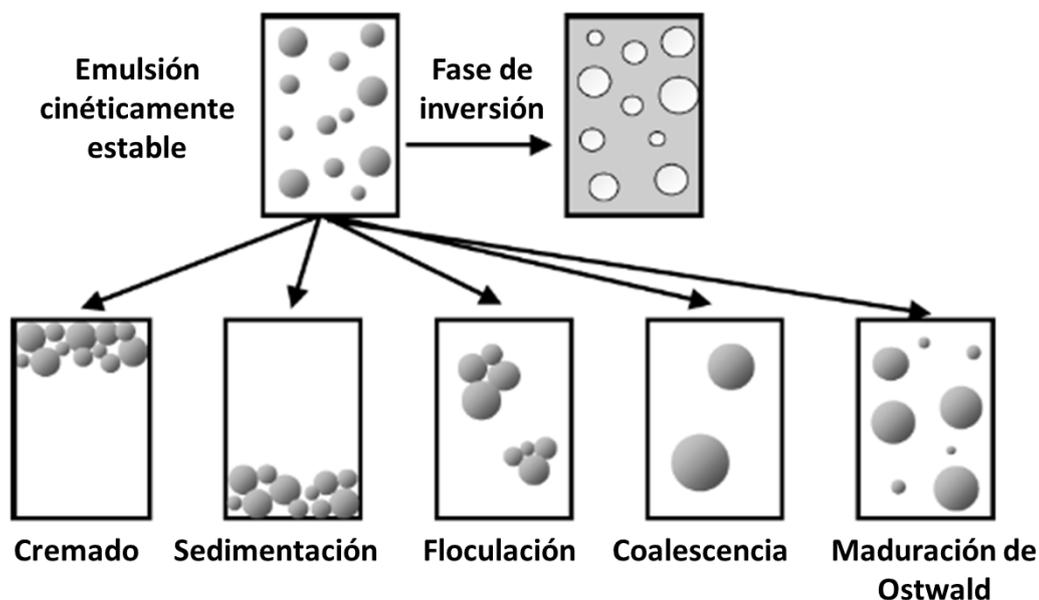


Figura IV.1.1. Fenómenos de inestabilidad en emulsiones alimenticias. Adaptado de McClements, (2007).

La separación gravitatoria, es el proceso mediante el cual las gotas se mueven hacia arriba (cremado) debido a que tienen una densidad menor que el líquido circundante, o hacia abajo (sedimentación) debido a que tienen una mayor densidad que el líquido circundante. La floculación es el proceso por el que dos o más gotas se adhieren para formar un agregado en el que cada una de las gotas iniciales conserva su integridad individual.

La coalescencia es el proceso por el que dos o más gotas se unen entre sí para formar una sola gota de mayor tamaño. La coalescencia parcial es el proceso por el cual dos o más gotas parcialmente cristalinas se funden entre sí para formar un único agregado de forma irregular debido a la penetración de cristales sólidos de una gota en una región de fluido de otra gota.

La maduración de Ostwald, es el proceso mediante el cual las gotas más grandes crecen a expensas de las gotas más pequeñas debido al transporte de masa del material de la fase dispersa a través de la fase continua.

La inversión de fases es el proceso por el cual una emulsión aceite en agua, cambia a una emulsión agua en aceite, o viceversa. Cabe destacar que estos diversos mecanismos de inestabilidad fisicoquímicos están a menudo relacionados entre sí. Por ejemplo, un aumento del tamaño medio de las partículas debido a la floculación, coalescencia o a la maduración de Ostwald por lo general conlleva a un aumento en la inestabilidad de las gotas en la separación gravitacional (McClements, 2007).

Por otra parte, si las gotas permanecen en un prolongado contacto debido a la separación gravitacional o floculación, ellas son más susceptibles a la coalescencia. En consecuencia, el mecanismo de inestabilidad responsable de la manifestación visual de la rotura de la emulsión no necesariamente es la razón por la que la emulsión se vuelve inestable. Por ejemplo, se podría observar visualmente una rápida formación de cremado en una emulsión, pero esto, puede ser el resultado de la agregación de las

gotas. Por lo tanto, puede ser más importante adoptar una estrategia que evite la agregación de gotas, en lugar de uno que evita la formación del cremado de las gotas (McClements, 2007).

En la Figura IV.1.2, se representan los cambios en la distribución espacial de las gotas de una emulsión estable a una inestable. Se representa mediante tres estados, el primer estado para una emulsión estable, se representa como un sistema de una capa, el segundo estado se representa como un sistema de tres capas. En este sistema se empieza a detectar una capa de suero en el fondo, una capa intermedia de emulsión estable y una capa superior de crema, la cual corresponde a gotas separadas de forma gravitacional. Y finalmente un tercer estado o sistema de dos capas donde la emulsión está totalmente separada y solo se observa una capa de suero en el fondo y una capa superior de crema.

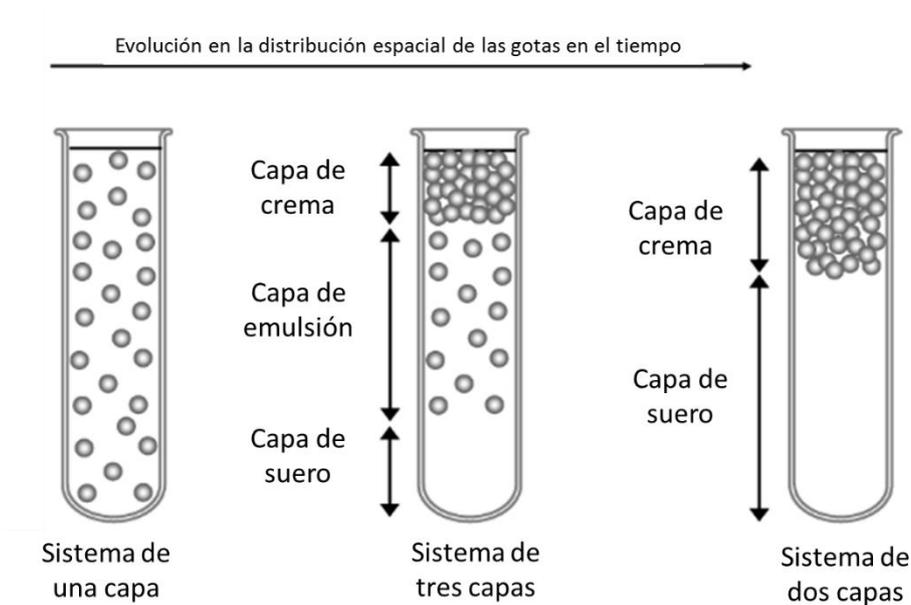


Figura IV.1.2. Cambios en la distribución espacial de las gotas en una emulsión en el tiempo. Adaptado de McClements, (2007).

IV.1.4. Características de gota

Las propiedades fisicoquímicas de una emulsión, están ampliamente influenciadas por las características de la gota que ellas contienen, por ejemplo su concentración, tamaño, carga, propiedades interfaciales e interacciones (Friberg et al., 2004; D J McClements, 2005).

IV.1.4.1. Concentración de gotas

La concentración de las gotas en una emulsión influencia su textura, apariencia, estabilidad, atributos sensoriales y calidad nutricional. La concentración de gotas es usualmente caracterizada en términos de la fracción de volumen de la fase dispersa, el cual es igual al volumen de gotas de la emulsión, dividido el volumen total de la emulsión. En otras ocasiones la concentración de gotas también se puede expresar en términos de la fracción de masa de la fase dispersa, lo cual es igual a la masa de las gotas de la emulsión dividida la masa total de la emulsión.

IV.1.4.2. Tamaño de gota

El tamaño de gota en una emulsión tiene un fuerte impacto sobre su estabilidad (por ejemplo, en la separación gravitacional, floculación y coalescencia), sus propiedades ópticas (la luminosidad y color), su reología (viscosidad o módulo), y sus atributos sensoriales (cremosidad) (McClements, 2005). Por tanto, es importante medir con fiabilidad y especificar con precisión el tamaño de las gotas presentes dentro de una emulsión.

Cuando todas las gotas en una emulsión tienen el mismo tamaño, se hace referencia a una emulsión como monodispersa. La medición del radio o diámetro de gota, se puede utilizar para caracterizar el tamaño de las gotas, siendo importante especificar, si se hace referencia al diámetro o radio. En la práctica, las emulsiones de alimentos contienen una gama de diferentes tamaños de gota, y por lo tanto el tamaño se

denomina como polidisperso (McClements, 2007). Al construir o interpretar una distribución de tamaño de las partículas, es importante prestar especial atención a la manera en que se presenta la concentración y el tamaño de las mismas. La concentración de partículas se presenta usualmente como el porcentaje en volumen (% en volumen) o el porcentaje en número (% en número) de las mismas dentro de una clase de tamaño particular. Las emulsiones polidispersas pueden caracterizarse como monomodales, bimodales o multimodales dependiendo de si hay uno, dos o más picos en la distribución del tamaño de partícula. El tamaño de las partículas se especifica generalmente en términos del diámetro (d) o el radio (r). Los tres valores medios de tamaño de partícula comúnmente usados son el diámetro medio ponderado en número ($d_{10} = \sum n_i d_i / \sum n_i$), el diámetro medio ponderado en superficie ($d_{3,2} = \sum n_i d_i^3 / \sum n_i d_i^2$) y el diámetro medio ponderado en volumen ($d_{4,3} = \sum n_i d_i^4 / \sum n_i d_i^3$) donde n_i es el número de gotas de diámetro d_i . En general, el diámetro medio ponderado en volumen es más sensible a la presencia de partículas grandes que el diámetro medio ponderado en número (McClements, 2007).

IV.1.4.3. Carga de las gotas

Las gotas en la mayoría de las emulsiones alimenticias tienen una carga eléctrica debido a la adsorción de moléculas que son ionizables a su superficie, por ejemplo, proteínas, ciertos polisacáridos, agentes tensoactivos iónicos, fosfolípidos y algunos pequeños iones (McClements, 2005). Las características eléctricas de una superficie de gota dependen del tipo y la concentración de la especie ionizada presente en la superficie, así como de la composición iónica y las propiedades físicas del líquido circundante. La carga en una gota de emulsión es importante porque determina la naturaleza de sus interacciones con otras especies cargadas (por ejemplo, iones pequeños, macromoléculas o partículas coloidales) o su comportamiento en presencia de un campo eléctrico (por ejemplo, en la electroforesis). La agregación de las gotas en

muchas emulsiones de alimentos es impedida mediante el uso de emulsionantes iónicos que se adsorben a su superficie y evitan que se junten debido a repulsiones electrostáticas (Friberg et al., 2004; McClements, 2005).

IV.1.4.4. Propiedades interfaciales

La interfaz de las gotas consiste en una región estrecha (≈ 1 a 50 nm de espesor) que rodea cada gota de emulsión, y contiene una mezcla de aceite, agua, y moléculas de emulsificante, así como posiblemente otros tipos de moléculas e iones (por ejemplo, iones minerales, polielectrolitos hidrófilos, componentes anfífilos). La región interfacial sólo representa una fracción significativa del volumen total de una emulsión cuando el tamaño de la gota es inferior a aproximadamente 1 μm (McClements, 2005). Aun así, puede tener un impacto apreciable en muchas de las propiedades fisicoquímicas y propiedades sensoriales más importantes de las emulsiones alimentarias, incluyendo su estabilidad, reología y sabor. Por esta razón, investigadores del área de ciencia y tecnología de los alimentos están particularmente interesados en el conocimiento de los factores que determinan la composición, la estructura, el grosor, la reología y la carga de la región interfacial. Las propiedades de la región interfacial se determinan por el tipo, la concentración y las interacciones de cualquier especie presente en la superficie, así como por los acontecimientos que se producen antes, durante y después de la formación de la emulsión (McClements, 2007).

IV.1.5. Interacciones coloidales

Las interacciones coloidales determinan si las gotas de la emulsión permanecen como entidades separadas, asimismo determinan las características de los agregados formados, por ejemplo, su tamaño, forma, porosidad y deformabilidad (Friberg et al., 2004; McClements, 2005). La estabilidad al cremado y la reología de muchas

emulsiones de alimentos dependen del grado de agregación de las gotas y de la naturaleza de los agregados formados (McClements, 2007).

En la Figura IV.1.3, se esquematiza, el proceso progresivo de formación del cremado a través del tiempo en una emulsión conteniendo un sistema polidisperso de tamaño de gota.

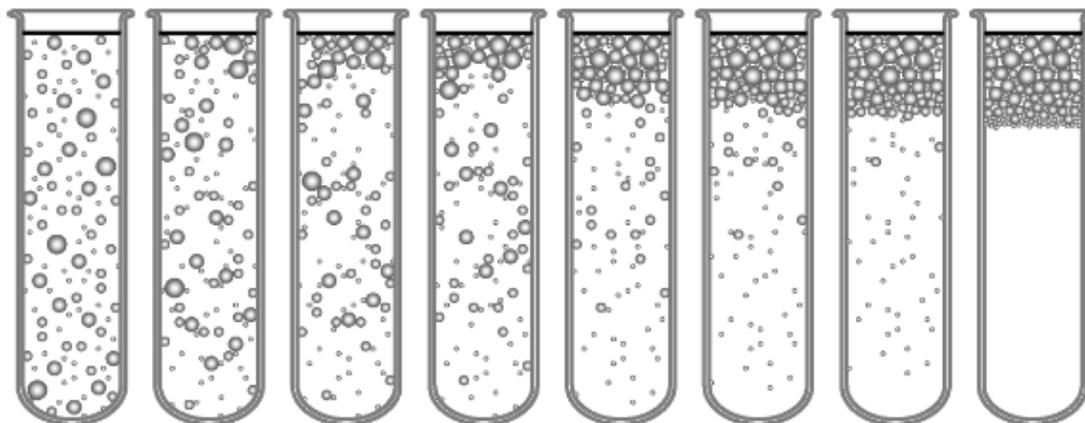


Figura IV.1.3. Etapas en el proceso de formación del cremado en una emulsión alimenticia. Adaptado de (McClements, 2007).

IV.1.6. Emulsiones aceite en agua, salsas y aderezos

Los primeros aderezos para ensalada fabricados comercialmente comenzaron a aparecer en el mercado alrededor de 1912 (Worrel, 1951). Las mayonesas, los aderezos a base de mayonesa y los aderezos verticales son los productos más comúnmente comercializados (Castro, 2006). La preservación de estos productos usualmente depende de la disminución del pH, por agregado de ácido acético y/o cítrico, de la depresión de la actividad de agua por adición de cloruro de sodio, y de la inclusión de preservadores tales como ácido sórbico y/o benzoico y de EDTA. El pH del producto oscila habitualmente entre 2,9 y 4,4 condición de la cual resulta principalmente responsable la presencia de ácido acético. El ácido acético y otros ácidos orgánicos, como el cítrico, resultan importantes ya que confieren al producto su flavor característico y a su vez constituyen los agentes preservadores primarios.

El contenido de aceite de los aderezos varía ampliamente desde 0,5%. Los valores más altos corresponden a formulaciones de mayonesas, las cuales pueden alcanzar el 85% de contenido de aceite (Sheldrake, 2003). La amplia variedad en los niveles de aceite es debida a las necesidades del mercado, ya que permite a los consumidores seleccionar el producto de acuerdo al contenido calórico, los niveles de grasas y, por supuesto, el sabor y textura del producto. Los aceites comestibles más comúnmente utilizados son los de girasol y maíz, aunque actualmente se han introducido fuentes de ácidos grasos omega-3 y alfa-linolénico tales como los aceites de oliva, canola y soja, los cuales pueden ayudar a prevenir el riesgo de enfermedades coronarias (Pszczola, 2001).

Tradicionalmente, los aderezos se elaboran con aceite, vinagre, agua y varios Ingredientes adicionales que proveen el flavor particular de cada tipo de aderezo. Tales Ingredientes resultan tan variados como por ejemplo tomates, especias, vegetales en trozos, frutas secas, quesos, miel, etc. A partir de la década del 80, se comenzaron a elaborar aliños menos ácidos (con menor contenido de vinagre) y reducidos en calorías (con menor contenido lipídico). Con ambas reducciones, la estabilidad microbiológica del producto puede verse comprometida puesto que al descender el contenido de ácido acético, el pH aumenta, y al disminuir el contenido de aceite, se incrementa la fase acuosa, lo que a su vez disminuye la concentración de sales y de ácidos orgánicos en esta fase (Smittle & Cirigliano, 1994).

En los trabajos de Worrel, (1951), se sugirió que la vida útil de un aderezo correctamente preparado debe ser de 3 a 6 meses. Sin embargo, es común que la industria disponga tiempos más prolongados de vida útil para estos productos (entre 9 y 12 meses). Smittle & Cirigliano, (1994), informaron que la vida de anaquel de los distintos aderezos se determina principalmente por las características físicas y químicas del producto más que por su estabilidad microbiológica.

IV.1.7. Oxidación lipídica en emulsiones aceite en agua

Hoy en día, muchos consumidores buscan alimentos más saludables y con un contenido menor de aditivos, como por ejemplo los antioxidantes sintéticos. Es por esto, que la oxidación de lípidos en los alimentos formulados se ha convertido en una preocupación por parte de los fabricantes de alimentos (Berton-Carabin, Ropers, & Genot, 2014).

Desde la elaboración de las emulsiones hasta su uso final, incluyendo su digestión en el tracto digestivo, éstas son sometidas a distintos tratamientos. En presencia de oxígeno, los componentes químicamente reactivos pueden ser oxidados. Entre ellos, los ácidos grasos polinsaturados, son los más propensos a las reacciones de oxidación. La oxidación de los lípidos tiene un efecto perjudicial sobre las cualidades tecnológicas, sensoriales y nutricionales de los alimentos. Las reacciones de oxidación, producen compuestos que pueden ser percibidos como desagradables al olfato, lo cual afecta negativamente la calidad sensorial de los productos (Frankel, 2005). La oxidación de lípidos además causa pérdida de compuestos de interés nutricional y, además, conlleva a la formación de radicales libres y compuestos potencialmente tóxicos (Awada et al., 2012). Algunas de las estrategias empleadas por la industria para prevenir la oxidación lipídica, incluyen el uso de empaquetamiento al vacío, exposición a atmósferas modificadas, almacenamiento a bajas temperaturas, encapsulación de los compuestos sensibles añadidos y/o adición de antioxidantes. Diferentes estudios realizados, han determinado que la región interfacial donde se produce el contacto entre la fase oleosa y la fase acuosa, representa un área particularmente crítica, respecto a las reacciones de oxidación de los lípidos (Berton-Carabin et al., 2014).

La oxidación de los lípidos consiste en la reacción del oxígeno molecular con ácidos grasos insaturados. Esta reacción es descrita como una reacción en cadena, la cual se produce en etapas: iniciación, propagación y terminación. La oxidación de lípidos ocurre generalmente más temprano y más rápido en las emulsiones que en el aceite crudo para un determinado tipo de aceite. La oxidación favorecida o inducida por la

emulsión puede ser atribuida a varias causas. En primer lugar, se supone que la formación del área interfacial entre el aceite y la fase acuosa promueve los contactos entre lípidos insaturados y compuestos prooxidantes, tales como iones metálicos, disueltos en la fase acuosa. Asimismo, un alta área interfacial, podría favorecer la accesibilidad del oxígeno disuelto en la fase acuosa hacia la fase oleosa. En segundo lugar, el propio proceso de emulsificación, podría promover la oxidación mediante la incorporación de oxígeno y el sobrecalentamiento, debido al esfuerzo cortante o la producción directa de radicales libres por cavitación acústica en el caso de la sonicación (Berton-Carabin et al., 2014). Entre los métodos más utilizados para controlar el grado de oxidación y la formación de hidroperóxidos en los lípidos, se encuentra, el método oficial del índice de peróxido, AOCS Cd 8-53 (Crowe & White, 2001), el método que cuantifica las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (Ifesan, Siripongvutikorn, & Voravuthikunchai, 2009) y el método de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (Hayati, Che Man, Tan, & Aini, 2005).

