

Caracterización fisicoquímica de materiales vegetales

Physicochemical characterization of vegetable materials

Proyecto: Evaluación de alternativas para el aprovechamiento de biomoléculas y materiales de interés a partir de subproductos de la industria alimentaria

Juliana Galliano^{1,2,3}, María Laura Cardozo¹, Lucía Rodriguez Livov¹, María Gianina Bottero¹, Sofía Baldor¹, Daniela del Rosario Venica¹, Aldana Giudici¹, Valeriana Diani¹, Brenda Paruzzo¹, Wendell Medeiros de Azevedo³, Waleska Rayane Dantas Medeiros de Bezerra³, Francisco Caninde de Sousa Junior³, Delfina Nuara¹, Flavia Marangon¹, Lucas Vitantonio¹, Nicole Nahir Moreno¹, Cristian Imanol Leiva¹, Débora Natalia López^{1,2,4}, Micaela Galante^{1,2}, Pamela Soledad Forastieri^{1,2,4}, Darío Spelzini^{1,2,4}, Enrique David V. Giordano^{1,2,4,5}, María Laura Pedrido¹, Valeria Boeris^{1,2,4}

¹ Universidad Católica Argentina (UCA). Facultad de Química e Ingeniería del Rosario.

² Universidad Nacional de Rosario (UNR). Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Área Fisicoquímica.

³ Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Departamento de Engenharia Química.

⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

⁵ Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos (IPROBYQ).

Resumen

El cajá es el fruto del árbol *Spondias mombin* L. cuya cáscara y pulpa se consumen frescas o se procesan generando, como subproducto, grandes cantidades de semilla. El primer objetivo de este trabajo fue obtener y caracterizar fisicoquímicamente a una harina de las semillas de cajá de manera de, posteriormente, agregarle valor al subproducto de la industria del jugo de cajá y así contribuir a la reducción de residuos. Se obtuvo un producto rico en fibra, con bajo contenido tanto lipídico como proteico. Se extrajeron los compuestos fenólicos y se determinó su actividad antioxidante, la que resultó muy elevada, comparable a la del maracujá. El segundo objetivo del trabajo fue analizar distintas muestras de yerba mate de manera de evaluar qué parámetros fisicoquímicos son útiles para su clasificación y cuáles se correlacionan entre sí y/o con los atributos sensoriales del mate cocido o del mate de bombilla. Se evaluaron 3 muestras de cada una de seis marcas comerciales, encontrándose correlación entre la granulometría del material, la cinética de lixiviado, la humedad, la capacidad de retención de agua, la densidad aparente y el pH. Por último, se propone para los próximos períodos, la evaluación de la incorporación de bagazo a alimentos cárnicos o alimentos húmedos semisólidos así como el estudio de su estabilidad durante su almacenamiento.

Abstract

Caja is the fruit of the *Spondias mombin* L. which peel and pulp are consumed fresh or processed, generating, as a byproduct, large quantities of seed. The first objective of this work was to obtain and physicochemically characterize a flour from caja seeds in order to subsequently add value to the by-product of the caja juice industry and thus contribute to the reduction of waste. A fiber-rich product was obtained containing low lipid and protein amounts. The phenolic compounds were extracted and their antioxidant activity was determined, which was very high, comparable to that of passion fruit. The second objective of the work was to analyze different samples of yerba mate in order to evaluate which physicochemical parameters are useful for classification and which correlate with each other and / or with the sensory attributes of "mate cocido" or "mate de bombilla". Three samples of each of six trademarks were evaluated, finding a correlation between the granulometry of the material, the leaching kinetics, the humidity, the water retention capacity, the apparent density and the pH. Finally, it is proposed for the next periods, the evaluation of the incorporation of bagasse into meat foods or semi-solid moist foods as well as the study of its stability during storage.

