

Universidad Tecnológica Nacional- Facultad Regional Buenos Aires

Carrera: Magíster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

**Título: OPTIMIZACIÓN DE LA CALIDAD DE JALEAS Y MERMELADAS DE REDUCIDO TENOR GLUCÍDICO MEDIANTE EL USO DE ADITIVOS NATURALES**

Tesista: María Andrea Montagnani

Directora: Dra. Carmen Campos

Co-Directora: María Fernanda Gliemmo

## **Agradecimientos**

*En primer lugar quiero dedicarle mi más profundo agradecimiento a la Dra. Carmen Campos pues, haberla tenido como Coordinadora de la Maestría en Tecnología de Alimentos y más tarde como Directora de tesis, fue para mí un privilegio.*

*A mi co-directora Dra. María Fernanda Gliemmo que ha puesto todo de sí con sus aportes.*

*A mis compañeras y amigas Mariana Ofman y Laura Vranik que, por su estímulo y colaboración, están también presentes en ésta tesis.*

*Al Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas UBA, a la Dra. Lía Noemí Gerschenson que tuvieron la gentileza de permitirme trabajar en sus instalaciones y al grupo de trabajo del laboratorio por recibirme siempre con tanta calidez logrando hacerme sentir parte del equipo.*

*A todos los pasantes y becarios del Dpto. de Industrias de la FCEyN UBA que participaron de los ensayos sensoriales.*

*Al INTA, institución a la que pertenezco y que, me dio la posibilidad estudiar e investigar.*

*A mi Jefe, Ing. Oscar Garcia que siempre me alentó y me facilitó todos los medios para finalizar mi tesis en buen término.*

*A Gladys Rosendo por su apoyo incondicional.*

*A la empresa Cargill que tan amablemente nos obsequió pectina de bajo metoxilo y goma xántica.*

## Resumen

La necesidad de consumir de alimentos de reducido tenor glucídico se ha incrementado en las últimas décadas con el incremento de los problemas de sobrepeso, obesidad y diabetes. La principal motivación para el consumo de este tipo de alimentos es con el objetivo de mejorar la salud y en general no presentan adecuadas características sensoriales. Este hecho motiva a optimizar las mismas para que estos productos puedan ser más ampliamente consumidos.

En el caso de la elaboración de mermeladas de reducido tenor glucídico se deben realizar diversos cambios en la formulación: se debe agregar un edulcorante intenso para restaurar el dulzor, un agente que provea cuerpo y un antimicrobiano para compensar la menor estabilidad microbiológica del producto debida a su elevada actividad de agua. Todos estos cambios en la formulación llevan a la obtención de productos similares a los regulares pero con una mayor cantidad de aditivos y con una aceptabilidad sensorial menor.

De acuerdo a lo antedicho, resulta de interés la optimización de la calidad de jaleas y mermeladas de reducido tenor glucídico. Los factores que resultan claves en la formulación son la correcta elección del tipo y concentración de los edulcorantes, antimicrobianos y espesantes a usar.

Como conclusión global se pudo elaborar, una mermelada de tomate de reducido tenor glucídico empleando aditivos naturales y con una adecuada aceptabilidad sensorial. Desde el punto de vista microbiológico, los niveles de preservadores óptimos fueron sensorialmente inaceptables, por lo tanto, en una siguiente etapa, se estudiará la aplicación de barreras de preservación adicionales a fin de asegurar la estabilidad microbiológica de las mermeladas para tiempos de almacenamiento prolongados.

Es de destacar que la mermelada formulada puede aportar beneficios para un segmento de la población que necesita consumir alimentos de reducido tenor glucídico.

Palabras claves: mermeladas, reducido tenor glucídico, aditivos naturales

**Índice general**

Introducción.....	8-36
Objetivos .....	37
Materiales y métodos.....	38-63
Resultados y discusión.....	64-83
Conclusiones .....	84-85
Referencias .....	86-91

## **1. INTRODUCCIÓN**

- 1.1. Necesidad de productos reducidos en su tenor glucídico
- 1.2. Mermeladas de reducido tenor glucídico
  - 1.2.1. Aditivos empleados en la formulación de mermeladas de reducido tenor glucídico
    - 1.2.1.1. Edulcorantes
      - 1.2.1.1.1. Edulcorantes nutritivos naturales
      - 1.2.1.1.2. Edulcorantes de sustitución: polioles
      - 1.2.1.1.3. Edulcorantes no nutritivos
      - 1.2.1.1.4. Edulcorantes naturales no nutritivos
    - 1.2.1.2. Espesantes y gelificantes
    - 1.2.1.3. Agentes antimicrobianos
    - 1.2.1.4. Acidificantes
  - 1.2.2. Elaboración
  - 1.2.3. Desarrollo de mermeladas dietéticas
- 1.3. El tomate
  - 1.3.1. Características, aspecto nutricional y beneficios de su consumo
  - 1.3.2. Efecto del procesamiento sobre los componentes del tomate y sobre su valor nutricional