IV.1.8. Análisis sensorial de alimentos

Las pruebas realizadas para determinar la aceptación de un producto, son un componente valioso y necesario de los programas de análisis sensorial. Las pruebas de aceptación determinan la preferencia o nivel de gusto de un producto. La preferencia, es la manifestación de interés por un producto respecto a otro. La preferencia se puede medir directamente mediante la comparación de dos o más productos entre sí para verificar, cuál de los productos se prefiere. En estos ensayos, se produce una medición de la preferencia, mediante la determinación de cual producto es calificado significativamente más alto que otro producto, o qué producto es calificado más alto que otro por un número significativamente mayor de personas (Stone, Bleibaum, & Thomas, 2012).

Dos de los métodos más utilizados para medir la preferencia y aceptación de productos, son las pruebas de comparación pareadas y la escala hedónica de 9 puntos, respectivamente. En la literatura se pueden encontrar otros métodos, que son variaciones de estos dos métodos. La escala hedónica de 9 puntos, es un método fácil de entender para los consumidores o panelistas no entrenados y muchas empresas en el mundo la utilizan, obteniendo resultados satisfactorios en términos de confiabilidad y validez. Los cálculos en base a los resultados obtenidos producirán medias, información de la varianza y distribuciones de frecuencia, parámetros que permitirán cuantificar las diferencias entre los productos y entre los sujetos. Los resultados también pueden ser procesados y analizados para proveer información acerca de las diferencias en cuanto a preferencias por un producto, como por ejemplo luego de un análisis de varianza o de una prueba t (Stone et al., 2012).

IV.2. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.2.1. Producción de emulsiones aceite en agua, formuladas con concentrados de fibra dietaria

Los CFD de pulpa y cáscara deshidratados mediante las dos metodologías estudiadas, fueron utilizados para formular emulsiones tipo aderezos, con el objetivo de analizar el efecto de esta incorporación en la estabilidad y efecto antioxidante de dichos productos durante el almacenamiento.

Para la producción de las emulsiones se utilizó una formulación base para todos los sistemas ensayados, la cual se compuso de: aceite de girasol comercial marca Cocinero (Molinos Rio de la Plata, BA, ARGENTINA), Agua desionizada Milli-Q, (relación aceite:agua 42:58), solución de ácido cítrico 5% (m/v) (Anedra, Argentina, PA), Tween 80 (Alkest, Mejico, calidad alimentaria), sorbato de potasio (Parafarm, Argentina, calidad alimentaria), cloruro de sodio y azúcar (calidad alimentaria). Para la formulación, los concentrados de fibra dietaria (CFD-CV y CFD-MW de pulpa y cáscara), y la goma xántica (GX) (Cargill, Argentina, calidad alimentaria) se ensayaron en diferentes proporciones, para evaluar su efecto en la estabilidad de las emulsiones en el tiempo. Las formulaciones realizadas, se resumen en la Tabla IV.2.1.

Tabla IV.2.1. Formulaciones ensayadas para la producción de emulsiones tipo aderezo.

| | Formulación 1 | Formulación 2 | Formulación 3 | Formulación control |
|-------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------------|
| Aceite (mL) | 21,6 | 21,6 | 21,6 | 21,6 |
| agua (mL) | 21,6 | 21,6 | 21,6 | 21,6 |
| Solución de ácido cítrico (5%) (mL) | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 6,0 |
| Tween 80 (mL) | 0,27 | 0,27 | 0,27 | 0,27 |
| Sorbato de potasio (g) | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 |
| NaCl (g) | 0,075 | 0,075 | 0,075 | 0,075 |
| Azúcar (g) | 1,750 | 1,750 | 1,750 | 1,750 |
| GX (g) | 0 | 0,051 | 0,103 | 0,257 |
| CFD (g) | 2,566 | 1,540 | 1,026 | 0 |

CFD, Significa concentrado en fibra dietaria. GX, significa goma xántica.

Cada CFD, se adicionó en tres porcentajes (5%, 3% y 2% m/m) (Tabla IV.2.1), bajo la premisa que estos productos, podrían sustituir parcial o totalmente el uso de la goma xántica como estabilizante de las emulsiones, por lo cual los porcentajes de GX utilizados fueron 0,2%, 0,1% y 0% m/m (Tabla IV.2.1). Las mezclas CFD - GX fueron respectivamente (5% - 0%), (3% - 0,1%) y (2% - 0,2%). Adicionalmente, una emulsión control, sin CFD, se formuló con 0,5% (m/m) de goma xántica a fin de garantizar la estabilidad durante el almacenamiento. Los ingredientes utilizados fueron elegidos teniendo en cuenta la legislación establecida por el Código Alimentario Argentino.

Las emulsiones se produjeron siguiendo el procedimiento que se describe a continuación. Los CFD, junto con la GX se dispersaron en la fase acuosa y se dejaron hidratar durante 12 horas con agitación magnética. Posteriormente se agregaron los demás ingredientes sólidos y el sistema fue homogenizado. Por último se agregó el aceite previamente mezclado con el Tween 80. La emulsión fue preparada utilizando un equipo Ultra-Turrax Basic T25 Homogenizer y una punta de agitación S25N-25F (IKA Works Inc., Wilmington, NC). La emulsión se realizó a una velocidad inicial de 6500 min^{-1} durante un minuto para la homogenización de los ingredientes y a continuación tres minutos a 24000 min^{-1} para la emulsificación. Todos los sistemas se almacenaron en heladera a 8°C en tubos de 15 mL (Figura IV.3.1). A las 24 horas denominado tiempo 0 y a lo largo del almacenamiento se controló el tamaño de gota hasta las 18 semanas.

IV.2.2. Control de estabilidad de las emulsiones

La estabilidad de las emulsiones se llevó a cabo mediante observación visual, para detectar separación de fases y/o aparición de una capa de suero en la parte inferior del tubo. Además, durante el almacenamiento, se midió el tamaño de gota en las emulsiones. Adicionalmente se midió el tamaño de partícula de una solución acuosa control, conteniendo 5% (m/m) de CFD-MW de pulpa. El tamaño de gota se informó como el diámetro medio ponderado en superficie ($d_{3,2}$).

Se utilizó un equipo Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, UK.) La velocidad de la bomba fue configurada a 1800 min^{-1} , registrando el promedio de 10 mediciones.

IV.2.3. Porcentaje de suero separado

Cuando se evidenció una separación de fases se midió el porcentaje del volumen de suero separado, respecto al volumen de emulsión.

IV.2.4. Índice de peróxidos en las emulsiones

Se determinó el índice de peróxido (IP) de las emulsiones como la cantidad de peróxidos formados en la parte oleosa de la emulsión al final del almacenamiento. La parte oleosa fue obtenida luego de romper la emulsión. Este proceso se llevó a cabo mediante la congelación y descongelación de la misma, seguido de una centrifugación a $10062 \times g$ durante 20 minutos (Chabrand Morales, 2007). Una vez separada la fase oleosa se determinó el IP mediante el método AOCS Cd 8-53. Para ello, 2 gramos de la fase oleosa separada gravimétricamente, se mezclaron con 30 mL de una mezcla acético:cloroformo 3:2 (v/v). La mezcla se homogenizó con 0,5 mL de ioduro de potasio saturado durante 1 minuto. A continuación 30 mL de agua fueron adicionados. Se utilizó solución 0,01 N de tiosulfato para la titulación y solución de almidón 1 g/100mL como indicador. Adicionalmente se midió el IP del aceite inicial. Los resultados se expresaron como miliequivalentes de peróxido por kilogramo de la fase oleosa de la emulsión.

IV.2.5. Análisis sensorial

Se realizó un ensayo de análisis sensorial para evaluar la aceptación y/o preferencia los aderezos (emulsiones) producidos. Se eligieron tres de los aderezos producidos en esta investigación para realizar este análisis; los cuales fueron: los dos aderezos formulados con 5% (m/m) de CFD de pulpa, deshidratados por microondas o convección y el aderezo formulado con 3% (m/m) de CFD de cáscara y 0,1% (m/m) de goma xántica.

Para la elección de estas formulaciones se tuvo en cuenta que las que tenían 5% (m/m) de CFD de pulpa, fueron estables al cremado sin el agregado de un hidrocoloide comercial y además nutricionalmente son las que representarían un mayor aporte de fibra dietaria. Mientras que la formulación que contenía 3% (m/m) de CFD-MW de cáscara y 0,1 % (m/m) de goma xántica fue la que presentó una reducción significativa en el índice de peróxidos y además, dentro de las emulsiones con CFD de cáscara, fue la que presentó mejor estabilidad al cremado.

Se utilizó la formulación base desarrollada para estas emulsiones y se agregó ajo (0,15 % m/m) y cebolla en polvo (0,05% m/m) como condimentos de sabor.

Para llevar a cabo el ensayo sensorial, se contó con la participación de 76 panelistas no entrenados. El ensayo sensorial, se llevó a cabo, teniendo en cuenta las recomendaciones realizadas por Lawless, (2012).

Inicialmente se les preguntó a los panelistas, acerca de la frecuencia de consumo de aderezos, y a continuación se les dieron a probar los tres aderezos mencionados anteriormente. Se les pidió calificar la percepción de gusto o disgusto en cuanto a la aceptabilidad global, la textura, el sabor y el color de los aderezos. Para este ensayo se usó una escala hedónica de 9 puntos (Stone et al., 2012) y se utilizó el cuestionario que consta a continuación.

EVALUACIÓN SENSORIAL DE UN NUEVO ADEREZO

Nombre _____ Fecha _____ Panelista N° _____

Con que frecuencia consume aderezos (marque con una X):

- Frecuentemente (Todos los días).
- Ocasionalmente (dos veces por semana)
- Rara vez (Una vez por mes)

Instrucciones: Pruebe una cantidad suficiente de aderezo y luego marque con una X la calificación que mas se ajuste a su percepción de gusto o de disgusto para los siguientes atributos sensoriales. Ingiera una galletita y enjuague la boca con agua entre cada muestra.

| Puntaje | Percepción | Aceptabilidad global | Textura | Sabor | color |
|---------|----------------------------|----------------------|---------|-------|-------|
| 9 | Me gusta muchísimo | | | | |
| 8 | Me gusta mucho | | | | |
| 7 | Me gusta moderadamente | | | | |
| 6 | Me gusta un poco | | | | |
| 5 | Ni me gusta ni me disgusta | | | | |
| 4 | Me disgusta un poco | | | | |
| 3 | Me disgusta moderadamente | | | | |
| 2 | Me disgusta mucho | | | | |
| 1 | Me disgusta muchísimo | | | | |

Comentarios y/o sugerencias

Para el análisis de los resultados, se registraron las calificaciones de los panelistas y se asignaron puntajes, desde 1 para la percepción de “Me disgusta muchísimo” hasta un puntaje de 9, para la percepción de “Me gusta muchísimo”. Posteriormente, se promedió el puntaje obtenido para cada atributo y para cada uno de los aderezos.

IV.2.5. Análisis estadístico

Un análisis de la varianza One-way ANOVA con un test de Bonferroni *a posteriori*, fue realizado cuando se requirió comparar los resultados de los diferentes ensayos, por medio del utilitario GraphPad Prism versión 5.00, San Diego California USA.

IV.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.3.1. Emulsiones aceite/agua formuladas con concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya

Los resultados obtenidos en los capítulos anteriores demostraron que los CFD tenían un gran potencial para aplicaciones alimentarias como modificadores de la viscosidad y aportadores de actividad antioxidante, tanto a nivel fisiológico como a nivel industrial. Por esta razón, se desarrollaron emulsiones aceite/agua de tipo aderezo que incluían los CFD obtenidos, para verificar las hipótesis anteriormente planteadas. En la Figura IV.3.1 se muestra una imagen de las diferentes emulsiones producidas.

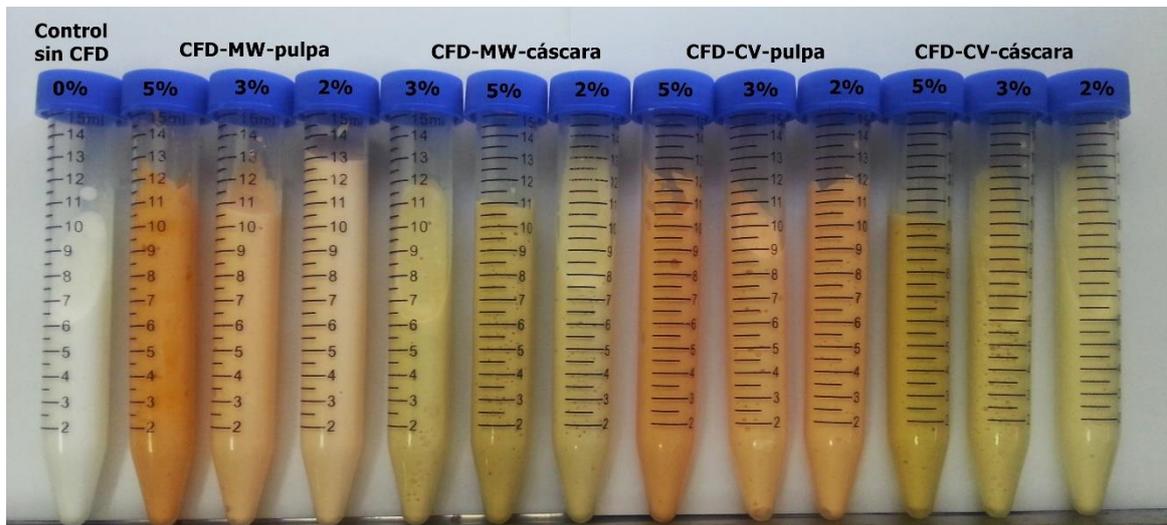


Figura IV.3.1. Sistemas de emulsiones analizados.

Los sistemas obtenidos eran complejos, dado que involucraban una emulsión aceite en agua con la fase acuosa espesada por la presencia de los componentes solubles de los CFD y una suspensión constituida por los componentes insolubles de dichas concentrados.

IV.3.2. Estabilidad de las emulsiones en el tiempo

El primer análisis visual, demostró que ninguna de las emulsiones producidas presentó cremado o separación de fases a las 24 horas de almacenamiento. Luego, de este

intervalo de tiempo, se determinó el tamaño de gota a través del cálculo del diámetro promedio ponderado en número ($d_{3,2}$). Asimismo, la interpretación de la concentración de partículas se determinó como porcentaje en número (% en número), ya que si bien el porcentaje en volumen (% en volumen) ofrece una mayor sensibilidad a los cambios en el tamaño de gota (McClements, 2007), en esta última forma de análisis, las partículas de fibra insoluble suspendidas en la emulsión también son detectadas y cuantificadas, otorgándole a la distribución una característica multimodal con tamaños de partícula entre 0 y 1000 μm , mientras que vista como un porcentaje de concentración en número, la distribución de prevalencia es la monomodal correspondiente a tamaños de gota entre ≈ 0 y 17 μm para todas las emulsiones. Se verificó además que los tamaños de partículas ($d_{3,2}$) en la emulsión con valores alrededor de 10 y 1000 μm correspondían a valores de tamaño para la fibra hidratada. Se llegó a esta conclusión, luego de analizar el tamaño de partícula de los CFD-MW de pulpa en una solución acuosa al 5% (m/m), solución control, mediante la técnica de dispersión de luz láser. A modo de ejemplo, se muestran en las Figuras IV.3.2 y IV.3.3 la distribución del tamaño de partícula en volumen y en número de una solución acuosa control y de una emulsión conteniendo 5% (m/m) de CFD-MW de pulpa.

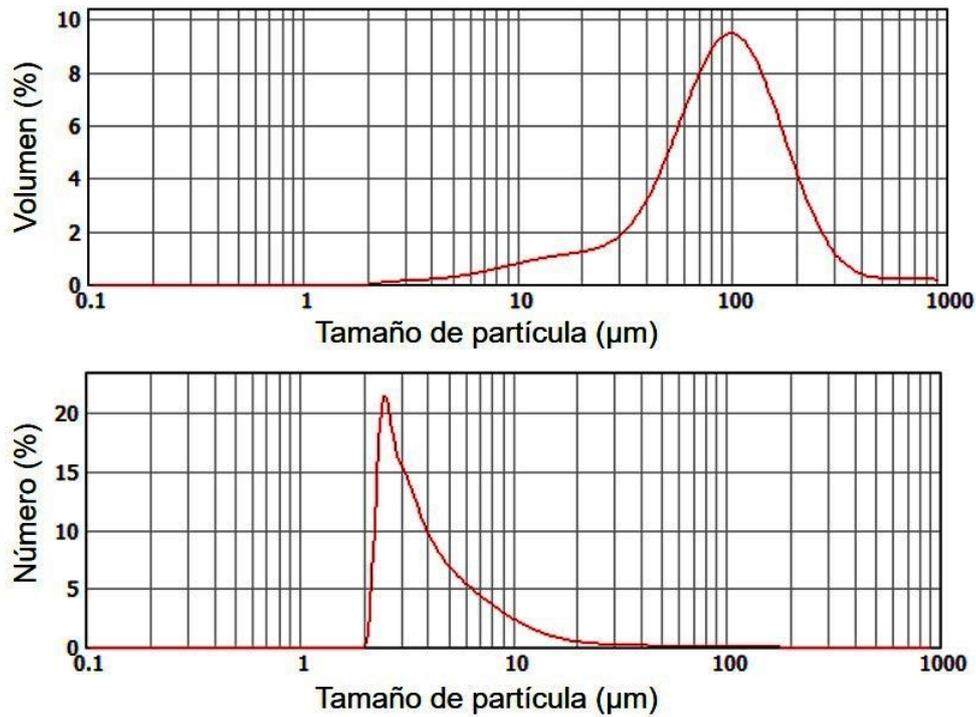


Figura IV.3.2. Distribución de tamaño de partícula de una solución acuosa conteniendo 5% (m/m) de CFD-MW de pulpa en porcentaje en volumen y en número.

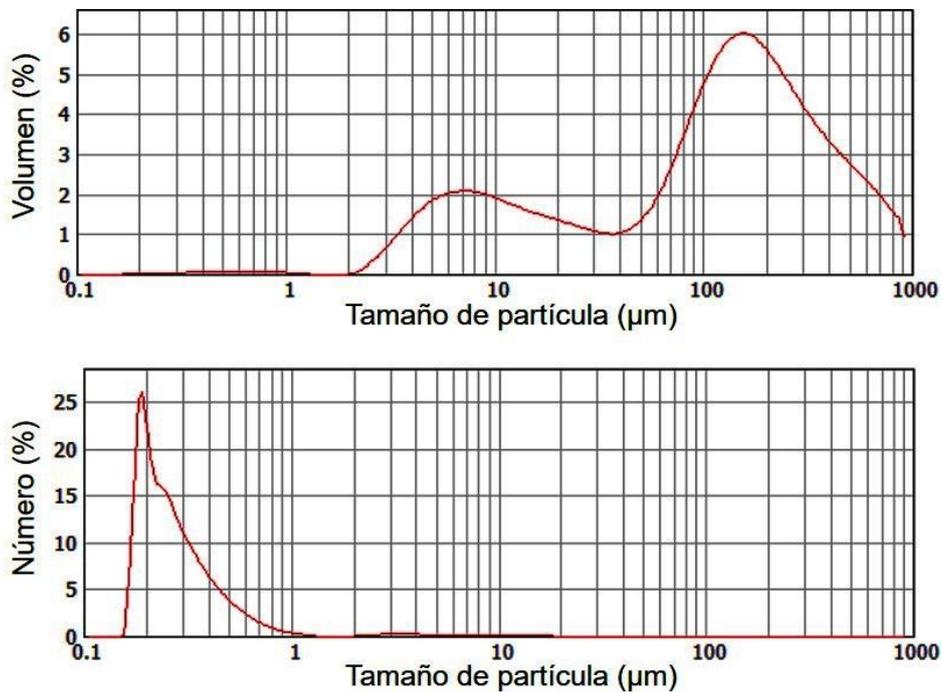


Figura IV.3.3. Distribución de tamaño de partícula de una emulsión conteniendo 5% (m/m) de CFD-MW de pulpa y 0% de GX en porcentaje en volumen y en número.