Parte 1: Semillas de frutas

Introducción

Spondias mombin L. es un árbol fructífero que pertenece a la familia Anacardiaceae, es nativo del bosque húmedo de tierras bajas del Amazonas y se encuentra en las zonas tropicales de América, Asia y África. Se lo nombra de diversas maneras: bala, jobito, jobo blanco, jobo corronchoso, hoeboe, acaiba, cajá, pau da tapera, ubo, hobo, ciruela amarilla, red mombin, yellow mombin y hog plum. Es un árbol de hasta 20 m de altura con una copa moderada y dispersa, el fruto es redondo u ovoide de 4 a 43 g de masa y de 20 a 50 mm de largo, la piel se vuelve amarilla a naranja una vez madura y posee un agradable sabor y aroma ácido ^[1]. La cosecha de la fruta fresca se realiza a mano y se consume la pulpa y la cáscara fresca o se procesa para la obtención de jugos, helados y postres ^[2].

Si bien existe información sobre la pulpa, la cáscara y la utilidad de las diferentes partes de la planta, hay pocos datos sobre las semillas del fruto, por lo que se terminan desechando. Si se profundiza el conocimiento sobre este subproducto se podrá evaluar sus potenciales aplicaciones, particularmente como aditivo alimentario ^[3].

El objetivo de este trabajo fue obtener una harina a partir de la semilla de cajá y realizar una primera caracterización fisicoquímica a través de la determinación de la composición química, color, la cuantificación e identificación de los compuestos fenólicos, la determinación de la actividad antioxidante y su comportamiento ácido-base.

Experimental

Se trabajó con semillas de cajá donadas por Sterbom Industria e Comercio Ltda, un procesador de frutas, ubicado en el estado de Parnamirim, RN, Brasil. Las semillas se secaron a 60 °C durante 5 días en un invernadero de circulación y renovación de aire, se trituraron en un molino y se tamizaron en un tamiz con apertura de malla n° 20 para obtener la harina (Figura 1).



Figura 1: Fotografía de la harina de semilla de cajá

El color de la harina fue determinado por el método de análisis de imágenes digital. Para ello, la muestra fue fotografiada en condiciones controladas, sobre fondo color blanco mate e iluminación led uniforme. La harina presentó una coloración marrón, caracterizada por los siguientes valores: $L^*=47\pm 5$ $a^*= 8\pm 1$ y $b^*= 33\pm 1$. La luminosidad (L^*) resultó similar a la de otras harinas de semillas como la chía ^[4] y la malanga ^[5]. Los componentes cromáticos a^* (verde-rojo) y b^* (azul-amarillo) resultaron positivos, indicando que el color de la harina se ubica en el cuadrante rojo-amarillo, con mayor preponderancia de éste último.

La determinación de la composición de la harina de semillas de *Spondias mombin* L. (Figura 2) se realizó utilizando los métodos estándar de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales ^[6].

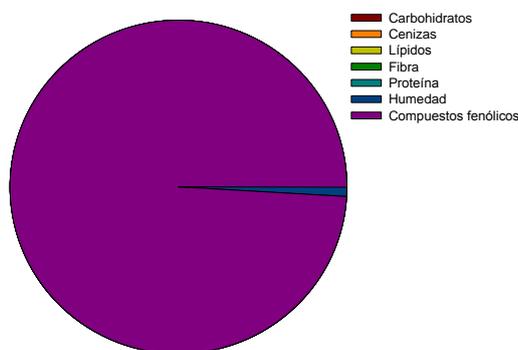


Figura 2: Composición centesimal de la harina de semilla de cajá

Los valores obtenidos en este trabajo se asemejan, pero no coinciden, con lo informado por otros autores ^[7], cuyo material resultó más húmedo (9,7 %) y con menor contenido de ceniza (1,96 %). Las diferencias encontradas pueden atribuirse a las condiciones de cultivo de la planta así como al proceso de secado de las semillas. Por otra parte, se destaca el elevado contenido de fibra y carbohidratos en la harina, de acuerdo con lo reportado por Kamel & Kakuda ^[8] para el carozo de ciruela (*P. domestica* L.) y de durazno (*P. pérsica* L.).