## **2. OBJETIVOS**

- 2.1. Generales
- 2.2. Específicos

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

- 3.1. Materias primas y reactivos
- 3.2. Criterios empleados en la formulación y procesamiento de las mermeladas
- 3.3. Optimización de la concentración del edulcorante y del espesante
  - 3.3.1. Metodología para la elaboración de mermeladas
  - 3.3.2. Evaluación de parámetros fisicoquímicos
    - 3.3.2.1. Determinación del pH
    - 3.3.2.2. Determinación de los °Brix
    - 3.3.2.3. Determinación de la actividad de agua
    - 3.3.2.4. Determinación del color

- 3.3.3. Evaluación de parámetros microbiológicos
  - 3.3.3.1. Evaluación de la flora nativa presente en las formulaciones ensayadas
- 3.3.4. Evaluación de las propiedades sensoriales
  - 3.3.4.1. Reclutamiento de jueces y acondicionamiento de instalaciones
  - 3.3.4.2. Selección y entrenamiento del panel
    - 3.3.4.2.1. Prueba de agudeza gustativa- JELLINEK
      - 3.3.4.2.1.1. Preparación de las muestras
      - 3.3.4.2.2. Prueba discriminativa de diferenciación de muestras y ordenamiento
      - 3.3.4.2.3. Prueba de evaluación de la intensidad de color rojo
        - 3.3.4.2.3.1. Preparación de la muestra
        - 3.3.4.2.4. Prueba de evaluación de los atributos de textura
          - 3.3.4.2.4.1. Ensayos previos para seleccionar las muestras a utilizar
      - 3.3.4.3. Evaluación sensorial de las distintas formulaciones
        - 3.3.4.3.1. Evaluación de la aceptabilidad global
        - 3.3.4.3.2. Evaluación del dulzor
        - 3.3.4.3.3. Evaluación de la dureza
        - 3.3.4.3.4. Evaluación del color
- 3.4. Optimización de la estabilidad microbiológica de la formulación seleccionada
  - 3.4.1. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales de canela y clavo de olor
    - 3.4.1.1. Evaluación de la capacidad inhibitoria de los antimicrobianos mediante la técnica de difusión en agar
    - 3.4.1.2. Evaluación de la mínima concentración inhibitoria de los antimicrobianos mediante la técnica de difusión dilución en caldo
  - 3.4.2. Optimización de los aceites esenciales de clavo y canela: ensayos de reto microbiano
    - 3.4.2.1. Metodología de trabajo
- 3.5. Optimización sensorial de la formulación seleccionada: ensayos de aceptabilidad
- 3.6. Análisis de datos

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

- 4.1. Ensayos preliminares

- 4.1.1. Evaluación de las características fisico-químicas de mermeladas comerciales
- 4.1.2. Ensayos de elaboración de distintas formulaciones
- 4.2. Optimización de la concentración del edulcorante y del espesante en las formulaciones
  - 4.2.1. Evaluación de parámetros fisico-químicos
  - 4.2.2. Evaluación de la estabilidad microbiológica
  - 4.2.3. Evaluación de las propiedades sensoriales
    - 4.2.3.1. Entrenamiento del panel
      - 4.2.3.1.1. Análisis de los gustos básicos
      - 4.2.3.1.2. Análisis del color
      - 4.2.3.1.3. Análisis de textura
    - 4.2.3.2. Análisis de las formulaciones ensayadas
      - 4.2.3.2.1. Evaluación de la aceptabilidad global
      - 4.2.3.2.2. Evaluación de la dureza
      - 4.2.3.2.3. Evaluación de la untabilidad
      - 4.2.3.2.4. Evaluación del dulzor
      - 4.2.3.2.5. Evaluación del color
- 4.3. Optimización de la estabilidad microbiológica de la formulación seleccionada
  - 4.3.1. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales de canela y clavo de olor
  - 4.3.2. Optimización de los aceites esenciales de clavo y canela: ensayos de reto microbiano
- 4.4. Optimización sensorial de la formulación seleccionada: ensayos de aceptabilidad

## **5. CONCLUSIONES**

## **6. BIBLIOGRAFÍA**

## **1. INTRODUCCION**

### **1.1. Necesidad de productos reducidos en su tenor glucídico**

La creciente epidemia de enfermedades crónicas no transmisibles (obesidad, diabetes, hipertensión, dislipemias, etc.), que representan el 52% de las causas de muerte en el mundo y que afligen tanto a los países desarrollados como en desarrollo, se relaciona con la dieta y el estilo de vida inadecuados.