En general todas las emulsiones presentaron tamaños de gota entre 1 y 2,5 μm durante el almacenamiento (Figuras IV.3.4, IV.3.5, IV.3.6). La formulación con los diferentes tipos y porcentajes de CFD produjo emulsiones con diferente diámetro de gota inicial (tiempo 0) tal y como se puede observar en las figuras nombradas previamente. En general, a las 24 horas, se observó que las emulsiones con CFD de cáscara tuvieron tamaños de gota inicial menores que el de la emulsión control (sin CFD). Se ha reportado que algunas proteínas pueden cumplir la función de emulsificantes durante la producción de emulsiones ayudando a producir menores tamaños de gotas (Akhtar & Dickinson, 2003). En el análisis de la composición química se demostró que todos los CFD contenían proteínas y que además los CFD de cáscara presentaban mayor contenido de proteínas que los de pulpa. Posiblemente las proteínas contenidas en los CFD de cáscara permitieron un proceso de emulsificación más eficiente. En los estudios de Akhtar & Dickinson, (2003), se demostró que un aumento en la concentración de un aislado de proteína del suero en emulsiones aceite/agua, producía menores diámetros de gota iniciales [$d_{(3,2)}$].

Algunas emulsiones formuladas con CFD de cáscara presentaron fenómenos de deterioro (cremado) durante el almacenamiento. Las emulsiones que contenían 3% y 5% (m/m) de CFD de cáscara presentaron cremado entre las semanas 6 y 7 de almacenamiento observándose una capa de suero en el fondo del tubo. La emulsión con 5% (m/m) de CFD-CV de cáscara fue la que presentó mayor cremado, mostrando una mayor capa de suero al finalizar el almacenamiento (Figura IV.3.7); además en la Figura IV.3.6, se observa que esta emulsión presentó un aumento de casi 10 veces el diámetro de gota inicial en la semana 7, posiblemente debido a la coalescencia de las gotas o formación de flóculos, que posteriormente causaron la rotura de la emulsión. Cabe destacar que a pesar de las interferencias de la fibra en la determinación del

tamaño de gota, el método utilizado permitió detectar el aumento del $d_{(3,2)}$ debido a la inestabilidad del sistema.

Entre las emulsiones que presentaron cremado (Figura IV.3.7), las que tenían CFD-CV tuvieron una mayor capa de suero que las que tenían CFD-MW para un mismo porcentaje de agregado. Asimismo, en la Figura IV.3.5 se observa un ligero aumento del tamaño de gota para los sistemas conteniendo 3% (m/m) de CFD de cáscara a partir de la semana 6, probablemente debido a la unión de gotas y medidas como partículas de mayor tamaño.

El menor contenido de ácidos urónicos en los CFD-CV de cáscara (Tabla III.3.1), podría explicar que las emulsiones formuladas con este concentrado presentaran una mayor capa de suero que las formuladas con CFD-MW de cáscara, teniendo en cuenta que las pectinas son compuestos que tienen la capacidad de aumentar la viscosidad de la fase acuosa y disminuir la movilidad de las gotas de la fase dispersa, lo que a su vez hace que se produzca un efecto de protección contra la agregación de gotas y formación de flóculos. Por lo cual se puede inferir que, para estas emulsiones, el porcentaje de concentrado de fibra dietaria y de goma xántica, fue insuficiente para evitar el cremado. La goma xántica es un polisacárido hidrofílico conocido por su habilidad para estabilizar sistemas alimenticios y aumentar su vida-útil (Dickinson, 2003).

Por otra parte las emulsiones con 2% (m/m) de CFD-MW de cáscara, no presentaron cremado al final del almacenamiento. Ello implica que la formulación con 2% (m/m) de este concentrado junto con 0,2% (m/m) de GX fue suficiente para que el producto conserve las características propias de la emulsión al menos durante 18 semanas.

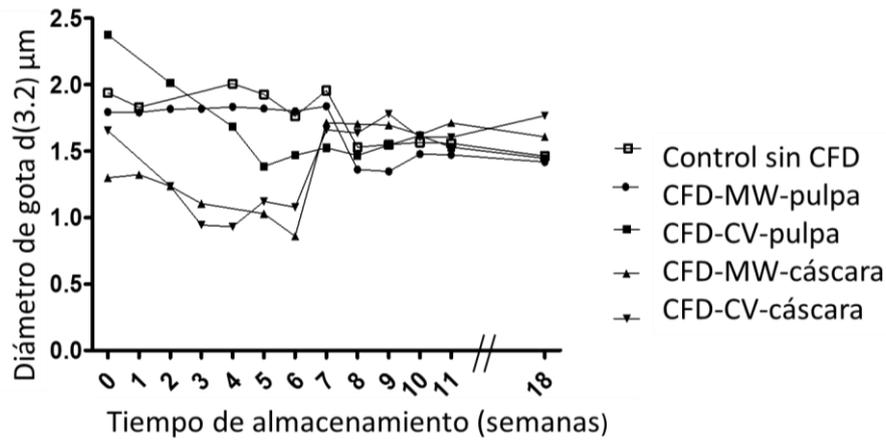


Figura IV.3.4. Tamaño de gota $d(3,2)$ durante las 18 semanas de almacenamiento para las emulsiones formuladas con 2% (m/m) de CFD y 0,2% (m/m) de goma xántica.

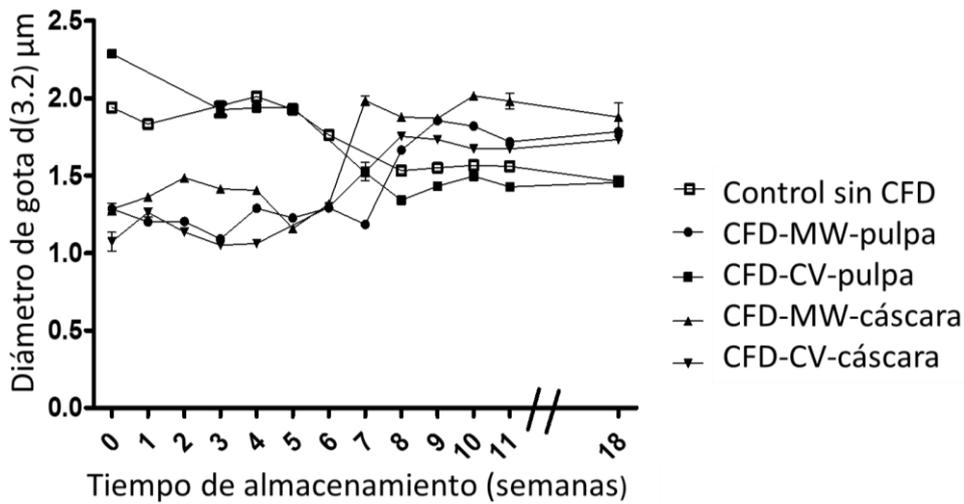


Figura IV.3.5. Tamaño de gota $d(3,2)$ durante las 18 semanas de almacenamiento para las emulsiones formuladas con 3% (m/m) de CFD y 0,1% (m/m) de goma xántica.

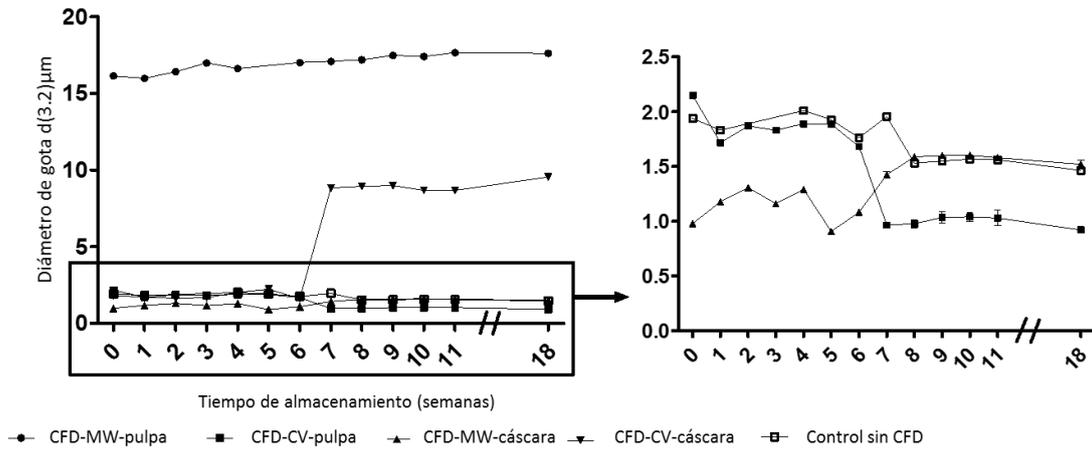


Figura IV.3.6. Tamaño de gota $d_{(3,2)}$ durante las 18 semanas de almacenamiento para las emulsiones formuladas con 5% (m/m) de CFD y 0% (m/m) de goma xántica.

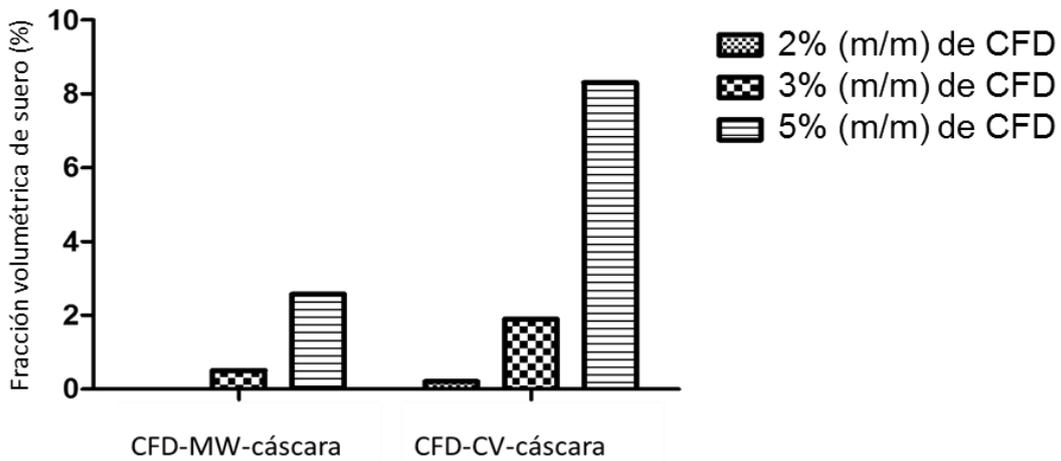


Figura IV.3.7. Porcentaje de volumen de suero separado en emulsiones formuladas con CFD de cáscara al final del almacenamiento.

Es de gran importancia resaltar que de las emulsiones formuladas con los CFD de pulpa, ninguna presentó cremado o separación de fases durante las 18 semanas de almacenamiento. Inclusive la emulsión que tenía 5% (m/m) de CFD-MW de pulpa y 0% (m/m) de GX, aunque presentó un diámetro de gota significativamente mayor que las demás emulsiones (Figura IV.3.6), el mismo se mantuvo estable y no se observó separación de fases durante el almacenamiento. Con lo cual se infiere que el uso de 5%

(m/m) de cualquiera de los dos CFD de pulpa, es suficiente para estabilizar las emulsiones aceite en agua formuladas y para sustituir totalmente el uso de la GX como estabilizante. Este efecto protector ante los fenómenos de desestabilización puede ser explicado, en gran parte, por las altas propiedades de hidratación observadas en estos concentrados (Tabla III.3.2), a lo cual contribuye su mayor contenido de ácidos urónicos (Tabla III.3.1), especialmente en el CFD-MW de pulpa. Los concentrados de pulpa también presentan una mayor fracción soluble en agua que la encontrada en los CFD de la cáscara, tal como se discutió en el Capítulo III.

En ensayos previos (datos no mostrados) se había podido determinar que se necesita una cantidad mayor a 0,2% (m/m) de goma xántica para evitar el cremado de una emulsión control (sin CFD). Por tal razón, en este estudio, para la formulación del sistema control, se utilizó un 0,5% (m/m) de goma xántica para asegurar su estabilidad.

IV.3.3. Índice de peróxidos en las emulsiones

En primera instancia, se determinó que el índice de peróxidos (IP) del aceite inicial era de $1,96 \pm 0,2$ mili-equivalentes peróxido/Kg de aceite, cuyo valor cumple con el requerimiento del Código Alimentario Argentino, donde se establece un valor máximo de 10 mili-equivalentes peróxido/Kg de aceite.

En la Tabla IV.3.1, se resumen los resultados encontrados para el IP en las emulsiones a las 18 semanas de almacenamiento. Todas las emulsiones aumentaron su IP en la fase oleosa, respecto al valor del IP del aceite inicial. Sin embargo, cuando se aumentó el porcentaje de CFD-CV de pulpa y los dos CFD provenientes de la cáscara (Tabla IV.3.1), se observó una disminución del IP.

Tabla IV.3.1. Análisis del índice de peróxidos (mili-equivalentes/Kg de fase oleosa) en las emulsiones al final del almacenamiento (18 semanas).

| | CFD-MW de pulpa | CFD-CV de pulpa | CFD-MW de cáscara | CFD-CV de cáscara | Emulsión Control |
|------------------|--|--|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Emulsión control | ^{A,B} 30 ± 1 ^a | ^D 30 ± 1 ^a | ^D 30 ± 1 ^a | ^A 30 ± 1 ^a | ^A 30 ± 1 ^a |
| 2% (m/m) de CFD | ^B 32 ± 2 ^b | ^{A,D} 28 ± 1 ^{a,d} | ^A 27 ± 1 ^{a,c} | ^A 32 ± 1 ^b | ^A 30 ± 1 ^{b,c,d} |
| 3% (m/m) de CFD | ^{A,B} 30,5 ± 0,8 ^{c,d} | ^{A,C} 25 ± 2 ^b | ^{B,C} 23 ± 1 ^{a,b} | ^B 22,2 ± 0,7 ^a | ^A 30 ± 1 ^d |
| 5% (m/m) de CFD | ^A 27,6 ± 0,5 ^{c,d} | ^{B,C} 24,3 ± 0,7 ^b | ^C 21,0 ± 0,8 ^a | ^B 21 ± 1 ^a | ^A 30 ± 1 ^d |

Letras mayúsculas diferentes en una misma columna y letras minúsculas diferentes en una misma fila, indican que los valores son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

Se observó también que, entre las emulsiones adicionadas con 5% (m/m) de CFD, el menor índice de peróxido lo presentaron las emulsiones con CFD de cáscara. En el capítulo III, el análisis de las características antioxidantes de los CFD había mostrado que los CFD de cáscara eran los que tenían la mayor capacidad antioxidante y mayor contenido de compuestos antioxidantes como polifenoles, carotenoides y ácido ascórbico (Tabla III.3.3.), los cuales pueden haber favorecido la inhibición de la formación de peróxidos.

Entre las emulsiones formuladas con CFD de pulpa, aquellas en las que se utilizó CFD-CV, presentaron un menor índice de peróxido ($p < 0,05$) que las formuladas con CFD-MW. Esta tendencia puede ser explicada por las diferencias encontradas en sus características antioxidantes reportadas en la Tabla III.3.3. Finalmente, se encontraron pequeñas diferencias entre las emulsiones formuladas con 2% (m/m) de CFD-CV y CFD-MW de cáscara.

En diferentes estudios se ha reportado que la incorporación de material vegetal en salsas y/o aderezos, ayuda a reducir la formación de compuestos peroxidados. Tseng & Zhao, (2013) investigaron el efecto de la incorporación de material obtenido del orujo de la uva, en dos tipos de aderezos para ensalada, encontrando una reducción en el índice de peróxidos respecto al control, a los 21 días de almacenamiento, en presencia del material obtenido. Asimismo, en estudios realizados por Ifesan, Siripongvutikorn, &

Voravuthikunchai, (2009) se encontró que la adición de un extracto crudo de *Eleutherine americana* en emulsiones tipo aderezos permitía retardar la oxidación de los lípidos que conformaban dichos sistemas.

IV.3.4. Análisis sensorial

La frecuencia de consumo de aderezos por parte de los panelistas se resume en la Figura IV.3.8. Se encontró que el 20% de los panelistas consumía aderezos al menos una vez por mes, otro 20% de ellos consumía todos los días y un 60% consumía, al menos, dos veces por semana.



Figura IV.3.8. Frecuencia de consumo de aderezos por parte de los panelistas.

En cuanto al grado de aceptación de los aderezos, se encontró que el aderezo formulado con 5% (m/m) de CFD-MW de pulpa, obtuvo valores promedio de 7 ± 1 para la aceptabilidad global, 8 ± 1 para la textura, 7 ± 1 para el sabor y 7 ± 1 para el color. Para el aderezo formulado con 5% (m/m) de CFD-CV de pulpa se obtuvieron en promedio valores de 7 ± 1 para la aceptabilidad global, de 7 ± 1 para la textura, de 7 ± 1 para el sabor y de 8 ± 1 para el color. La comparación de estos dos aderezos mediante el ANOVA, demostró que no se detectan diferencias significativas ($p < 0,05$) a la hora de evaluar cada uno de estos atributos por parte de los consumidores. Asimismo, se puede decir que el grado de aceptabilidad promedio de los dos aderezos corresponde a una

calificación alrededor de los 7 puntos, lo cual en la escala hedónica sería, una apreciación de “me gusta moderadamente”, por lo cual se puede decir que estos productos fueron aceptados por los consumidores.

Por otra parte, el aderezo formulado con el CFD de cáscara-MW obtuvo una calificación promedio de 4 ± 2 para la aceptabilidad global, 5 ± 2 para la textura, 4 ± 2 para el sabor y 6 ± 2 para el color. Estos resultados fueron significativamente menores ($p < 0,05$) que los obtenidos para los dos aderezos de pulpa. Por lo cual se puede decir que este aderezo presentó una baja calificación en cuanto a la aceptabilidad global y el sabor, con una percepción de “me disgusta un poco”, mientras que la textura de este aderezo tendría una percepción neutra de “ni me gusta ni me disgusta”. Sólo el atributo de color fue aceptado por los consumidores con una percepción de “me gusta un poco”. La tendencia obtenida para este análisis se puede observar mejor en la Figura IV.3.9.

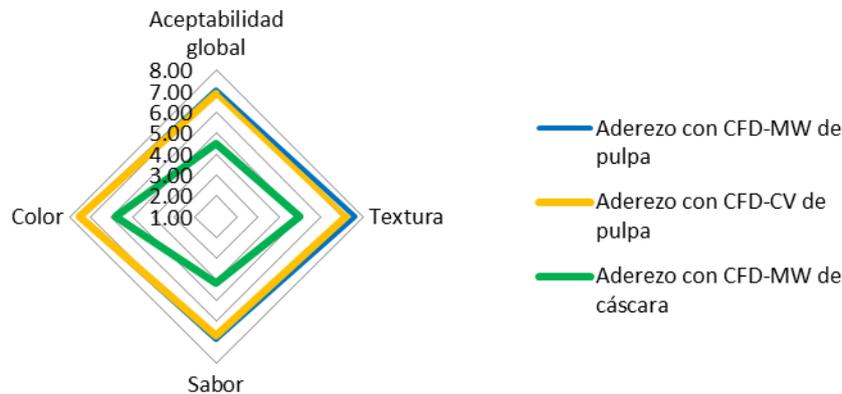


Figura IV.3.9. Comparación de la percepción de gusto para los cuatro atributos calificados por los consumidores en los tres aderezos

Un análisis realizado para verificar la distribución en porcentaje, de cada uno de los puntajes asignados a cada atributo sensorial, por cada uno de los panelistas, se observa en las Figuras IV.3.10, IV.3.11 y IV.3.12.