Debido a que las semillas de las frutas pueden contener compuestos fenólicos con actividad antioxidante, se realizaron extractos de la harina utilizando solventes de distinta polaridad en una relación solvente/muestra de 100. Se evaluó la extracción utilizando mezclas de agua-etanol y agua-acetona en dos proporciones (50:50 y 70:30) para extraer, cuantificar e identificar los polifenoles. Debido a que la capacidad de extracción se incrementó a medida que disminuyó la constante dieléctrica de las mezclas, las mezclas de agua-acetona en una relación 50:50 proporcionaron la mayor extracción.

La concentración de fenólicos totales se determinó mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu calibrando con ácido gálico, lo que permitió cuantificar a los polifenoles extraídos, que equivalen a $1,2 \pm 0,3$ g de ácido gálico/100 g de harina. Se infiere que los polifenoles se encuentran en mayor proporción en la semilla cuando se compara con datos disponibles de la pulpa o la cáscara de la fruta, reportados en artículos previos. Se informó que el contenido de flavonoides totales en dichas matrices fue de hasta 0,9 g de ácido gálico por cada 100 g de muestra seca ^[9].

Para identificar los polifenoles se realizó una cromatografía líquida de alta eficiencia isocrática usando una columna C18 de 25 cm y ácido acético 1% - acetonitrilo como fase móvil, usando ácido gálico, catequina, ácido vanílico, ácido siríngico, vanilina, quercetina y eugenol como patrones. Fue posible identificar, de acuerdo a los tiempos de retención (t_R) de compuestos patrón, la presencia de catequina ($t_R = 11,150$) y de ácido vanílico o de ácido siríngico ($t_R = 11,683$). Por otra parte, no se detectó la presencia de los siguientes compuestos: ácido gálico, furfural, vainillina, quercetina ni eugenol.

Se determinó la capacidad antioxidante de estos extractos mediante el método de captura del radical difenilpicrilhidrazilo (DPPH) usando ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) como estándar ^[10]. En las condiciones ensayadas, la muestra produjo en promedio una reducción del 34 % de la absorbancia del radical lo que resultó equivalente a una concentración de Trolox (mM) de $1,0 \pm 0,1$. De acuerdo a las concentraciones utilizadas para la determinación, se calculó que 100 g de harina contiene una actividad antioxidante equivalente a 10 mmol de Trolox. Estos valores resultan un orden de magnitud superiores a los reportados para la mayoría de las frutas tropicales siendo únicamente comparables a los obtenidos para el maracujá ^[11].

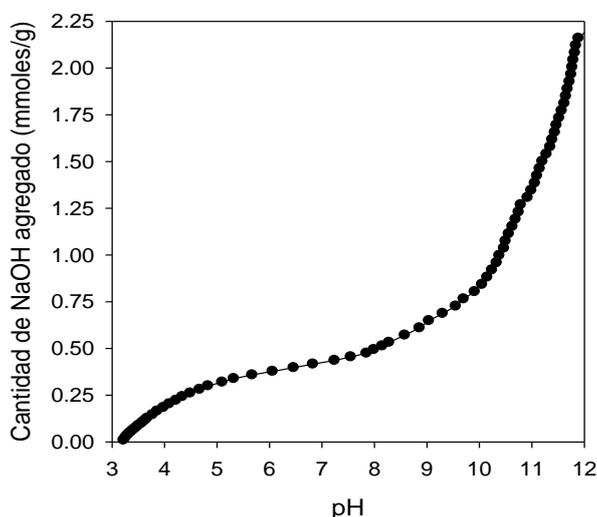


Figura 3: Titulación potenciométrica de una dispersión acuosa de harina de cajá al 3 %

Finalmente, se estudió el comportamiento ácido-base de la harina mediante titulación potenciométrica con NaOH valorado (Figura 3). Se encontró que los grupos ionizables poseen valores de pKa por encima de 7 o por debajo de 3 y que en el rango de pH entre 3 y 7 no habría grupos que liberen protones ya que se observa un marcado incremento del pH cuando se adicionan pequeñas cantidades de álcali. Esta información podría resultar de utilidad en la regulación de la acidez en el caso de que se desarrolle una formulación incorporando la harina de semilla de cajá como ingrediente.