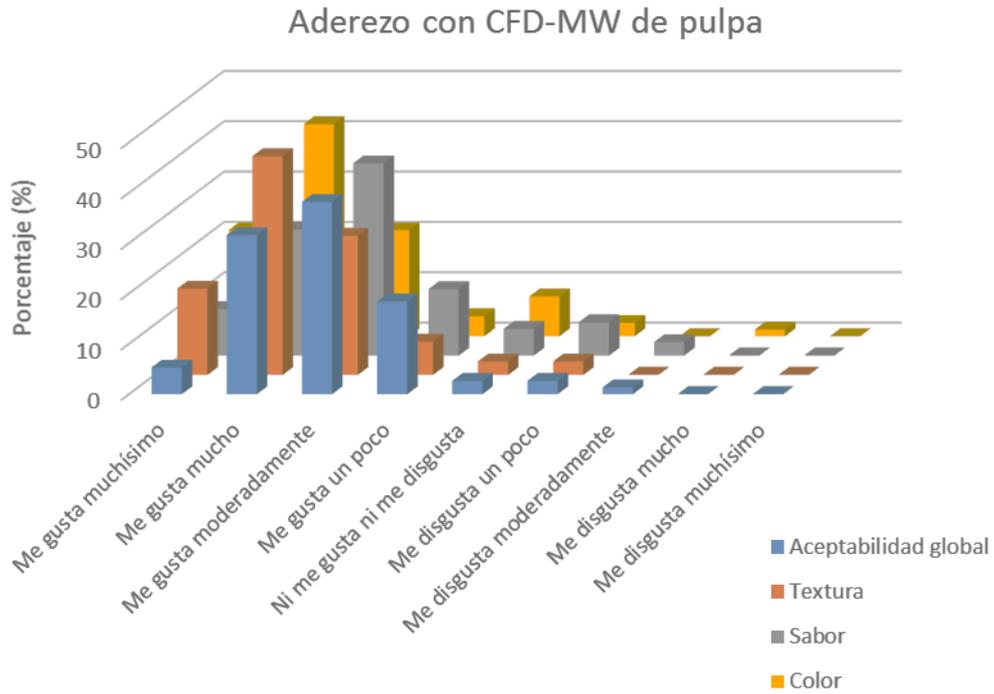


Figura IV.3.10. Distribución en porcentaje de la percepción de gusto o disgusto para los cuatro atributos sensoriales para el aderezo formulado con CFD-MW de pulpa.

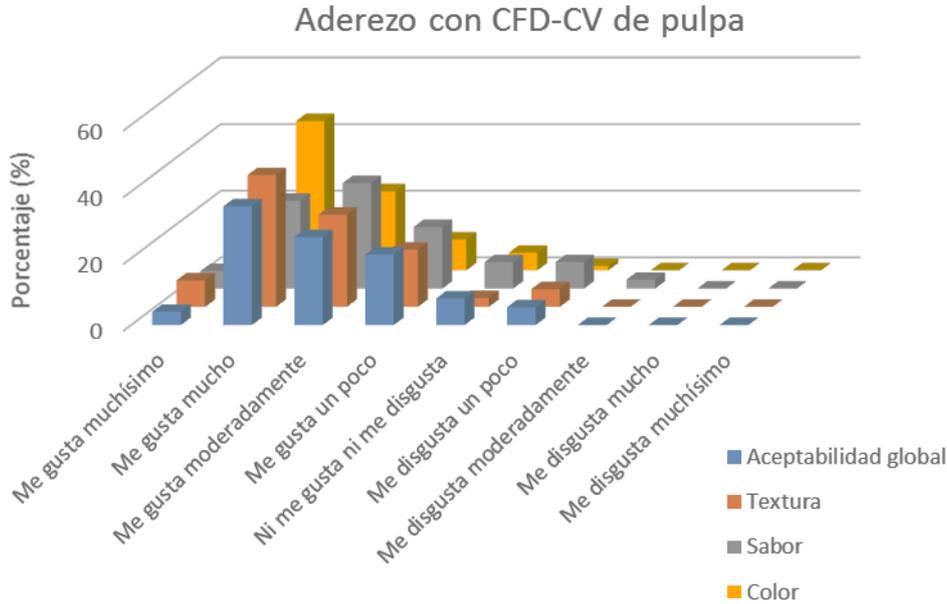


Figura IV.3.11. Distribución en porcentaje de la percepción de gusto o disgusto para los cuatro atributos sensoriales para el aderezo formulado con CFD-CV de pulpa.

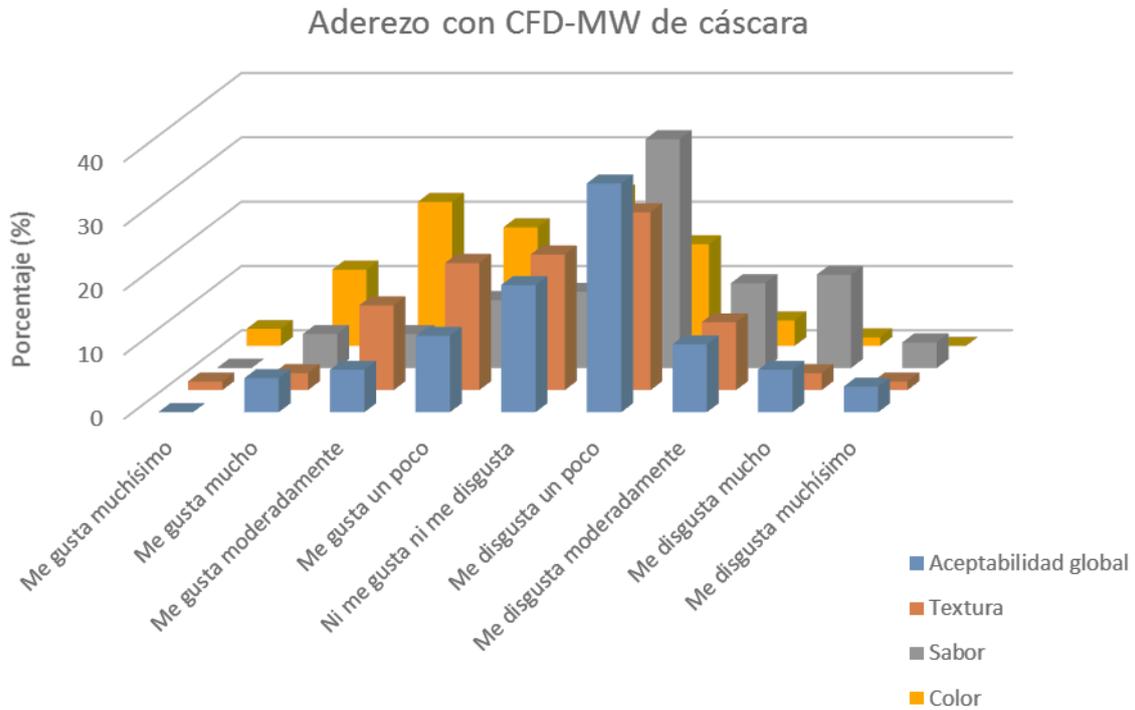


Figura IV.3.12. Distribución en porcentaje de la percepción de gusto o disgusto para los cuatro atributos sensoriales para el aderezo formulado con CFD-MW de cáscara.

En general se pudo observar que para los aderezos formulados con los CFD de pulpa, el mayor porcentaje de panelistas tuvo una percepción positiva de aceptación (Figuras IV.3.10 y IV.3.11), concentrándose el mayor porcentaje de votos en la percepción de “me gusta mucho”, “me gusta moderadamente” y “me gusta un poco”. Por otra parte, para el aderezo formulado con el CFD-MW de cáscara, se obtuvo una distribución de los puntajes más amplia como se observa en la Figura IV.3.12 y, en general, se evidencia que en cuanto a los atributos aceptabilidad global, textura y sabor, un mayoritario porcentaje de personas dijeron “me disgusta un poco”, mientras que al calificar el color, mayoritariamente dijeron me “gusta moderadamente”.

IV.4. CONCLUSIONES

- Los CFD producidos se utilizaron como ingredientes en la producción de emulsiones aceite en agua analizando la estabilidad de las mismas durante el almacenamiento y el efecto antioxidante de los CFD.
- Todas las emulsiones preparadas fueron estables, al menos por 6 semanas de almacenamiento. Ninguna de las emulsiones formuladas con CFD de pulpa presentó inestabilidad visual durante las 18 semanas de almacenamiento.
- La formulación con CFD-CV de cáscara necesitaría un porcentaje de un estabilizante como la goma xántica en un porcentaje superior al 0,2% (m/m) para evitar el cremado, mientras que el uso de 2% (m/m) de CFD-MW de cáscara junto con 0,2% (m/m) de goma xántica fue suficiente para estabilizar las emulsiones por 18 semanas.
- La formulación con 5% (m/m) de los CFD produjo una reducción significativa del índice de peróxido en todas las emulsiones al final del almacenamiento (18 semanas), siendo mayor la reducción cuando se utilizó CFD provenientes de la cáscara.
- El análisis sensorial demostró que la formulación de los aderezos con 5% (m/m), de CFD de pulpa, en general produce una aceptación del producto con una calificación promedio de 7 puntos en una escala de 1 a 9 puntos y que, además, no se detectan diferencias significativas entre los atributos sensoriales, si el CFD es deshidratado por microondas o por convección.
- El aderezo formulado con 3% (m/m) de CFD-MW de cáscara, fue poco aceptado por los panelistas, en cuanto a la aceptabilidad global y al sabor de los aderezos, sin embargo en cuanto a la textura y el color, los puntajes fueron levemente superiores respecto a los primeros.

CONCLUSIONES GENERALES

En el presente trabajo de investigación se ha propuesto una metodología para la obtención de concentrados de fibra dietaria a partir de pulpa y cáscara de papaya mediante la combinación de un tratamiento con etanol y una etapa posterior de deshidratación con microondas o convección con aire caliente.

El diseño factorial mostró que el tiempo de tratamiento con etanol y la relación etanol/muestra eran las variables de proceso que ejercían la mayor influencia sobre las propiedades analizadas (propiedades de hidratación, de absorción de aceite, volumen específico, color, contenido de compuestos fenólicos) cuando la deshidratación se realizaba con radiaciones de microondas sobre concentrados de pulpa. El análisis de superficie de respuesta permitió optimizar las respuestas analizadas y el análisis multi-respuesta, mostró que el concentrado obtenido mediante tratamiento con etanol durante 15 minutos, en una relación etanol/muestra de 2,9 mL/g y una temperatura de secado de 40°C, daba lugar a concentrados con propiedades maximizadas. Estas mismas condiciones fueron utilizadas para obtener concentrados de fibra dietaria a partir de la cáscara.

El concentrado obtenido a partir de la pulpa presentó valores más altos para las propiedades de hidratación que el de la cáscara, marcando su potencialidad para mejorar las características texturales de los alimentos y estabilizar su estructura. En cambio, los obtenidos a partir de la cáscara presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos lo cual aumentaría su actividad antioxidante.

La profundización del estudio sobre la naturaleza química de los productos antioxidantes presentes permitió determinar la presencia de carotenoides, ácido ascórbico y compuestos fenólicos, de los cuales se identificaron a los compuestos hexósido de ácido protocatecuico, manghaslina, quercetina-3-O-rutinósido, cafeoil hexósido y ácido

ferúlico. Adicionalmente se identificaron y cuantificaron los carotenoides luteína, zeaxantina, β -criptoxantina y β -caroteno en los concentrados. La mayor cantidad de compuestos fenólicos, carotenoides y ácido ascórbico se detectaron en los concentrados provenientes de la cáscara, lo cual explica la mayor capacidad antioxidante observada en los concentrados de fibra dietaria de cáscara y en las fracciones indigestibles (solubles e insolubles) después del ensayo de digestibilidad *in vitro* de dicha fracción.

Se analizó comparativamente el efecto del método de deshidratación sobre las propiedades físicas, químicas, funcionales de concentrados de fibra dietaria obtenidos a partir de pulpa y cáscara de papaya. Se utilizó así la deshidratación por convección con aire caliente (CV) o asistida por microondas (MW). El análisis químico, demostró que todos los concentrados estaban constituidos por celulosa, carbohidratos no celulósicos y proteínas. Además se encontró que la deshidratación con microondas produjo fracciones con un mayor contenido de ácidos urónicos, los cuales tuvieron alto grado de metilación ($> 50\%$) y bajo grado de acetilación ($< 50\%$). Se observó que los concentrados obtenidos mediante CV presentaban mayor capacidad antioxidante, lo cual se debería al mayor contenido de compuestos fenólicos y carotenoides presentes en ellos y que los obtenidos a partir de pulpa presentaban valores mucho mejores para las propiedades de hidratación que los de la cáscara, especialmente si el método de secado era MW.

Los CFD de cáscara mostraron mayores valores de la temperatura de transición vítrea, y ello se incrementa si el secado es por convección de aire, con lo cual estos productos, al ser añadidos en alimentos como por ejemplo, galletitas horneadas, contribuirían al aumento de la vida útil durante el almacenamiento, colaborando al mantenimiento del estado vítreo de las mismas y de sus características organolépticas.

La utilización de los concentrados obtenidos como ingredientes en la producción de emulsiones aceite en agua, mostró que el uso de 2% (m/m) de concentrado de fibra dietaria de cáscara, obtenido mediante deshidratación por microondas, junto con 0,2% (m/m) de goma xántica, fue suficiente para estabilizar las emulsiones por 18 semanas. Un 5% (m/m) de concentrado de pulpa estabilizó al menos por 18 semanas las emulsiones producidas, lo cual permitiría prescindir del uso de goma xántica como estabilizante. Asimismo, la formulación con 5% (m/m) de los concentrados produjo una reducción significativa del índice de peróxidos en todas las emulsiones al final del almacenamiento, observándose la mayor reducción cuando se utilizó concentrados provenientes de la cáscara.

En cuanto al análisis sensorial, realizado para determinar la aceptación de los aderezos por parte de los consumidores se pudo concluir que, el uso de 5% (m/m) de CFD de pulpa, para formular dichos aderezos, produce una percepción de “me gusta moderadamente” en dichos consumidores y que además, el mecanismo de secado de los CFD, no produce diferencias en dicha percepción. En cambio, el aderezo formulado con CFD de cáscara y deshidratado por microondas, necesitaría una modificación en la formulación, para satisfacer los atributos de aceptabilidad global, textura y sabor en los consumidores.

Los concentrados de fibra dietaria producidos a partir del tejido de pulpa y cáscara de papaya, son materiales que muestran un gran potencial para ser usados como ingredientes en la formulación de nuevos alimentos, debido a: i) su alta capacidad de absorción y retención de agua, ii) su aporte de compuestos con actividad antioxidante y iii) su aporte nutricional por estar enriquecidos en fibra dietaria. Esos concentrados constituyen así un material con múltiples funcionalidades, que pueden modularse con el método de deshidratación aplicado en su obtención. Dentro de sus funcionalidades se pueden mencionar su aporte de nutrientes para el organismo, su capacidad para actuar

como un ingrediente funcional en aplicaciones específicas de la industria alimentaria como la modificación textural/reológica y la estabilización de emulsiones. Por otra parte, la presencia de compuestos fenólicos, carotenoides y ácido ascórbico en las fracciones obtenidas puede proporcionar una funcionalidad adicional para los concentrados obtenidos, tales como la prevención de la oxidación de lípidos en alimentos con alto contenido de grasa y la contribución a la actividad antioxidante de los alimentos. Por todo ello, estas fracciones permitirán contribuir al desarrollo de alimentos saludables.

Los resultados obtenidos son prometedores en relación al aprovechamiento de los residuos agroindustriales de la papaya, así como a la potencial aplicación de los concentrados obtenidos como ingredientes funcionales en la industria alimentaria y otras. La continuación de estos estudios en futuras investigaciones contribuirá a confirmar los resultados, ampliar la gama de aplicaciones de los concentrados y a profundizar los conocimientos en este área.

ANEXO 1

ANÁLISIS DE LOS PROCESOS DE SECADO

A.1. INTRODUCCIÓN

El secado se considera como uno de los más antiguos métodos de preservación de las materias primas alimentarias. En la antigüedad, el método utilizado para deshidratar los alimentos era el solar. Sin embargo, más tarde, el desarrollo de nuevas tecnologías, y la necesidad de optimizar y estandarizar el proceso para garantizar la inocuidad del alimento, conllevaron a la investigación de diferentes mecanismos de secado.

Este proceso da lugar a la preservación de los alimentos por la reducción de su contenido de agua mediante la ocurrencia simultánea de transferencia de calor y masa (Sagar & Suresh Kumar, 2010). El secado permite una vida útil más larga a los alimentos debido a la limitación del crecimiento microbiano y de la acción enzimática. Además reduce al mínimo los cambios físicos y químicos durante el almacenamiento (Ruhanian & Movagharnejad, 2016).

Dentro de los métodos utilizados para el secado de frutas y vegetales, se encuentra la liofilización, el secado convectivo, el secado en lecho fluidizado, la osmodeshidratación, la deshidratación con microondas, la combinación entre ellos y otros. La elección de uno u otro, dependerá de factores como la disponibilidad del secador, el tipo de producto, el costo de la deshidratación y la calidad deseada para el producto desecado, siendo el consumo de energía y la calidad de los productos secos las consideraciones más críticas en la selección del método de secado (Sagar & Suresh Kumar, 2010).

A diferencia del secado por microondas explicado en el Capítulo I, el secado por convección con aire caliente, se produce luego de haber mantenido en contacto un sólido húmedo con una corriente de aire caliente. El aire sirve para transferir calor al sólido y para eliminar el vapor formado. Si el aire caliente es suministrado al sistema a temperatura y humedad constante, en general, se puede decir que en el secado se destacan dos etapas diferentes, una en la cual la velocidad de secado es constante y otra, en la cual la velocidad de secado es decreciente (Nonhebel & Moss, 2002).

En diferentes investigaciones donde se estudia los procesos de deshidratación de alimentos, se utilizan modelos matemáticos que simulan el decaimiento de la humedad y la transferencia de masa. Dentro de los modelos más estudiados se encuentran el de Newton, el de Page, el de Henderson y Pabis, el Logarítmico y el de Difusión, entre otros (Aregbesola, Ogunsina, Sofolahan, & Chime, 2015).

El objetivo de este anexo fue estudiar el modelado de la deshidratación de los concentrados de fibra dietaria (CFD) de papaya a través de los modelos matemáticos de Page y/o Logarítmico, en cuanto a la deshidratación por microondas y por convección, métodos utilizados en los Capítulos I y III.

A.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Durante los procesos de deshidratación llevados a cabo para producir los CFD de esta investigación, se registró la pérdida de peso de las muestras a través del tiempo hasta alcanzar peso constante y valores de a_w menores de 0,6, como se detalló anteriormente en los capítulos I y III. A partir del registro de la variación del peso de los CFD en el tiempo, se realizaron las curvas de secado, graficando la variación de la humedad adimensional en función del tiempo de deshidratación.

Para cada secado realizado correspondiente a los diseños experimentales desarrollados, el residuo obtenido luego del tratamiento de ≈ 300 g de tejido de pulpa con etanol, se filtró y se dispuso en una bandeja de polipropileno (PP 5), obteniendo una altura de lecho de ≈ 4 cm. Posteriormente, la bandeja se dejó bajo campana, durante una hora para eliminar el etanol remanente y, posteriormente, se introdujo dentro del secador de microondas (Ethos plus, Milestone Italia) o en un secador por convección con aire caliente (FAC, Argentina), según lo explicado en los capítulos I y III.

En la Figura A.2.1, se esquematiza el secador de microondas y la disposición espacial de la muestra.

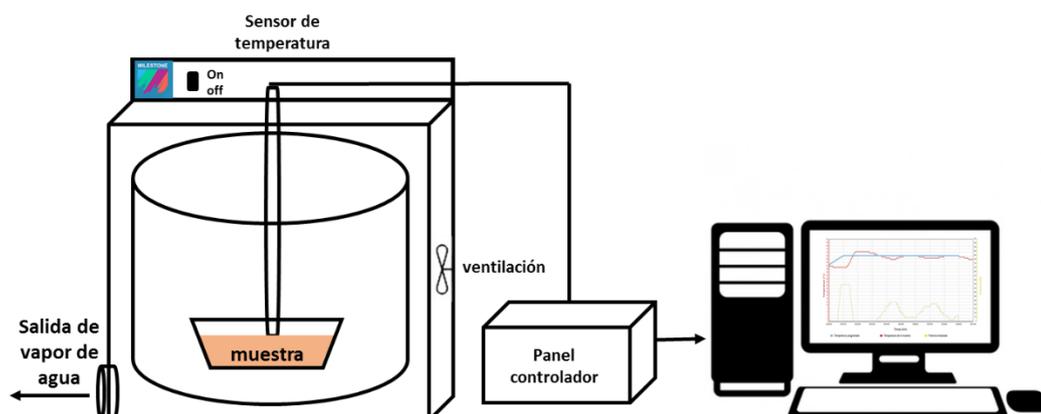


Figura A.2.1. Esquema del secador de microondas y disposición de la muestra de CFD.

Para la deshidratación por microondas, se utilizó un programa de secado según la temperatura de los diseños experimentales contemplados en el capítulo I. En la Figura A.2.2, se muestra un ejemplo de un programa de secado utilizado, para una muestra deshidratada a 60°C (Punto central, diseño de superficie de respuesta).

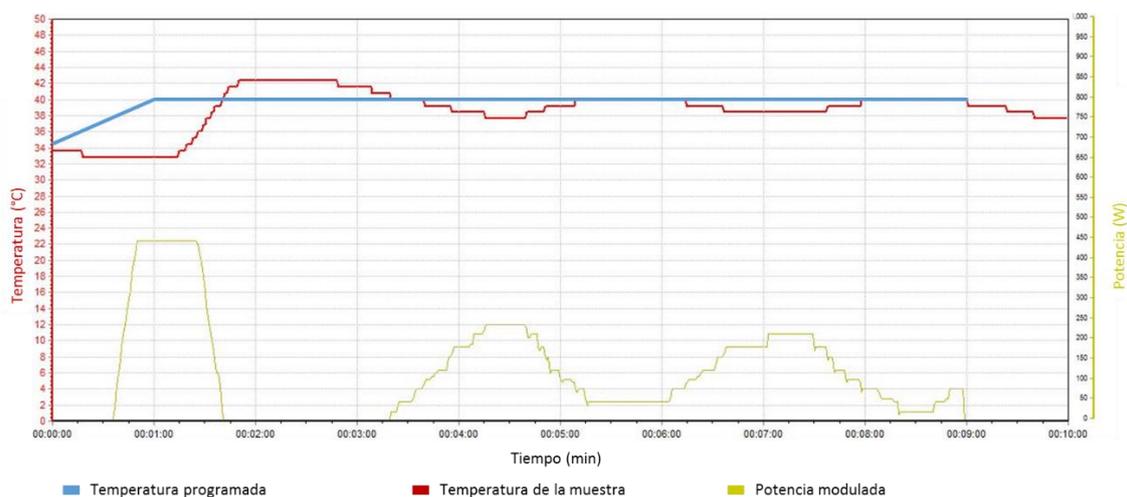


Figura A.2.2. Ejemplo de un programa de secado y temperatura experimentada por la muestra para la obtención de un CFD de pulpa en la deshidratación por microondas.

La línea azul, denota la rampa de temperatura programada, la línea roja representa el registro de temperatura de la muestra durante cada intervalo de secado, la línea amarilla representa la modulación de la potencia para alcanzar la temperatura deseada, adquiriendo un valor máximo de 450 W. El último minuto del programa, corresponde al tiempo de ventilación dentro del equipo. Se programaron intervalos de secado de 10 minutos para los niveles bajos de temperatura, de 5 minutos para los intermedios y de 2,5 minutos para los altos.

Para el caso del secado por convección con aire caliente, se utilizó un equipo de convección forzada (FAC, Argentina, modelo SRBCO 4040), con una velocidad de aire de 2,0 m/s. Durante cada intervalo de secado se rotó la disposición de las bandejas y se controló que la temperatura de la muestra se mantuviera en los 40°C. En la Figura A.2.3, se representa el equipo utilizado para el secado por convección con aire caliente.

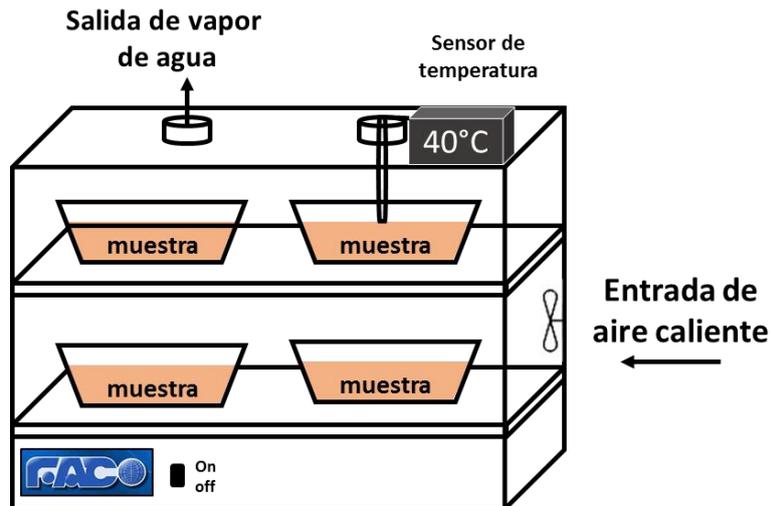


Figura A.2.3. Representación del equipo utilizado para el secado por convección con aire caliente

A.2.1. Modelado de las curvas de secado

Todos los datos del secado por microondas (Capítulo I) fueron modelados mediante la ecuación de Page:

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

Donde, MR representa la variación del contenido de humedad, m 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 (Page, 1949).

La humedad de equilibrio (m_e), se determinó a partir de los últimos tres puntos 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 $t+2dt$

Para cada regresión, se determinó el parámetro R^2 y el error estándar del estadístico, para evaluar el ajuste de los puntos de la curva de humedad con el modelo de regresión.

Se obtuvieron los parámetros K y n de Page de cada sistema.

Para la comparación de los dos métodos secado (microondas y convección con aire caliente) en cuanto a la deshidratación de los CFD se ajustaron los datos experimentales obtenidos con ambas técnicas mediante los modelos de Page o Logarítmico (Aregbesola et al., 2015).

Modelo Logarítmico:

$$MR = a \cdot e^{(-k \cdot t)} + c$$

Donde MR la humedad relativa, para cada tiempo t , a , k y c son las constantes del modelo Logarítmico.

A.2.2. Tratamiento estadístico de los datos

Para el modelado de todas las regresiones no lineales, así como todos los análisis estadísticos de los diseños experimentales, se utilizó el programa STATGRAPHICS Centurion XV (V. 15.2.06, 2007; StatPoint Inc, Warrenton, VA, Canadá).

A.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A.3.1. Secado por microondas

Los resultados obtenidos luego del análisis del primer diseño experimental, permitieron verificar que, en general, la ecuación de Page describió adecuadamente la deshidratación de los CFD de este diseño como se observa en la Tabla A.3.1, obteniendo valores para el R^2 superiores al 99%, a excepción de los sistemas 1 y 16.

Tabla A.3.1. Parámetros de la ecuación de Page para el modelado de la deshidratación con microondas.

| sistema | t (min) | Te (°C) | E/M (ml/g) | Ts (°C) | Tiempo de secado (min) | K | n | R ² | Error estándar del estimado |
|---------|------------|------------|---------------|------------|------------------------------|--------|--------|----------------|--------------------------------------|
| 1 | 45 (1) | 80 (1) | 5 (1) | 30 (-1) | 471 | 0,0060 | 0,9843 | 95,64 | 0,0594 |
| 2 | 45 (1) | 80 (1) | 2 (-1) | 70 (1) | 31,3 | 0,1564 | 0,9631 | 99,72 | 0,0166 |
| 3 | 45 (1) | 20 (-1) | 5 (1) | 70 (1) | 22,5 | 0,0423 | 1,4974 | 99,64 | 0,0229 |
| 4 | 45 (1) | 20 (-1) | 2 (-1) | 30 (-1) | 190 | 0,0231 | 0,9423 | 99,30 | 0,0253 |
| 5 | 15 (-1) | 80 (1) | 5 (1) | 70 (1) | 27,5 | 0,0027 | 0,0273 | 99,84 | 0,0148 |
| 6 | 15 (-1) | 80 (1) | 2 (-1) | 30 (-1) | 220 | 0,0099 | 1,0764 | 99,07 | 0,0306 |
| 7 | 15 (-1) | 20 (-1) | 5 (1) | 30 (-1) | 514 | 0,0032 | 1,1213 | 99,44 | 0,0270 |
| 8 | 15 (-1) | 20 (-1) | 2 (-1) | 70 (1) | 30 | 0,0706 | 1,1980 | 99,72 | 0,0179 |
| 9 | 45 (1) | 80 (1) | 5 (1) | 70 (1) | 25 | 0,0310 | 1,6187 | 99,92 | 0,0112 |
| 10 | 45 (1) | 80 (1) | 2 (-1) | 30 (-1) | 200 | 0,0103 | 1,0697 | 99,01 | 0,0317 |
| 11 | 45 (1) | 20 (-1) | 5 (1) | 30 (-1) | 140 | 0,0122 | 1,1809 | 99,74 | 0,0174 |
| 12 | 45 (1) | 20 (-1) | 2 (-1) | 70 (1) | 32,5 | 0,0536 | 1,3131 | 99,95 | 0,0079 |
| 13 | 15 (-1) | 80 (1) | 5 (1) | 30 (-1) | 166 | 0,0076 | 1,2031 | 99,20 | 0,0300 |
| 14 | 15 (-1) | 80 (1) | 2 (-1) | 70 (1) | 30 | 0,0691 | 1,2387 | 99,97 | 0,0064 |
| 15 | 15 (-1) | 20 (-1) | 5 (1) | 70 (1) | 25 | 0,0991 | 1,2340 | 99,86 | 0,0134 |
| 16 | 15 (-1) | 20 (-1) | 2 (-1) | 30 (-1) | 200 | 0,0161 | 0,9722 | 98,94 | 0,0316 |
| 17 | 30 (0) | 50 (0) | 3,5 (0) | 50 (0) | 65 | 0,0134 | 1,2585 | 99,44 | 0,0262 |
| 18 | 30 (0) | 50 (0) | 3,5 (0) | 50 (0) | 55 | 0,0096 | 1,4822 | 99,30 | 0,0313 |
| 19 | 30 (0) | 50 (0) | 3,5 (0) | 50 (0) | 50 | 0,0042 | 1,8502 | 99,11 | 0,0384 |
| 20 | 30 (0) | 50 (0) | 3,5 (0) | 50 (0) | 55 | 0,0156 | 1,3124 | 99,28 | 0,0299 |

t: tiempo de tratamiento con etanol, Te: temperatura de tratamiento con etanol, E/M: relación etanol/muestra, Ts: Temperatura de secado, k y n parámetros del ajuste de Page.

Asimismo, en la Tabla A.3.1, se encontraron valores para el error estándar del estimado entre 0,0064 y 0,0384. Estos valores representan la variación residual y permiten inferir qué tan bien se ajusta la línea de regresión construida al conjunto de datos en sí; cuanto menor sea la variación, más acertados serán los cálculos estimados (Camacho-Sandoval, 2007). Los valores de error obtenidos en esta investigación son del orden de los que se han reportado como estimadores de un buen ajuste durante el modelado del

secado de otros alimentos tales como nueces (Aregbesola et al., 2015) con el modelo de Page y otros modelos.

En las Figuras A.3.1 y A.3.2, se observa que la temperatura de secado es el factor que influyó significativamente ($p < 0.05$) y de forma positiva sobre los parámetros K y n de Page, lo cual indica que a mayor temperatura de secado se obtendrán mayores valores de K y n y por tanto una mayor velocidad de secado. En los estudios realizados por Rocha et al., (2012), se demostró que el aumento de la temperatura de secado, durante la deshidratación de tomillo, producía un aumento proporcional de los parámetros K y n. Por otra parte, tanto para el análisis de k como de n, la prueba de falta de ajuste no fue significativa, obteniendo valores de P de 0.1653 y 0.4478 para K y n, respectivamente.

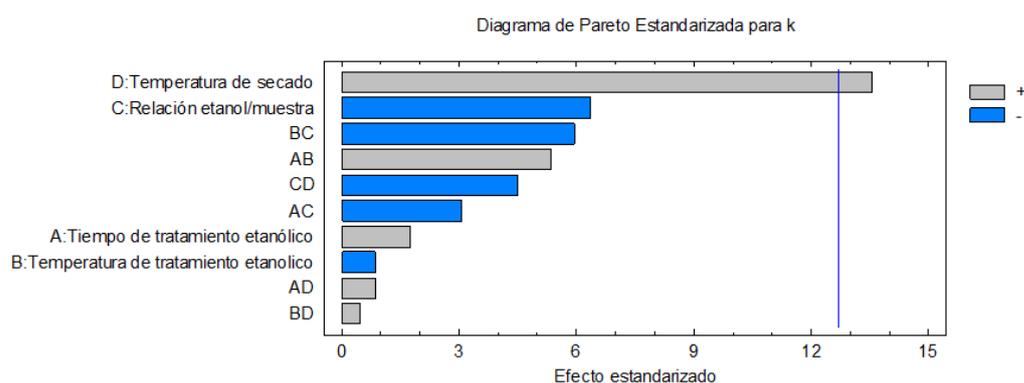


Figura A.3.1. Diagrama de Pareto Estandarizado para la constante K de la ecuación de Page.

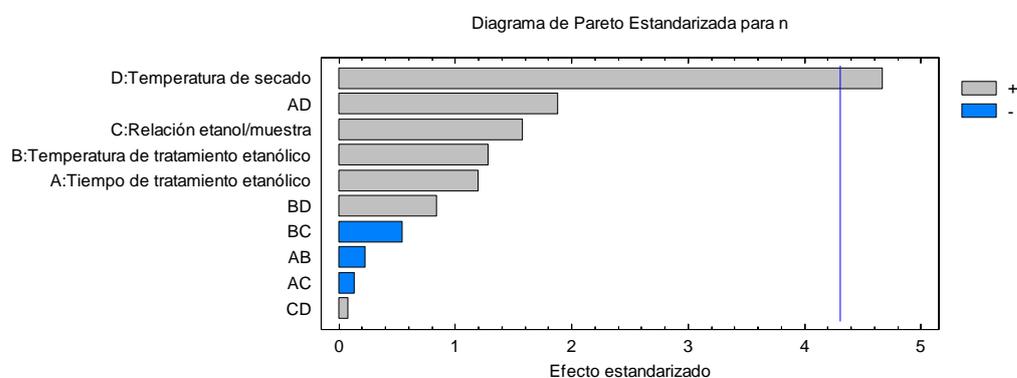


Figura A.3.2. Diagrama de Pareto Estandarizado para la constante n de la ecuación de Page.

Como se observa en la Tabla A.3.1, los tiempos de deshidratación, para los sistemas del diseño donde se utilizó una temperatura de secado de 30°C fueron muy elevados, alcanzando valores hasta de 471 y 514 minutos para los sistemas 1 y 7, respectivamente, razón por la cual para el diseño posterior por superficie de respuesta se aumentó en 10 °C los niveles de la temperatura (Capítulo I).

Los resultados obtenidos para cada regresión del diseño de Box Behnken se presentan en la Tabla A.3.2. Como era de esperarse, todos los tiempos de secado en los sistemas del diseño experimental, disminuyeron con el aumento de la temperatura. Durante la deshidratación de vegetales la disminución del tiempo de secado depende de la temperatura de secado y/o de la potencia para el caso de la deshidratación con microondas (Giri & Prasad, 2007). La figura A.3.3 muestra las curvas de secado obtenidas para el diseño de Box Behnken. Los mayores tiempos de secado se dieron para los sistemas con temperaturas de 40°C.

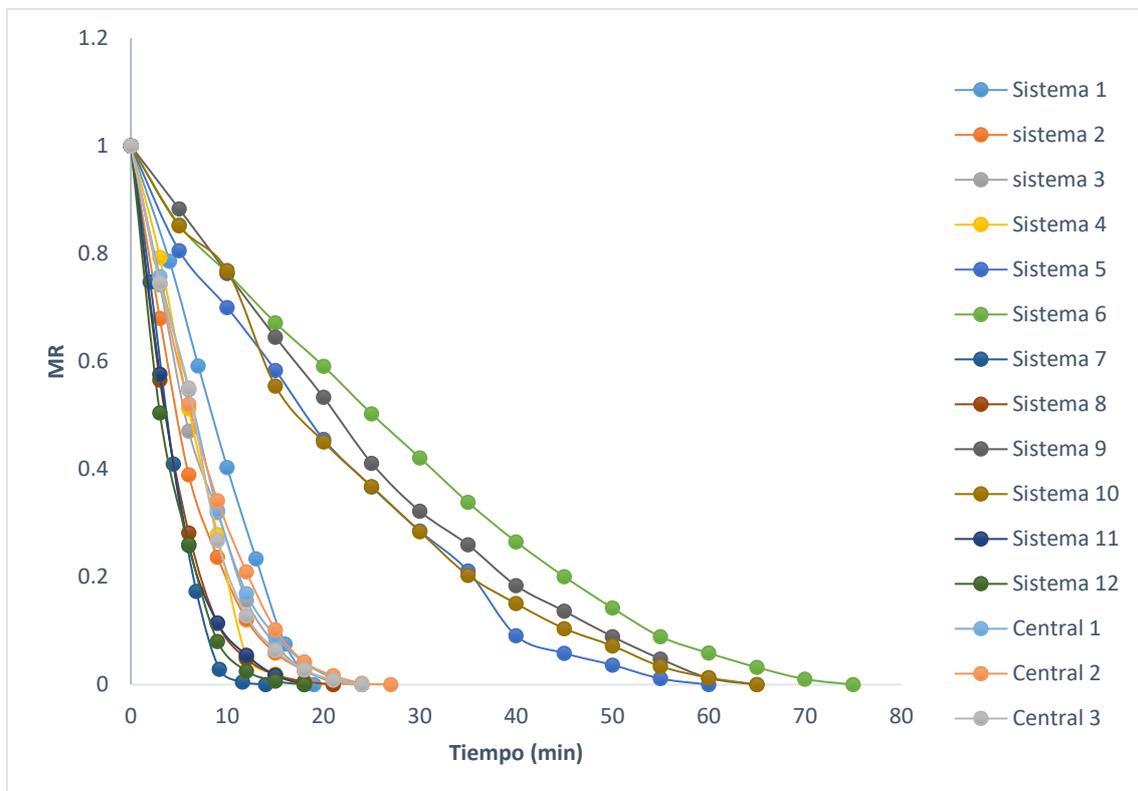


Figura A.3.3. Curvas de secado del diseño de Box Behnken.