Se concluye que la harina de semillas de cajá podría incorporarse en alimentos principalmente como fuente de fibra, aportando también polifenoles con capacidad antioxidante y pequeñas cantidades de proteína.

Parte 2: Yerba mate

Introducción

El mate es una de las bebidas más populares de nuestro país y se elabora como una infusión a partir de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*)^[12]. Esta infusión se consume en taza (mate cocido) o en un recipiente denominado mate y con la ayuda de una bombilla (mate de bombilla). Existen diversas empresas que comercializan distintos tipos y marcas de yerba mate que se diferencian en sus atributos sensoriales y propiedades fisicoquímicas. Santa Cruz y col.^[13] han reportado descriptores y referencias apropiados para la evaluación sensorial de la apariencia de la yerba así como de la apariencia, sabor y olor del mate cocido, sin embargo aún no se han definido los descriptores para el mate de bombilla. Es por esto que resulta de interés establecer una correlación de los atributos sensoriales con datos fisicoquímicos fácilmente determinables. El objetivo del trabajo fue determinar parámetros fisicoquímicos de muestras de yerba mate de distintas marcas comerciales que resulten de utilidad para su correlación con atributos sensoriales.

Experimental

Se trabajó con tres paquetes de 500 g de yerba de cada una de 6 marcas comerciales, cada marca se denominó con una letra, de la A a la F (Figura 4).



Figura 4: Imágenes de cada uno de los tipos de yerba mate analizados

Los parámetros determinados para las muestras de yerba mate sólida (MS) fueron: humedad, color (L^* , a^* y b^*), densidad aparente y capacidad de retención de agua (CRA). Además, se fraccionó cada muestra mediante tamizado en tres fracciones: gruesa, media y fina.

La densidad aparente, determinada como la masa de MS que ocupa un determinado volumen de yerba (Figura 5) varió entre 0,25 y 0,35 g/mL con escasa variabilidad entre distintas muestras de la misma marca. La CRA de las MS se determinó por incubación de 10 g de yerba con 100 mL de agua a 80°C durante 45 min, filtración y determinación de la masa de la yerba húmeda. Los valores de CRA variaron entre 2,3 y 4,0 g de agua/g yerba. Se encontró una correlación positiva entre la densidad aparente y la humedad de las yerbas y una correlación negativa de estos parámetros con la CRA de las yerbas (Figura 6).



Figura 5: Imagen de la metodología empleada para la determinación de la densidad aparente

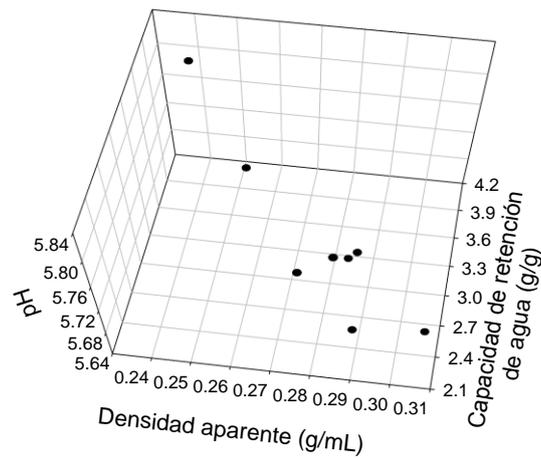


Figura 6: Evaluación de la correlación entre propiedades fisicoquímicas de las muestras. Los parámetros de color de cada muestra (Tabla 1) se determinaron por análisis digital de imágenes.

Tabla 1: Parámetros de color de las muestras de yerba mate

Muestra	L*	a*	b*
A	97,9 ± 0,2	0,65 ± 0,01	1,63 ± 0,02
B	98,10 ± 0,04	0,62 ± 0,02	1,50 ± 0,07
C	98,32 ± 0,01	0,63 ± 0,01	1,36 ± 0,07
D	98,0 ± 0,5	0,616 ± 0,007	1,45 ± 0,01
E	97,64 ± 0,08	0,59 ± 0,03	1,39 ± 0,06
F	97,54 ± 0,06	0,62 ± 0,02	1,4 ± 0,1

Además, se prepararon extractos acuosos (EA), similares al mate cocido, de la yerba mate al 3 % por incubación a 80 °C durante 15 min y posterior filtración en caliente. Se midió el pH de cada extracto y se obtuvo el espectro en el rango visible. El pH de los EA varió entre 5,68 y 5,81, de acuerdo a la característica levemente ácida del mate.

Los espectros de absorbancia en el rango visible (Figura 7) presentaron un perfil que puede explicarse considerando la contribución de la turbidez del sistema (entre 400 y 500 nm) así como la de los compuestos coloreados (entre 500 y 700 nm). La mayor diferencia entre los espectros de los EA provenientes de las distintas marcas se observó entre 660 y 680 nm.

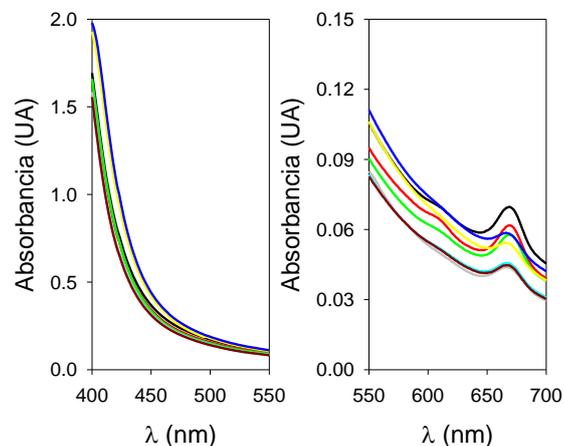


Figura 7: Espectros de absorbancia en el rango visible de los extractos acuosos de yerba mate al 3 %.

El mate de bombilla se prepara colocando una cantidad de yerba mate en un recipiente denominado mate y se consume luego de adicionar una pequeña cantidad de agua caliente a la yerba aspirando con la boca a través de la bombilla. Estos últimos pasos se repiten hasta que el mate pierde gran parte de su sabor o “se lava”. Se realizaron ensayos de lixiviación de la siguiente manera (Figura 8): en un equipo para filtrar al vacío se colocaron 30 g de yerba, se adicionaron 40 mL de agua a 80 °C, se incubó durante 1 minutos y se filtró. Se repitió la operación 15 veces, para simular el proceso de cebado. Se recuperó el líquido y se realizaron espectros en el rango visible (Figura 9).



Figura 8: Imagen de la metodología empleada para el estudio de la lixiviación

Se encontró un decaimiento exponencial de las señales obtenidas en función del volumen de agua utilizado y se determinaron las constantes de decaimiento. En todos los casos se observó que luego de 10 “cebadas”, el rendimiento del proceso lixiviado se había reducido significativamente ya que la cantidad de compuestos que se extraían era menor al 10 % de los que se extraían en la primera cebada. Sin embargo, se encontraron diferencias entre las distintas marcas de las yerbas ensayadas. Las muestras de yerba con mayor contenido de polvo o fracción fina (alrededor del 8%) fueron aquellas que presentaron un mayor rendimiento en la lixiviación inicial. Por el contrario, las muestras de yerba conteniendo mayor proporción de fracción media fueron aquellas que “se lavaron” antes (alrededor de la sexta adición de agua). Las muestras a partir de las cuales el rendimiento de la lixiviación resultó menor fueron aquellas que cuya fracción media era superior. Esto se explicó debido a que esta fracción correspondía principalmente al palo triturado y no a las hojas, dato que se obtuvo mediante el análisis digital del color.