Por otra parte, las temperaturas de secado del punto central (60°C) y las temperaturas del nivel superior del diseño (80°C), permitieron alcanzar los valores de la humedad de equilibrio en tiempos muchos más bajos. Todos los datos de secado ajustaron adecuadamente con el modelo de Page como se muestra en la Tabla A.3.2. El ajuste evaluado mediante el R^2 , fue mayor del 99% y, además, los valores del error estándar del estimado fueron bajos, obteniéndose valores entre 0,0051 y 0,0379, denotando un buen ajuste de los puntos experimentales al modelo matemático.

Tabla A.3.2. Análisis de las curvas de secado ajustadas con el modelo de Page.

| Sistema | t (min) | E/M (ml/g) | Ts (°C) | Tiempo de secado (min) | K | n | R ² | Error estándar del estimado |
|-----------|------------|---------------|------------|------------------------------|--------|--------|----------------|--------------------------------|
| 1 | 15 (-1) | 2 (-1) | 60 (0) | 19 | 0,0190 | 1,7125 | 99,27 | 0,0348 |
| 2 | 45 (1) | 2 (-1) | 60 (0) | 24 | 0,1013 | 1,226 | 99,95 | 0,0083 |
| 3 | 15 (-1) | 5 (1) | 60 (0) | 24 | 0,0647 | 1,3480 | 99,81 | 0,0166 |
| 4 | 45 (1) | 5 (1) | 60 (0) | 21 | 0,0267 | 1,8059 | 99,65 | 0,0252 |
| 5 | 15 (-1) | 3,5 (0) | 40 (-1) | 60 | 0,0194 | 1,2518 | 98,81 | 0,0379 |
| 6 | 45 (1) | 3,5 (0) | 40 (-1) | 75 | 0,0180 | 1,1587 | 99,47 | 0,0245 |
| 7 | 15 (-1) | 3,5 (0) | 80 (1) | 14 | 0,0914 | 1,5600 | 99,86 | 0,0161 |
| 8 | 45 (1) | 3,5 (0) | 80 (1) | 21 | 0,1486 | 1,2102 | 99,98 | 0,0051 |
| 9 | 30 (0) | 2 (-1) | 40 (-1) | 65 | 0,0127 | 1,3202 | 99,57 | 0,0230 |
| 10 | 30 (0) | 5 (1) | 40 (-1) | 65 | 0,0186 | 1,2511 | 99,52 | 0,0241 |
| 11 | 30 (0) | 2 (-1) | 80 (1) | 18 | 0,1433 | 1,2386 | 99,97 | 0,0069 |
| 12 | 30 (0) | 5 (1) | 80 (1) | 18 | 0,1841 | 1,1583 | 99,80 | 0,0178 |
| Central 1 | 30 (0) | 3,5 (0) | 60 (0) | 24 | 0,0495 | 1,4303 | 99,84 | 0,0156 |
| Central 2 | 30 (0) | 3,5 (0) | 60 (0) | 27 | 0,0611 | 1,3255 | 99,82 | 0,0157 |
| Central 3 | 30 (0) | 3,5 (0) | 60 (0) | 24 | 0,0452 | 1,5167 | 99,61 | 0,0245 |

t: tiempo de tratamiento con etanol, Te: temperatura de tratamiento con etanol, E/M: relación etanol/muestra, Ts: Temperatura de secado, k y n parámetros del ajuste de Page.

La variación de los parámetros K y n de Page, debida a la modulación de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado, con un tiempo de tratamiento con etanol de 15 minutos, se muestran en la Figura A.3.4.

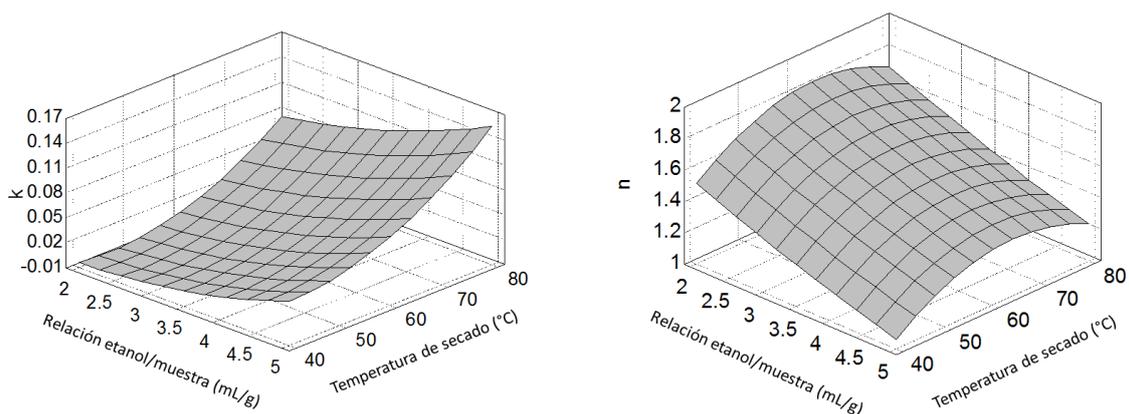


Figura A.3.4. Superficie de respuesta para los parámetros K y n de Page.

Se observa que K aumenta cuando se incrementa la temperatura de secado para cualquier relación etanol/muestra y, asimismo, cuando se incrementa la relación etanol/muestra para cualquier temperatura de secado. En los trabajos de Giri & Prasad, (2007), se analizó por la metodología de superficie de respuesta, el secado de champiñones (*Agaricus bisporus*) con microondas, observando una tendencia al aumento de K, con el aumento de la temperatura y la disminución del espesor de las muestras. Para el parámetro n, se observó una disminución con el aumento de la relación etanol/muestra para cualquier temperatura de secado; sin embargo, el incremento de la temperatura produjo una curvatura de la superficie de respuesta.

A.3.2. Comparación de dos métodos de secado para la deshidratación de concentrados de fibra dietaria de pulpa y cáscara de papaya

Como se explicó en el Capítulo I, luego de la optimización de las propiedades mediante el análisis multi-respuesta, se determinó estadísticamente que la temperatura de secado que permitía obtener CFD con propiedades optimizadas aplicando radiaciones de microondas (MW) era 40°C. Esta misma temperatura fue utilizada para realizar el secado por convección con aire caliente (CV) y hacer el análisis comparativo de las propiedades de los CFD, como se discutió en el Capítulo III.

Luego del secado del CFD-MW de pulpa, CFD-MW de cáscara, CFD-CV de pulpa y CFD-CV de cáscara, se concluyó que el secado con microondas permite una deshidratación mucho más rápida que la realizada por convección con aire caliente, como se muestra en las curvas de secado (Figura A.3.6) para alcanzar a_w inferiores a 0,6.

Los datos correspondientes a la pérdida de humedad en el tiempo fueron ajustados a los modelos de Page o Logarítmico y se reporta el mejor ajuste en cada caso. El modelo de Page describió mejor el secado con microondas de la pulpa y el de convección de la cáscara mientras que el modelo Logarítmico ajustó mejor el secado con microondas de la cáscara y convección de la pulpa. Las curvas de secado obtenidas, con sus respectivos ajustes se muestran en la Figura A.3.6.

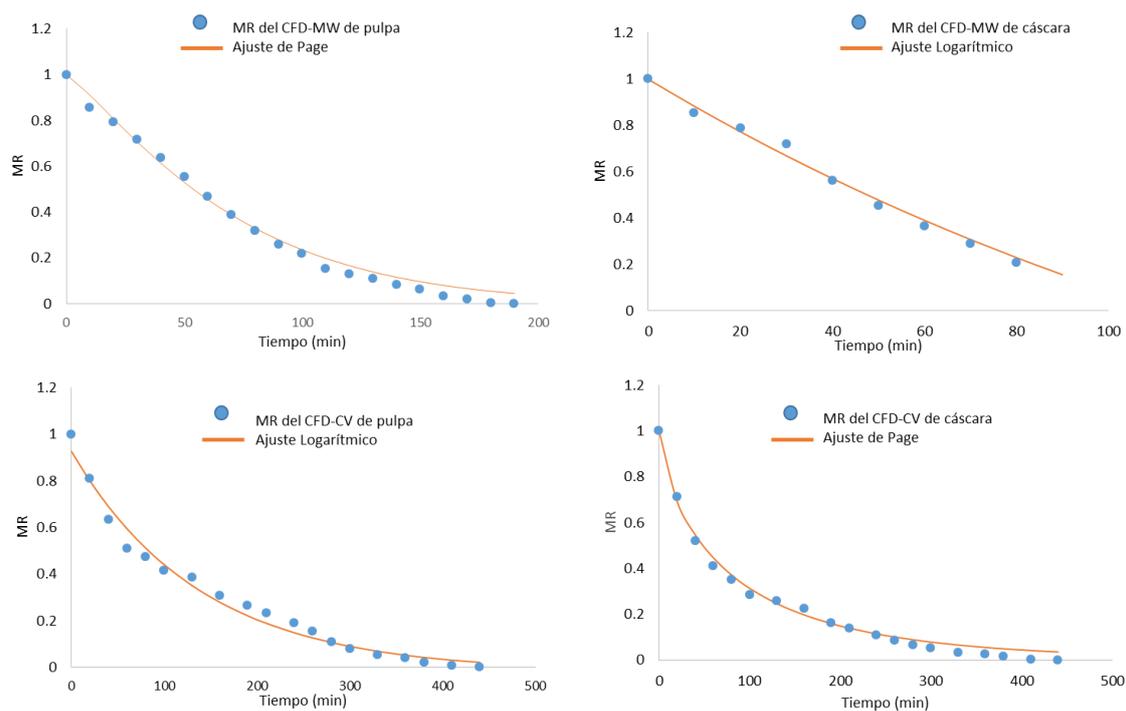


Figura A.3.6. Curvas de secado para obtención de CFD utilizando microondas o convección a una temperatura de 40°C.

Las ecuaciones que predicen la variación de MR, para la deshidratación de los cuatro CFD, para los intervalos de tiempo fueron:

- Para el CFD de pulpa y deshidratado por microondas, según el modelo de Page y tiempos entre 0 y 180 minutos.

$$MR = e^{(-0,0155 \cdot t^{1,3019})}$$

$$R^2 = 99,44$$

$$\text{Error estándar del estimado} = 0,0252$$

- Para el CFD de cáscara y deshidratado por microondas, según modelo Logarítmico y tiempos entre 0 y 90 minutos

$$MR = 2,1078 \cdot e^{(-0,0057 \cdot t)} - 1,1102$$

$$R^2 = 99,08$$

$$\text{Error estándar del estimado} = 0,0345$$

- Para el CFD de pulpa y deshidratado por convección, según modelo Logarítmico y tiempos entre 0 y 440 minutos

$$MR = 0,09447 \cdot e^{(-0,0072 \cdot t)} - 0,0183$$

$$R^2 = 98,10$$

$$\text{Error estándar del estimado} = 0,0419$$

- Para el CFD de cáscara y deshidratado por convección, según el modelo de Page y tiempos entre 0 y 440 minutos

$$MR = e^{(-0,0437 \cdot t^{0,7123})}$$

$$R^2 = 99,08$$

$$\text{Error estándar del estimado} = 0,0265.$$

La descripción de los procesos de secado a través de los diferentes modelos matemáticos es una forma útil para entender las cinéticas de secado y optimizar las condiciones de los procesos (Vega, Fito, Andrés, & Lemus, 2007). A pesar de que el secado es una operación unitaria importante durante el procesamiento de frutas y vegetales, raramente se encuentran disponibles las características del secado de

productos concentrados de fibra dietaria, con lo cual en este anexo se realiza una contribución para una mejor comprensión de la deshidratación de este tipo de productos.

A.4. CONCLUSIONES

Se estudió la deshidratación de CFD, mediante los modelos matemáticos de Page y Logarítmico. Se demostró que la temperatura de secado tiene efecto significativo sobre los parámetros K y n de Page. Adicionalmente, mediante un diseño de superficie de respuesta, se pudo observar la variación de K y n con la modulación de la relación etanol/muestra y la temperatura de secado.

Se determinó que el secado por convección produce mayores tiempos de secado que el realizado con microondas. Asimismo, el uso de determinada técnica de deshidratación y el tipo de tejido utilizado (cáscara o pulpa), determinan que el ajuste de las curvas de secado pueda realizarse más adecuadamente con el modelo de Page o con el modelo Logarítmico.

BIBLIOGRAFÍA

- Adedeji, A., Ngadi, M., & Raghavan, G. S. V. (2009). Kinetics of mass transfer in microwave precooked and deep-fat fried chicken nuggets. *Journal of Food Engineering*, 91(1), 146–153. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.08.018>
- Agarwal, S., & Rao, A. V. (2000). Carotenoids and chronic diseases. *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 17(1–4), 189–210. <http://doi.org/10.1002/9781118864364.ch11>
- Akhtar, M., & Dickinson, E. (2003). Emulsifying properties of whey protein-dextran conjugates at low pH and different salt concentrations. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31(1–4), 125–132. [http://doi.org/10.1016/S0927-7765\(03\)00049-3](http://doi.org/10.1016/S0927-7765(03)00049-3)
- Ames, B. N., & Gold, L. S. (1991). Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 250(1–2), 3–16. [http://doi.org/10.1016/0027-5107\(91\)90157-J](http://doi.org/10.1016/0027-5107(91)90157-J)
- Andrés, A., Bilbao, C., & Fito, P. (2004). Drying kinetics of apple cylinders under combined hot air-microwave dehydration. *Journal of Food Engineering*, 63(1), 71–78. [http://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00284-X](http://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00284-X)
- Aregbesola, O. A., Ogunsina, B. S., Sofolahan, A. E., & Chime, N. N. (2015). Mathematical modeling of thin layer drying characteristics of dika (*Irvingia gabonensis*) nuts and kernels. *Nigerian Food Journal*, 33(1), 83–89. <http://doi.org/10.1016/j.nifoj.2015.04.012>
- Astorg, P., Gradelet, S., Bergès, R., & Suschetet, M. (1997). Dietary lycopene decreases the initiation of liver preneoplastic foci by diethylnitrosamine in the rat. *Nutrition and Cancer*, 29(1), 60–8. <http://doi.org/10.1080/01635589609514425>
- Awada, M., Soulage, C. O., Meynier, A., Debard, C., Plaisancie, P., Benoit, B., ... Michalski, M. C. (2012). Dietary oxidized n-3 PUFA induce oxidative stress and inflammation: role of intestinal absorption of 4-HHE and reactivity in intestinal cells. *The Journal of Lipid Research*, 53(10), 2069–2080. <http://doi.org/10.1194/jlr.M026179>
- Basanta, M. F., de Escalada Plá, M. F., Raffo, M. D., Stortz, C. A., & Rojas, A. M. (2014). Cherry fibers isolated from harvest residues as valuable dietary fiber and functional food ingredients. *Journal of Food Engineering*, 126, 149–155. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.11.010>

- Basu, S., Shivhare, U. S., & Muley, S. (2013). Moisture adsorption isotherms and glass transition temperature of pectin. *Journal of Food Science and Technology*, *50*(3), 585–589. <http://doi.org/10.1007/s13197-011-0327-y>
- Bazzano, L.A. He, J. Muntner, P. Vupputuri, S. Whelton, P. . (2003). Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Annals of Internal Medicine Other Resources*, *138*, 891–897.
- BeMiller, J. N., & Daniels, J. R. (2002). Phosphate esters in potato starch. Retrieved June 1, 2016, from http://www.cfs.purdue.edu/class/F&N630/Virt_Class_2/starch630.htm
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, *239*(1), 70–76. <http://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Berton-Carabin, C. C., Ropers, M. H., & Genot, C. (2014). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Involvement of the Interfacial Layer. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *13*(5), 945–977. <http://doi.org/10.1111/1541-4337.12097>
- Betiku, E., & Taiwo, A. E. (2015). Modeling and optimization of bioethanol production from breadfruit starch hydrolyzate vis-à-vis response surface methodology and artificial neural network. *Renewable Energy*, *74*, 87–94. <http://doi.org/10.1016/j.renene.2014.07.054>
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, *76*(5), 965–977.
- Biehler, E., Mayer, F., Hoffmann, L., Krause, E., & Bohn, T. (2010). Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, *75*(1). <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01417.x>
- Biology-forums. (2012). Plant Cell Wall Structure. Retrieved August 28, 2016, from <http://biology-forums.com/index.php?action=gallery;sa=view;id=5421>
- Boyer, J. S. (2009). Evans Review: Cell wall biosynthesis and the molecular mechanism of plant enlargement. *Functional Plant Biology*, *36*(5), 383–394. <http://doi.org/doi:10.1071/FP09048>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30. [http://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](http://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5)

- Brasil, G., Ronchi, S., do Nascimento, A., de Lima, E., Romão, W., da Costa, H., ... de Andrade, T. (2014). Antihypertensive Effect of *Carica papaya* Via a Reduction in ACE Activity and Improved Baroreflex. *Planta Medica*, *80*(17), 1580–1587. <http://doi.org/10.1055/s-0034-1383122>
- Bravo, L., Abia, R., & Saura Calixto, F. (1994). Polyphenols as Dietary Fiber Associated Compounds. Comparative Study on in Vivo and in Vitro Properties, *42*(44), 1481–1487. <http://doi.org/10.1021/jf00043a017>
- Britton, G. (1995). Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *9*(15), 1551–8. Retrieved from <http://www.fasebj.org/content/9/15/1551.abstract>
- Buckeridge, M. S., Pessoa dos Santos, H., & Tiné, M. A. S. (2000). Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*, *38*(1–2), 141–156. [http://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)00162-5](http://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)00162-5)
- 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. *Am J Clin Nutr*, *75*(4), 749–753. Retrieved from <http://ajcn.nutrition.org/cgi/content/long/75/4/749>
- Bunzel, M., Ralph, J., Marita, J., & Steinhart, H. (2000). Identification of 4-O-5'-coupled diferulic acid from insoluble cereal fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3166–3169. <http://doi.org/10.1021/jf000125n>
- Buttriss, J. L., & Stokes, C. S. (2008). Dietary fibre and health: an overview. *Nutrition Bulletin*, *33*(3), 186–200. <http://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2008.00705.x>
- Cadden, A. M. (1987). Comparative Effects of Particle Size Reduction on Physical Structure and Water Binding Properties of Several Plant Fibers. *Journal of Food Science*, *52*(6), 1595–1599. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb05886.x>
- Camacho-Sandoval, J. (2007). Investigación, poblaciones y muestra. *Acta Médica Costarricense*, *49*(1), 11–12. Retrieved from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022007000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Canini, A., Alesiani, D., D'Arcangelo, G., & Tagliatesta, P. (2007). Gas chromatography–mass spectrometry analysis of phenolic compounds from *Carica papaya* L. leaf. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*(7), 584–590. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2007.03.009>

- 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.
- Carter, B. P., & Schmidt, S. J. (2012). Developments in glass transition determination in foods using moisture sorption isotherms. *Food Chemistry*, 132(4), 1693–1698. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.022>
- Castillo Muñoz, N., Fernández González, M., Gómez Alonso, S., García Romero, E., & Hermosín Gutiérrez, I. (2009). Red-color related phenolic composition of garnacha tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(17), 7883–7891. <http://doi.org/10.1021/jf9002736>
- Castro, M. (2006). *Estudio de las interacciones entre agentes antimicrobianos y otros aditivos y/o componentes: efectos sobre la estabilidad de sistemas acuosos y emulsiones que modelan aderezos para ensalada*. Universidad de Buenos Aires.
- Chabrand Morales, R. (2007). *Destabilization of the emulsion formed during aqueous extraction of oil from full fat soybean flour*. Iowa State University.
- Changrue, V., Orsat, V., & Raghavan, G. S. V. (2008). Osmotically dehydrated microwave-vacuum drying of strawberries. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32(5), 798–816. <http://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00215.x>
- Chu, Y.-F., Sun, J., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Vegetables, (1), 6910–6916. <http://doi.org/10.1021/jf0207530>
- Codex-Alimentarius. (2009). Lista de métodos para la determinación de la fibra dietética en el trámite 7. Retrieved August 28, 2016, from ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCNFSDU/ccnfsdu31/nf31_03s.pdf
- Código Alimentario Argentino, C. A. A. (2013). Capítulo V: Normas para la rotulación y publicidad de los alimentos.
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, 44(7), 2047–2053. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.003>
- Cosgrove, D. J. (2005). Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, 6(11), 850–861. <http://doi.org/10.1038/nrm1746>
- Craft, N. E., & Soares, J. H. (1992). Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and beta.-carotene in organic solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(3), 431–434.

- Crombie, H. J., Chengappa, S., Hellyer, A., & Reid, J. S. G. (1998). A xyloglucan oligosaccharide-active, transglycosylating-D-glucosidase from the cotyledons of nasturtium (*Tropaeolum majus* L) seedlings – purification, properties and characterization of a cDNA clone. *The Plant Journal*, 15(1), 27–38. <http://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1998.00182.x>
- Crombie, H. J., Chengappa, S., Jarman, C., Sidebottom, C., & Reid, J. S. G. (2002). Molecular characterisation of a xyloglucan oligosaccharide-acting α -D-xylosidase from nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) cotyledons that resembles plant “apoplastic” α -D-glucosidases. *Planta*, 214(3), 406–413. <http://doi.org/10.1007/s004250100631>
- Crowe, T. D., & White, P. J. (2001). Adaptation of the AOCS official method for measuring hydroperoxides from small-scale oil samples. *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 78(12), 1267–1269. <http://doi.org/10.1007/s11745-001-0424-7>
- Cui, S. W. (2005). *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties and Applications*. Boca Raton, Florida: Taylor and Francis.
- Cui, S. W., & Wang, Q. (2009). Cell wall polysaccharides in cereals: Chemical structures and functional properties. *Structural Chemistry*, 20(2), 291–297. <http://doi.org/10.1007/s11224-009-9441-0>
- Cui, Z. W., Xu, S. Y., Sun, D. W., & Chen, W. (2005). Temperature Changes during Microwave-Vacuum Drying of Sliced Carrots. *Drying Technology*, 23(5), 1057–1074. <http://doi.org/10.1081/DRT-200059136>
- Dahl, W., & Stewart, M. (2015). Dietetics : Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(11), 1861–1869. <http://doi.org/10.1016/j.jand.2015.09.003>
- De’Nobili, M. D., Curto, L. M., Delfino, J. M., Soria, M., Fissore, E. N., & Rojas, A. M. (2013). Performance of alginate films for retention of l-(+)-ascorbic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 450(1–2), 95–103. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.027>
- de Ancos, B., Cano, M. P., Hernandez, A., & Monreal, M. (1999). Effects of microwave heating on pigment composition and colour of fruit purees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(5), 663–670. [http://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0010\(199904\)79:5<663::aid-jsfa232>3.0.co;2-l](http://doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(199904)79:5<663::aid-jsfa232>3.0.co;2-l)
- de Barros, B., Spacino, I., & Bruns, R. E. (2003). *Como Fazer Experimentos. Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*. Sao Paulo, Brazil: Unicamp Ed.

- de Escalada Pla, M. F., González, P., Sette, P., Portillo, F., Rojas, A. M., & Gerschenson, L. N. (2012). Effect of processing on physico-chemical characteristics of dietary fibre concentrates obtained from peach (*Prunus persica* L.) peel and pulp. *Food Research International*, 49(1), 184–192. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.060>
- 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(7), 1176–1185. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.08.006>
- de Escalada Pla, M. F., Uribe, M., Fissore, E. N., Gerschenson, L. N., & 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(2), 239–248. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.07.018>
- de Moraes Barros, H. R., Pinto de Castro Ferrerira, T. A., & Genovese, M. I. (2012). Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chemistry*, 134(4), 1892–1898. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.090>
- de Moraes Crizel, T., Jablonski, A., de Oliveira Rios, A., Rech, R., & Flôres, S. H. (2013). Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1). <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.002>
- Del castillo, E., Montgomery, D. C., & McCarville, D. R. (1996). Modified Desirability Functions for Multiple Response Optimization.pdf. *Journal of Quality Technology*, 28(3), 337–345.
- Del Rio, D., Costa, L. G., Lean, M. E. J., & Crozier, A. (2010). Polyphenols and health: what compounds are involved? *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases : NMCD*, 20(1), 1–6. <http://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.05.015>
- Demiray, E., Tulek, Y., & Yilmaz, Y. (2013). Degradation kinetics of lycopene, β -carotene and ascorbic acid in tomatoes during hot air drying. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 172–176. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.06.001>
- Dewanto, V., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4959–4964. <http://doi.org/10.1021/jf0255937>
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25–39.

[http://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00120-5](http://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5)

- Djendoubi Mrad, N., Boudhrioua, N., Kechaou, N., Courtois, F., & Bonazzi, C. (2012). Influence of air drying temperature on kinetics, physicochemical properties, total phenolic content and ascorbic acid of pears. *Food and Bioproducts Processing*, 90(3), 433–441. <http://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.11.009>
- Doublier, J. L., & Cuvelier, G. (2006). Gums and hydrocolloids: Functional aspects. In *Carbohydrates in Foods* (Eliasson, pp. 273–304). Boca Raton, Florida: Taylor and Francis.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <http://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Duzzioni, A. G., Lenton, V. M., Silva, D. I. S., & Barrozo, M. A. S. (2013). Effect of drying kinetics on main bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) residue. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(5), 1041–1047. <http://doi.org/10.1111/ijfs.12060>
- 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(6), 691–697. <http://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00566.x>
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124(2), 411–421. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
- Englyst, K. N., Liu, S., & Englyst, H. N. (2007). Nutritional characterization and measurement of dietary carbohydrates. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(Suppl 1), S19–S39. <http://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602937>
- Erdman, J. W., Bierer, T. L., & Gugger, E. T. (1993). Absorption and transport of carotenoids. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 691, 76–85. <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb26159.x>
- FDA, D. of H. and H. S. (1993). Health Claims: fruits and vegetables and cancer (Revised as of april 1, 2005). In *FDA, Code of Federal Regulations. Vol 2, title 21, chapter I, subchapter B, part 101, subpart E, section 101.78*. Rockville, MD: FDA.
- Femenia, A., Sastre-Serrano, G., Simal, S., Garau, M. C., Eim, V. S., & 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(1), 106–112. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.022>
- Filisetti-Cozzi, T. M. C. C., & Carpita, N. C. (1991). Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical Biochemistry*, 197(1), 157–162. [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(91\)90372-Z](http://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90372-Z)
- 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. *Food Science and Technology International*, 17(6), 517–527. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1177/1082013211399674>
- Fissore, E. N., Ponce, N. M., Stortz, C. A., Rojas, A. M., & Gerschenson, L. N. (2007). Characterisation of Fiber Obtained from Pumpkin (*cucumis moschata* duch.) Mesocarp Through Enzymatic Treatment. *Food Science and Technology International*, 13(2), 141–151. <http://doi.org/10.1177/1082013207077914>
- Frankel, E. (2005). *Lipid oxidation*. Bridgwater, England: The Oily Press LTD.
- Friberg, S., Larsson, K., & Sjoblom, J. (2004). *Food Emulsions*. New York: Marcel Dekker.
- 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(9), 999–1003. <http://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00616.x>
- Garau, M. C., Simal, S., Rosselló, C., & Femenia, A. (2007). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. *Food Chemistry*, 104(3), 1014–1024. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.009>
- García, J. (2007). *Especias. Delicias exóticas*. Barcelona, España: Intermón Oxfam.
- 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(4), 471–474. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00225-3](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00225-3)
- Garti, N. (1997a). Double emulsions — scope, limitations and new achievements. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 123–124, 233–246. [http://doi.org/10.1016/S0927-7757\(96\)03809-5](http://doi.org/10.1016/S0927-7757(96)03809-5)
- Garti, N. (1997b). Progress in Stabilization and Transport Phenomena of Double

- Emulsions in Food Applications. *LWT - Food Science and Technology*, 30(3), 222–235. <http://doi.org/10.1006/fstl.1996.0176>
- Garti, N., & Bisperink, C. (1998). Double emulsions: Progress and applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 3(6), 657–667. [http://doi.org/10.1016/S1359-0294\(98\)80096-4](http://doi.org/10.1016/S1359-0294(98)80096-4)
- Gayosso-García Sancho, L. E., Yahia, E. M., & González-Aguilar, G. A. (2011). Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International*, 44(5), 1284–1291. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.001>
- Gerschenson, L. N., Bartholomai, G. B., & Chirife, J. (1981). Structural Collapse and Volatile Retention During Heating and Rehumidification of Freeze-Dried Tomato Juice. *Journal of Food Science*, 46(5), 1552–1556. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb04218.x>
- Gerster, H. (1997). The potential role of lycopene for human health. *Journal of the American College of Nutrition*, 16(2), 109–126. <http://doi.org/10.1080/07315724.1997.10718661>
- Giri, S. K., & Prasad, S. (2007). Drying kinetics and rehydration characteristics of microwave-vacuum and convective hot-air dried mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 78(2), 512–521. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.10.021>
- Golan, R., Zehavi, U., Naim, M., Patchornik, A., Smirnoff, P., & Herchman, M. (2000). Inhibition of Papaya latex papain by photosensitive inhibitors. 1-(4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl)-2-nitroethene and 1,1-dicyano-2-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-ethene. *Journal of Protein Chemistry*, 19(2), 117–122. <http://doi.org/10.1023/A:1007030532433>
- Gómez-Ordóñez, E., Jiménez-Escrig, A., & Rupérez, P. (2010). Dietary fibre and physicochemical properties of several edible seaweeds from the northwestern Spanish coast. *Food Research International*, 43(9), 2289–2294. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.08.005>
- Goñi, I., & Serrano, J. (2005). The intake of dietary fiber from grape seeds modifies the antioxidant status in rat cecum. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(11), 1877–1881. <http://doi.org/10.1002/jsfa.2213>
- Grigelmo-Miguel, N., Gorinstein, S., & Martín-Belloso, O. (1999). Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. *Food Chemistry*, 65(2), 175–

181. [http://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00190-3](http://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00190-3)
- 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(2), 185–197. [http://doi.org/10.1016/s0144-8617\(98\)00053-8](http://doi.org/10.1016/s0144-8617(98)00053-8)
- Guillon, F., & Champ, M. (2000). Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research International*, 33(3–4), 233–245. [http://doi.org/10.1016/s0963-9969\(00\)00038-7](http://doi.org/10.1016/s0963-9969(00)00038-7)
- Guillon, F., Champ, M., Thibault, J. F., & Saulnier, L. (2011). Dietary fibre functional products. In M. Saarela (Ed.), *Functional Foods (Second edition)* (pp. 582–622). Woodhead Publishing.
- Ha, M., Jarvis, M. C., & Mann, J. I. (2000). Review A definition for dietary fibre. *European Journal of Clinical Nutrition*, 861–864.
- Hancock, B. C., & Zografi, G. (1994). The Relationship Between the Glass Transition Temperature and the Water Content of Amorphous Pharmaceutical Solids. *Pharmaceutical Research: An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*. <http://doi.org/10.1023/A:1018941810744>
- Hayashi, R. (2002). *Trends in High Pressure Bioscience y Biotechnology* (Progress i). London, U.K: Elsevier Series:
- Hayati, I. N., Che Man, Y. Bin, Tan, C. P., & Aini, I. N. (2005). Monitoring peroxide value in oxidized emulsions by Fourier transform infrared spectroscopy. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107(12), 886–895. <http://doi.org/10.1002/ejlt.200500241>
- Hedrén, E., Diaz, V., & Svanberg, U. (2002). Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(5), 425–430. <http://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601329>
- Hervert-Hernández, D., García, O. P., Rosado, J. L., & Goñi, I. (2011). The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. *Food Research International*, 44(5), 1182–1189. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.021>
- Hollman, P. C. H., & Arts, I. C. W. (2000). Flavonols, flavones and flavanols – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1081–1093.

- Ifesan, B. O., Siripongvutikorn, S., & Voravuthikunchai, S. P. (2009). Application of Eleutherine americana crude extract in homemade salad dressing. *Journal Of Food Protection*, 72(3), 650–655. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19343958>
- Igual, M., García-Martínez, E., Martín-Esparza, M. E., & Martínez-Navarrete, N. (2012). Effect of processing on the drying kinetics and functional value of dried apricot. *Food Research International*, 47(2), 284–290. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.019>
- Jarvis, M. C. (2011). Plant cell walls: Supramolecular assemblies. *Food Hydrocolloids*, 25(2), 257–262. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.09.010>
- Jimenez Colmenero, F. (1996). Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 7(2), 41–48. [http://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)81327-6](http://doi.org/10.1016/0924-2244(96)81327-6)
- Kaczmarczyk, M. M., Miller, M. J., & Freund, G. G. (2012). The health benefits of dietary fiber: Beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism*, 61(8), 1058–1066. <http://doi.org/10.1016/j.metabol.2012.01.017>
- Karpińska, M., Borowski, J., & Danowska-Oziewicz, M. (2000). Antioxidative activity of rosemary extract in lipid fraction of minced meat balls during storage in a freezer. *Die Nahrung*, 44(1), 38–41. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10702998
- Katiyar, S. K., & Elmets, C. A. (2001). Green tea polyphenolic antioxidants and skin photoprotection (Review). *International Journal of Oncology*, 18(6), 1307–1313. <http://doi.org/10.3892/ijo.18.6.1307>
- Kim, D. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321–326. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00423-5](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00423-5)
- King, D. E., Mainous Iii, A. G., & Lambourne, C. A. (2012). Trends in Dietary Fiber Intake in the United States, 1999-2008. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 112(5), 642–648. <http://doi.org/10.1016/j.jand.2012.01.019>
- Kivelä, R. (2011). Non-enzymatic degradation of (1→3) (1→4)-beta-D-Glucan in aqueous processing of oats. Retrieved from <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/27303/nonenzym.pdf?sequence=1>

- Knoerzer, K., Regier, M., & Schubert, H. (2006). Microwave heating: A new approach of simulation and validation. *Chemical Engineering & Technology*, 29(7), 796–801. <http://doi.org/10.1002/ceat200600038>
- Knox, J. P. (2008). Revealing the structural and functional diversity of plant cell walls. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 308–13. <http://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.001>
- Krokida, M. K., & Maroulis, Z. B. (2007). Effect of microwave drying on some quality properties of dehydrated products. *Drying Technology*. Retrieved from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07373939908917545>
- Kwon, B. D., Foss, P. A., & Rha, C. H. K. (1987). Rheological characterization of high viscosity polysaccharides. In M. Yalpani (Ed.), *Industrial Polysaccharides* (pp. 223–266). Amsterdam: Elsevier Science Publisher B.V.
- Lakhanpal, P., & Rai, D. K. (2007). Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), 22–37. Retrieved from http://www.akspublication.com/paper05_jul-dec2007.htm
- Lancaster, J. E., Lister, C. E. E., Reay, P. F., & Triggs, C. M. (1997). Influence of Pigment Composition On Skin Color in a Wide Range of Fruit and Vegetables. *Journal of American Society Horticultural Science*.
- Latorre, M. E., Bonelli, P. R., Rojas, A. M., & Gerschenson, L. N. (2012). Microwave inactivation of red beet (*Beta vulgaris* L. var. conditiva) peroxidase and polyphenoloxidase and the effect of radiation on vegetable tissue quality. *Journal of Food Engineering*, 109(4), 676–684. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.11.026>
- Laufenberg, G., Kunz, B., & Nystroem, M. (2003). Transformation of vegetable waste into value added products: *Bioresource Technology*, 87(2), 167–198. [http://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00167-0](http://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00167-0)
- Lawless, H. (2012). *Quantitative Sensory Analysis. Psychophysics, Models and Intelligent Design*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Lichtenstein, A. H., Appel, L. J., Brands, M., Carnethon, M., Daniels, S., Franch, H. A., ... Wylie-Rosett, J. (2006). Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114(1), 82–96. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.176158>
- Liese, A. D., Roach, A. K., Sparks, K. C., Marquart, L., D'Agostino, R. B., & Mayer-Davis, E. J. (2003). Whole-grain intake and insulin sensitivity: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(5), 965–971.

- Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134(12 Suppl), 3479S–3485S.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-71849104860&partnerID=tZOtx3y1>
- Lu, L., Tang, J., & Ran, X. (1999). Temperature and Moisture Changes During Microwave Drying of Sliced Food. *Drying Technology*, 17(3), 414–431. <http://doi.org/10.1080/07373939908917543>
- Lund, E. D., & Smoot, J. M. (1982). Dietary fiber content of some tropical fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(6), 1123–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6294164>
- Lunn, J., & Buttriss, J. L. (2007). Carbohydrates and dietary fibre. *Nutrition Bulletin*, 32(1), 21–64. <http://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2007.00616.x>
- Macfarlane, G., & Macfarlane, S. (2012). Bacteria, Colonic Fermentation, and Gastrointestinal Health. *Journal of AOAC International*, 95(1), 50–60. <http://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE>
- Madrau, M. A., Piscopo, A., Sanguinetti, A. M., Del Caro, A., Poiana, M., Romeo, F. V., & Piga, A. (2009). Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of apricots. *European Food Research and Technology*, 228(3), 441–448. <http://doi.org/DOI 10.1007/s00217-008-0951-6>
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 79(5), 727–747. Retrieved from <http://ajcn.nutrition.org/cgi/content/long/79/5/727>
- Mangels, A. R., Holden, J. M., Beecher, G. R., Forman, M. R., & Lanza, E. (1993). Carotenoid content of fruits and vegetables: An evaluation of analytic data. *Journal of the American Dietetic Association*, 93(3), 284–296. [http://doi.org/10.1016/0002-8223\(93\)91553-3](http://doi.org/10.1016/0002-8223(93)91553-3)
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez Álvarez, J. A., & Viuda Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135(3), 1520–1526. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.057>
- McBurney, M. I., & Thompson, L. U. (1990). Fermentative characteristics of cereal brans and vegetable fibers. *Nutrition and Cancer*, 13(4), 271–80.