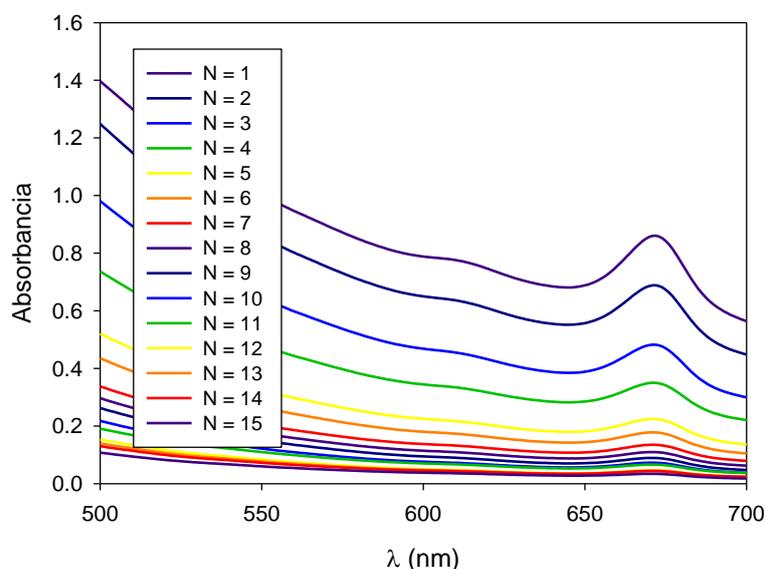


Figura 9: Espectros en el rango visible de los extractos obtenidos durante el proceso de lixiviación de una muestra de yerba (E2).

Se concluye que los parámetros fisicoquímicos determinados mediante técnicas muy sencillas podrían permitir, por un lado, clasificar distintas muestras de yerba mate y, por otro lado, correlacionarse con atributos sensoriales.

Parte 3: Bagazo cervecero

El proceso de elaboración de cerveza genera mayoritariamente dos subproductos: el bagazo y la levadura. Si bien la composición del bagazo cervecero es variable dependiendo tanto de la materia prima como del proceso, se destaca en su composición un elevado contenido de humedad, fibra y proteína^[14]. Es por esto que se ha ensayado en diversas formulaciones para la elaboración de alimento para animales^[15]. En cuanto a su incorporación como ingrediente en productos destinados a alimentación humana se ha adicionado sobre todo en productos panificados. Se encontró que incrementa satisfactoriamente el contenido de fibra y proteína de los mismos pero que afecta negativamente la calidad panadera, reduciendo el volumen y la elasticidad e incrementando la dureza^[16]. Se realizaron algunos ensayos de incorporación de bagazo tratado enzimáticamente y se encontró que dicho tratamiento compensa parcialmente el efecto negativo de la adición de bagazo a los productos^[17]. Por otro lado, se ha utilizado como sustrato para el cultivo de microorganismos, combinado o no con otros sustratos^[18]. Sin embargo, aún no se ha ensayado la incorporación de bagazo a otro tipo de productos (cárnicos o alimentos húmedos semisólidos, por ejemplo) ni se ha ensayado un proceso de fermentación del bagazo previo a su incorporación en alimentos. Adicionalmente, no se ha encontrado un estudio comparativo de las condiciones de almacenamiento y estabilidad del bagazo cervecero por lo que es aún un campo por explorar.

Conclusiones y perspectivas

De acuerdo con el objetivo del proyecto, se inició el estudio de dos materiales vegetales. En el caso de las semillas de cajá se realizó una caracterización inicial que permitirá, junto con la información funcional que se obtenga posteriormente, evaluar la factibilidad de su incorporación en formulaciones alimenticias.

Por otro lado, se estudiaron distintos parámetros de la yerba mate, así como de sus infusiones. La continuación de este trabajo permitirá, mediante análisis estadístico, la correlación de los parámetros determinados con los datos de la evaluación sensorial de cada una de las muestras.

Por último, se propone evaluar alternativas para el aprovechamiento del bagazo cervecero, particularmente formando parte de formulaciones alimentarias.

Bibliografía

1. Esua, O., et al., *Antioxidant potential, phytochemical and nutrient compositions of Nigerian hog plum (Spondias mombin) seed kernel as a new food source*. International Food Research Journal, 2016. **23**: p. S179.
2. Rocha, J.d.C., *Produção, avaliação da estabilidade e aplicação de enzimas pectinolíticas de Aspergillus niger IOC 4003 utilizando resíduos de frutas tropicais como substrato*. 2018, Brasil.
3. Tiburski, J.H., et al., *Nutritional properties of yellow mombin (Spondias mombin L.) pulp*. Food Research International, 2011. **44**(7): p. 2326-2331.
4. López, D.N., et al., *Effects of extraction pH of chia protein isolates on functional properties*. LWT, 2018. **97**: p. 523-529.
5. Ramírez-Rivera, J., et al., *Caracterización fisicoquímica, funcional y contenido fenólico de harina de malanga (Colocasia esculenta) cultivada en la región de Tuxtepec, Oaxaca, México*. Ciencia y Mar, 2011. **15**(43): p. 37-47.
6. Int, A., *Official methods of analysis*. AOAC International, 2007.
7. Brito, M.J.P., et al., *Activated carbons preparation from yellow mombin fruit stones for lipase immobilization*. Fuel Processing Technology, 2017. **156**: p. 421-428.
8. Kamel, B. and Y. Kakuda, *Characterization of the seed oil and meal from apricot, cherry, nectarine, peach and plum*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1992. **69**(5): p. 492-494.
9. Fadimu, O., O. Idowu, and S. Ipinlaye, *Studies on the dormancy and germination of stony fruits of hog plum (Spondias mombin) in response to different pre-soaking seed treatments*. International Research Journal of Biological Sciences, 2014. **3**(6): p. 57-62.
10. Spagna, G., et al., *Chemical analysis and photoprotective effect of an extract of wine from Jacquez grapes*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002. **82**(15): p. 1867-1874.

11. Contreras-Calderón, J., et al., *Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia*. Food Research International, 2011. **44**(7): p. 2047-2053.
12. Heck, C.I. and E.G. De Mejia, *Yerba Mate Tea (Ilex paraguariensis): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations*. Journal of food science, 2007. **72**(9): p. R138-R151.
13. Santa Cruz, M., L. Garitta, and G. Hough, *Sensory descriptive analysis of yerba mate (Ilex paraguariensis Saint Hilaire), a South American beverage*. Food science and technology international, 2002. **8**(1): p. 25-31.
14. Mussatto, S.I., G. Dragone, and I.C. Roberto, *Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications*. Journal of cereal science, 2006. **43**(1): p. 1-14.
15. Ferro, M.M., et al., *Barley and its by-products in animal nutrition*. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 2017. **18**(12): p. 1-11.
16. Cabrera, P.L.A., et al., *Bagazo de cervecería como ingrediente en el desarrollo de panificados. Impacto del rotulado en la intención de compra y aceptabilidad*. Innotec, 2018(16 jul-dic): p. 40-46.
17. Stojceska, V. and P. Ainsworth, *The effect of different enzymes on the quality of high-fibre enriched brewer's spent grain breads*. Food chemistry, 2008. **110**(4): p. 865-872.
18. de Castro, R.J.S. and H.H. Sato, *Enzyme production by solid state fermentation: general aspects and an analysis of the physicochemical characteristics of substrates for agro-industrial wastes valorization*. Waste and biomass valorization, 2015. **6**(6): p. 1085-1093