- <http://doi.org/10.1080/01635589009514069>
- McCleary, B. V. (2007). An integrated procedure for the measurement of total dietary fibre (including resistant starch), non-digestible oligosaccharides and available carbohydrates. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(1), 291–308.
- McClements, D. J. (2005). *Food Emulsions: Principles, Practice, and Techniques*. Florida: Boca Raton: CRC Press.
- McClements, D. J. (2007). Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7), 611–649. <http://doi.org/10.1080/10408390701289292>
- Mehta, N., Ahlawat, S. S., Sharma, D. P., & Dabur, R. S. (2013). Novel trends in development of dietary fiber rich meat products—a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 633–647. <http://doi.org/10.1007/s13197-013-1010-2>
- Meléndez Hevia, E. (2011). Vitamina C. Retrieved May 27, 2016, from <http://www.metabolismo.biz/web/vitamina-c/>
- Ministerio de Salud, P. de la N. (2007). Encuesta Nacional de Nutrición y Salud. Retrieved July 27, 2016, from <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000257cnt-a08-ennys-documento-de-resultados-2007.pdf>
- Moller, I., Sorensen, I., Bernal, A. J., Blaukopf, C., Lee, K., Obro, J., ... Willats, W. G. T. (2007). High-throughput mapping of cell-wall polymers within and between plants using novel microarrays. *Plant Journal*, 50(6), 1118–1128. <http://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03114.x>
- Montgomery, D. C. (2008). *Design and analysis of experiments*. New Jersey: John Wiley.
- Moore, R., Clark, W. D., & Vodopich, D. S. (1996). *Botany* (Seguda edi). Boston.: WCB/McGraw-Hill.
- Morton, L. W., Abu-Amsha Caccetta, R., Puddey, I. B., & Croft, K. D. (2000). Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 27(3), 152–159. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1681.2000.03214.x>
- Muggeridge, M., & Clay, M. (2001). Quality specifications for herbs and spices. Retrieved August 7, 2015, from <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=cK-jAgAAQBAJ&pgis=1>

- 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(5), 1155–8. <http://doi.org/10.1271/bbb.66.1155>
- 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.
- Nayak, S. K., Pattnaik, P., & Mohanty, A. K. (2000). Dietary Fibre: A Low Calorie Dairy Adjunct. *Indian Food Industry*, 19(4), 268–278.
- Ng, A., Parr, A. J., Ingham, L. M., Rigby, N. M., & Waldron, K. W. (1998). Cell Wall Chemistry of Carrots (*Daucus carota* Cv. Armstrong) during Maturation and Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 2933–2939. <http://doi.org/10.1021/jf9709921>
- Nieto Calvache, J. E., Fissore, E. N., Latorre, M. E., Soria, M., De Escalada Pla, M. F., & Gerschenson, L. N. (2015). Obtention of dietary fibre enriched fractions from peach bagasse using ethanol pre-treatment and microwave drying. *LWT - Food Science and Technology*, 62(2), 1169–1176. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.045>
- Niklas, K. J. (2004). The Cell Walls that Bind the Tree of Life. *BioScience*, 54(9), 831–841. [http://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0831:tcwtbt\]2.0.co;2](http://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0831:tcwtbt]2.0.co;2)
- Nonhebel, G., & Moss, A. A. H. (2002). *El secado de sólidos en la industria química*. Barcelona, España: Reverté S.A.
- 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(1), 109–139. <http://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141750>
- Orsat, V., Raghavan, V., & Meda, V. (2005). Microwave technology for food processing: an overview. In S. Helmar & R. Marc (Eds.), *The microwave processing of foods* (pp. 105–118). Boston, New York: Taylor & Francis. CRC Press Boca raton.
- Page, G. (1949). *Factors influencing the maximum rates of air drying shelled corn in thin layer*. Purdue University, Lafayette, IN, U.S.A.
- Paiva, S. A. R., & Russell, R. M. (1999). Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 18(5), 426–433. <http://doi.org/10.1080/07315724.1999.10718880>

- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2009). The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, *76*(1), R6–R15. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x>
- Parada, J., & Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, *72*(2), 21–32. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00274.x>
- 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. <http://doi.org/10.1001/archinternmed.2011.18>
- Parker, R. S. (1988). Carotenoid and tocopherol composition of human adipose tissue. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *47*(1), 33–36.
- Parker, R. S. (1997). Bioavailability of carotenoids. *European Journal of Clinical Nutrition. Supplement*, *51*(1), 586–590. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=2591010>
- Parra, P. (2012). Papaya o Mamón (*Carica papaya*) en Argentina, Panorama de la Cadena Agroindustrial. Retrieved May 11, 2016, from http://www.minagri.gob.ar/site/desarrollo_rural/producciones_regionales/01_origen_vegetal/02_frutas_tropicales/_informes/panorama_papaya_o_mamon_2012.pdf
- Pereira, T., de Almeida, P. S. G., de Azevedo, I. G., da Cunha, M., de Oliveira, J. G., da Silva, M. G., & Vargas, H. (2009). Gas diffusion in “Golden” papaya fruit at different maturity stages. *Postharvest Biology and Technology*, *54*(3), 123–130. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.07.010>
- Perera, C. O., & Yen, G. M. (2007). Functional Properties of Carotenoids in Human Health. *International Journal of Food Properties*, *10*, 201–230. <http://doi.org/10.1080/10942910601045271>
- Pérez Jiménez, J., Serrano, J., Taberner, M., Arranz, S., Díaz Rubio, M. E., García Diz, L., ... Saura Calixto, F. (2009). Bioavailability of phenolic antioxidants associated with dietary fiber: Plasma antioxidant capacity after acute and long-term intake in humans. *Plant Foods for Human Nutrition*, *64*(2), 102–107. <http://doi.org/10.1007/s11130-009-0110-7>
- Pérez Jiménez, J., Serrano, J., Taberner, M., Arranz, S., Díaz Rubio, M. E., García Diz, L., ... Saura Calixto, F. (2008). Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. *Nutrition*, *24*(7–8), 646–653.

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2008.03.012>
- Peschel, W., Sánchez Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzía, I., Jiménez, D., ... Codina, C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, 97(1), 137–150. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.033>
- Piyasena, P., Dussault, C., Koutchma, T., Ramaswamy, H. S., & Awuah, G. B. (2003). Radio frequency heating of foods: principles, applications and related properties--a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(6), 587–606. <http://doi.org/10.1080/10408690390251129>
- Popper, Z. A. (2008). Evolution and diversity of green plant cell walls. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 286–92. <http://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.02.012>
- Portalanaroca. (2016). Plantación de mamón variedad Formosa. Retrieved June 8, 2016, from <http://www.portalanaroca.com.br/linda-plantacao-de-mamao-formosa/>
- Pszczola, D. E. (2001). Salad days? Not for these dressings. *Food Technology*, 55(4), 78–84.
- Puttongsiri, T., & Haruenkit, R. (2010). Formulation of Chitosan-Oleic Acid Coating for Kiew Wan Tangerine by Response Surface Methodology, 470, 462–470.
- Quenzer, N., & Burns, E. (1981). Effects of microwave, steam and water blanching of freeze-dried spinach. *Journal of Food Science*, 46(2), 410–413.
- Quisumbing, E. (1978). *Medicinal plants of the Philippines*. Manila: Katha Pub. Co.
- 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), 195–201. <http://doi.org/10.1590/S0104-66322005000200005>
- Raghavendra, S. N., Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., & Tharanathan, R. N. (2004). Dietary fiber from coconut residue: Effects of different treatments and particle size on the hydration properties. *European Food Research and Technology*, 218(6), 563–567. <http://doi.org/10.1007/s00217-004-0889-2>
- Rahman, N. K., Kamaruddin, A. H., & Uzir, M. H. (2010). Continuous biosynthesis of farnesyl laurate in packed bed reactor: optimization using surface methodology. *Journal of Applied Sciences*, 1–6.
- Raigond, P., Ezekiel, R., & Raigond, B. (2015). Resistant starch in food: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(10), 1968–1978.

- <http://doi.org/10.1002/jsfa.6966>
- Ramallo, L. A., & Mascheroni, R. H. (2012). Quality evaluation of pineapple fruit during drying process. *Food and Bioproducts Processing*, 90(2), 275–283. <http://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.06.001>
- Ramaswamy, H., & Tang, J. (2008). Microwave and Radio Frequency Heating. *Food Sciences and Technology International*, 14(5), 423–427.
- Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 55(3), 207–216. <http://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.012>
- Rechner, A. R., Smith, M. a., Kuhnle, G., Gibson, G. R., Debnam, E. S., Srail, S. K. S., ... Rice-Evans, C. a. (2004). Colonic metabolism of dietary polyphenols: Influence of structure on microbial fermentation products. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(2), 212–225. <http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2003.09.022>
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152–159. [http://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01018-2](http://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01018-2)
- Rivera Pastrana, D. M., Yahia, E. M., & González Aguilar, G. a. (2010). Phenolic and carotenoid profiles of papaya fruit (*Carica papaya* L.) and their contents under low temperature storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(14), 2358–2365. <http://doi.org/10.1002/jsfa.4092>
- Robertson, J. A., de Monredon, F. D., Dysseler, P., Guillon, F., Amado, R., & Thibault, J.-F. (2000). Hydration Properties of Dietary Fibre and Resistant Starch: a European Collaborative Study. *LWT - Food Science and Technology*, 33(2), 72–79. <http://doi.org/10.1006/fstl.1999.0595>
- Robertson, J. A., & Eastwood, M. A. (1981). An examination of factors which may affect the water holding capacity of dietary fibre. *Br J Nutr*, 45(1), 83–88. <http://doi.org/10.1079/BJN19810079>
- Rocha, R. P. da, Melo, E. de C., Corbín, J. B., Berbert, P. A., Donzeles, S. M. L., & Tabar, J. A. (2012). Cinética del secado de tomillo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola E Ambiental*, 16(6), 675–683. <http://doi.org/10.1590/S1415-43662012000600013>
- Rodriguez-Amaya, D. ., & Kimura, M. (2004). *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis. Technical Monograph Series 2*. Washington: Washington: International Food Policy Research Institute (IFPRI).

- Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández Bolaños, J., Guillén, R., & Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 17(1), 3–15. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.10.002>
- Rufino, M. S. M., Fernandes, F. A. N., Alves, R. E., & de Brito, E. S. (2009). Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. *Food Chemistry*, 114(2), 693–695. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.098>
- Ruhanian, S., & Movagharnejad, K. (2016). Mathematical modeling and experimental analysis of potato thin-layer drying in an infrared-convective dryer. *Engineering in Agriculture, Environment and Food*, 9(1), 84–91. <http://doi.org/10.1016/j.eaef.2015.09.004>
- Sagar, V. R., & Suresh Kumar, P. (2010). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(1), 15–26. <http://doi.org/10.1007/s13197-010-0010-8>
- Salvador, V., Cherbut, C., Barry, J. L., Bertrand, D., Bonnet, C., & Delort Laval, J. (1993). Sugar composition of dietary fibre and short-chain fatty acid production during in vitro fermentation by human bacteria. *British Journal of Nutrition*, 70(1), 189. <http://doi.org/10.1079/BJN19930116>
- Sambucetti, M. E. (2006). La fibra de los alimentos. In M. L. PITA MARTÍN DEPORTELA (Ed.), *Energía y Macronutrientes en la Nutrición del siglo XXI* (pp. 181–192). Buenos Aires Argentina: La prensa médica Argentina.
- Sánchez Alonso, I., Jiménez Escrig, A., Saura Calixto, F., & Borderías, a. J. (2006). Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chemistry*, 101(1), 372–378. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.058>
- Santo Domingo, C., Soria, M., Rojas, A. M., Fissore, E. N., & Gerschenson, L. N. (2015). Protease and hemicellulase assisted extraction of dietary fiber from wastes of *Cynara cardunculus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 6057–75. <http://doi.org/10.3390/ijms16036057>
- Santos, P. H. S., & Silva, M. a. (2008). Retention of Vitamin C in Drying Processes of Fruits and Vegetables — A Review. *Drying Technology*, 26(12), 1421–1437. <http://doi.org/10.1080/07373930802458911>
- Santos, P. H. S., & Silva, M. a. (2009). Kinetics of L-Ascorbic Acid Degradation in Pineapple Drying under Ethanolic Atmosphere. *Drying Technology*, 27(August

- 2014), 947–954. <http://doi.org/10.1080/07373930902901950>
- Saura Calixto, F. (1993). Fibra dietetica de manzana: hacia nuevos tipos de fibras de alta calidad. *Alimentaria*, (242), 57–61. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=4849626>
- Saura Calixto, F., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101(2), 492–501. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006>
- Schneeman, B. O. (1999). Fiber , Inulin and Oligofructose : Similarities and Differences 1. *The Journal of Nutrition*, 1424–1427.
- Secmeler, O. (2003). *Comparison of microwave drying and microwave mixed-bed drying of red peppers*. Middle East Technical University, Turkey.
- Sheldrake, P. (2003). Controlling textures in soups, sauces and dressings. In B. M. McKeena (Ed.), *Texture in Foods. Volume 1: Semi-Solid Foods*. Cambridge, England.
- Shui, G., & Leong, L. P. (2006). Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*, 97(2), 277–284. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.048>
- Simirgiotis, M. J., Caligari, P. D. S., & Schmeda Hirschmann, G. (2009). Identification of phenolic compounds from the fruits of the mountain papaya *Vasconcellea pubescens* A. DC. grown in Chile by liquid chromatography–UV detection–mass spectrometry. *Food Chemistry*, 115(2), 775–784. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.071>
- Slade, L., & Levine, H. (1994). Water and the Glass Transition — Dependence of the Glass Transition on Composition and Chemical Structure: Special Implications for Flour Functionality in Cookie Baking. In P. Fito & A. M. McKenna (Eds.), *Water in Foods* (pp. 143–188). Amsterdam: Pergamon. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-85861-037-5.50014-X>
- Slade, L., & Levine, H. (1995). Water and the glass transition — Dependence of the glass transition on composition and chemical structure: Special implications for flour functionality in cookie baking. *Journal of Food Engineering*, 24(4), 431–509. [http://doi.org/10.1016/0260-8774\(95\)90766-5](http://doi.org/10.1016/0260-8774(95)90766-5)
- Sluijs, I., Cadier, E., Beulens, J. W. J., van der A, D. L., Spijkerman, a. M. W., & van der Schouw, Y. T. (2015). Dietary intake of carotenoids and risk of type 2 diabetes. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 25(4), 376–381.

- <http://doi.org/10.1016/j.numecd.2014.12.008>
- Smittle, R. B., & Cirigliano, M. (1994). Salad dressings. In C. Vanderzant & S. D. F (Eds.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 Edición*. New York.
- Somerville, C., Bauer, S., Brininstool, G., Facette, M., Hamann, T., Milne, J., ... Youngs, H. (2004). Toward a Systems Approach to, *2206(2004)*, 2206–2211. <http://doi.org/10.1126/science.1102765>
- Soukoulis, C., Lebesi, D., & Tzia, C. (2009). Enrichment of ice cream with dietary fibre: Effects on rheological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. *Food Chemistry*, *115(2)*, 665–671. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.070>
- Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, *81(1)*, 200–208. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021>
- Spiller, G. A. (2001). *Definitions of dietary fiber. CRC handbook of dietary fiber in human nutrition*. London: CRC Press Boca Raton.
- Starley, I. F., Mohammed, P., Schneider, G., & Bickler, S. W. (1999). The treatment of paediatric burns using topical papaya. *Burns*, *25(7)*, 636–639. [http://doi.org/10.1016/S0305-4179\(99\)00056-X](http://doi.org/10.1016/S0305-4179(99)00056-X)
- Stauffer, C. E. (1999). *Emulsifiers*. St Paul: MN: Eagen Press.
- Stone, H., Bleibaum, R., & Thomas, H. (2012). *Sensory Evaluation Practices* (fourth edi). San Diego, CA, USA: Academic Press.
- Sulaiman, C. T., George, S., & Balachandran, I. (2013). Characterization of Phenolic Compounds in Fruit Extracts of Three Medicinal Plants Using Liquid Chromatography-Negative Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry Letters*, *3(5–6)*, 322–329. <http://doi.org/10.1080/22297928.2013.861167>
- Sun, J., Chu, Y. F., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Vegetables, (1), 6910–6916. <http://doi.org/10.1021/jf0207530>
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte, A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, *120(2)*, 599–606. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>

- Tang, J. (2005). Dielectric properties of foods. In H. Schubert & R. Marc (Eds.), *Microwave processing of foods* (pp. 22–38). New York, Washington DC: Taylor & Francis CRC Press Boca Raton. Boston.
- Titgemeyer, C., & Bourquin, D. (1991). Fermentability of various fiber sources by human fecal bacteria in vitro¹³.
- Tosh, S. M., & Yada, S. (2010). Dietary fibres in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. *Food Research International*, *43*(2), 450–460. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.005>
- Tril, U., Fernández López, J., Álvarez, J. Á. P., & Viuda Martos, M. (2014). Chemical, physicochemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of rich-fibre powder extract obtained from tamarind (*Tamarindus indica* L.). *Industrial Crops and Products*, *55*. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.047>
- Tseng, A., & Zhao, Y. (2013). Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food Chemistry*, *138*(1), 356–365. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.148>
- 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*, *1*(3), 90–109. <http://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2002.tb00009.x>
- Valente, A., Albuquerque, T. G., Sanches Silva, A., & Costa, H. S. (2011). Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Research International*, *44*(7), 2237–2242. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.012>
- Van Buren, J. P. (1979). The chemistry of texture in fruits and vegetables. *Journal of Texture Studies*, *10*(1979), 1–23. <http://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1979.tb01305.x>
- Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Martínez-Monzó, J., García-Segovia, P., ... Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chemistry*, *132*(1), 51–59. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.029>
- Vega, A., Fito, P., Andrés, A., & Lemus, R. (2007). Mathematical modeling of hot-air drying kinetics of red bell pepper (var. Lamuyo). *Journal of Food Engineering*, *79*(4),

- 1460–1466. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.028>
- Vega Gálvez, A., Di Scala, K., Rodríguez, K., Lemus Mondaca, R., Miranda, M., López, J., & Perez Won, M. (2009). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry*, 117(4), 647–653. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.066>
- Venkatesh, M. S., & Raghavan, G. S. V. (2004). An Overview of Microwave Processing and Dielectric Properties of Agri-food Materials. *Biosystems Engineering*, 88(1), 1–18. <http://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2004.01.007>
- Vinson, J. A., Su, X., Zubik, L., & Bose, P. (2001). Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods:Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5315–5321. <http://doi.org/10.1021/jf0009293>
- Viuda Martos, M., Ruiz Navajas, Y., Fernández López, J., & Pérez Álvarez, J. A. (2010). Effect of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages. *Food Control*, 21(4), 436–443. <http://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.004>
- Wall, M. M. (2006). Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(5), 434–445. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.002>
- Walstra, P. (1993). Principles of emulsion formation. *Chemical Engineering Science*, 48(2), 333–349. [http://doi.org/10.1016/0009-2509\(93\)80021-H](http://doi.org/10.1016/0009-2509(93)80021-H)
- Walstra, P. (2003). *Physical Chemistry of Foods*. New York, NY: Marcel Decker.
- Wang, Q., & Cui, S. W. (2005). “Understanding the physical properties of food polysaccharides.” In S. W. Cui (Ed.), *Food Carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*. London: Taylor and Francis, United Kingdom.
- Wathey, B., Tierney, J., Lidström, P., & Westman, J. (2002). The impact of microwave-assisted organic chemistry on drug discovery. *Drug Discovery Today*, 7(6), 373–380.
- Whitehurst, R. J. (2004). *Emulsifiers in Food Technology*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Limited.
- Willats, W. G. T., Knox, J. P., & Mikkelsen, J. D. (2006). Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17(3), 97–104.

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2005.10.008>
- Williamson, G., & Manach, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr*, 81(1), 243S–255. Retrieved from <http://ajcn.nutrition.org/cgi/content/long/81/1/243S>
- Wood, P. J., & Siddiqui, I. R. (1971). Determination of methanol and its application to measurement of pectin ester content and pectin methyl esterase activity. *Analytical Biochemistry*, 39(2), 418–428. [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90432-5](http://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90432-5)
- Wootton Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44(1), 217–224. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.033>
- World Health Organization. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *World Health Organization Technical Report Series*, 916, i–viii, 1-149, backcover. [http://doi.org/ISBN 92 4 120916 X ISSN 0512-3054](http://doi.org/ISBN%2092%204%20120916%20X%20ISSN%200512-3054) (NLM classification: QU 145)
- Worrel, L. (1951). Flavors, spices, condiments. In M. B. Jacobs (Ed.), *The chemistry and technology of foods and food products* (2nd ed.). New York: Interscience Publ.
- Yang, J., Meyers, K. J., Van der Heide, J., & Liu, R. H. (2004). Varietal differences in phenolic content and antioxidant and anti proliferative activities of onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(22), 6787–6793. <http://doi.org/10.1021/jf0307144>
- Zhou, K., Wang, H., Mei, W., Li, X., Luo, Y., & Dai, H. (2011). Antioxidant Activity of Papaya Seed Extracts. *Molecules*, 16(12), 6179–6192. <http://doi.org/10.3390/molecules16086179>
- Zupkó, István., Hohmann, Judit., Rédei , Dóra., Falkay, György., Janicsák, Gábor, Máthé, I. (2001). *Planta Med* 67 (2001), 67, 366–368.