Las evidencias científicas que asocian una alimentación saludable con la prevención de éstas enfermedades son cada vez mayores y han llevado a organismos como la Organización Mundial de la Salud (WHO/FAO, 2003), a proponer a los países a intervenir en políticas relacionadas con el cuidado de la salud y la promoción de una alimentación y estilos de vida sanos.

Dentro de las enfermedades crónicas no transmisibles y relacionadas con los malos hábitos alimentarios, se encuentra la diabetes tipo 2, no insulino-dependiente. En dicha enfermedad, el cuerpo produce insulina pero no la suficiente o bien produce una respuesta tardía al efecto biológico de la hormona. Como consecuencia, la insulina no puede escoltar a la glucosa al interior de las células para convertirla en energía. La diabetes de tipo 2 es, irreversible y adquirida por malos hábitos alimentarios y sedentarismo. Se trata con un plan de alimentación personalizado, adecuado a dicha patología, ejercicio, medicamentos y en algunos casos con insulina. El sobrepeso y la obesidad son los principales factores de riesgo relacionados con la aparición de esta enfermedad. Generalmente, se manifiesta en adultos mayores de 30 años. Sin embargo, la prevalencia de obesidad infantil que revelan las encuestas del 2007 realizadas por el Ministerio de Salud Pública, a nivel provincial en niños entre 6 meses a 5 años es de 6,6%. Esta tendencia indica que en pocos años aumentaría la prevalencia de casos de diabetes en los más jóvenes.

A nivel mundial, la incidencia de diabetes está en aumento, debido a factores como el sobrepeso, la obesidad, la inactividad física y una alimentación inadecuada. Se estima que para el año 2025 el aumento sea del 35%.

La Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, 2003) sugiere ciertas recomendaciones para revertir los problemas antes citados, entre ellas, la reducción de los alimentos muy energéticos ricos en grasas saturadas y azúcar. Por otra parte, se expresa la necesidad de intervención de diversos sectores, públicos y privados, entre las cuales se menciona a la industria alimentaria por su rol central en la producción y distribución de productos que contribuyan a una alimentación sana y más equilibrada, dando origen así, a oportunidades de innovación en ésta área.

Como respuesta del impacto de políticas implementadas por algunos países o sectores de la sociedad, ha surgido, a nivel individual, un cambio de actitud o un aumento de interés por la elección de alimentos saludables.

La industria alimentaria fue paulatinamente mejorando la calidad nutricional de los alimentos. Actualmente se pueden encontrar en el mercado alimentos fortificados y reducidos en su tenor glucídico y/o lipídico o con sus ingredientes “menos saludables” reemplazados por otros inocuos en base al concepto de alimentación saludable.

## **1.2. Mermeladas de reducido tenor glucídico**

La iniciativa de la formulación de una mermelada de bajo valor glucídico con aditivos naturales, que en este trabajo de investigación se presenta, puede formar parte de las recomendaciones alimentarias y estrategias recientemente propuestas por los organismos mundiales para la promoción de una alimentación saludable. Las mismas, proponen la reformulación de la composición de alimentos elaborados para reducir al mínimo posible aquellos ingredientes “menos saludables” y reemplazarlos por otros inocuos, que en este caso sería el reemplazo de azúcar por endulzantes, espesantes y conservantes naturales para lograr una mermelada de bajo valor glucídico sin aditivos de origen químico, reduciendo al mínimo posible aquellos ingredientes considerados por el propio consumidor como “poco saludables” o de origen químico; contribuyendo a moderar el consumo de azúcar en una población individuos sanos, en calidad de prevención o, como complemento en la dieta de individuos en riesgo de salud.

En el caso de los alimentos de bajo tenor glucídico, tales como jaleas y mermeladas, existen problemas tecnológicos aún no resueltos, puesto que la remoción de la sacarosa implica no sólo la disminución del dulzor sino que afecta la textura y la estabilidad microbiológica. Para resolver ésta problemática es necesario el agregado de diferentes aditivos, entre ellos edulcorantes, espesantes y preservadores.

La tendencia dominante en la industria alimenticia es combinar dos o más aditivos para producir una sinergia, pues la combinación de varios puede resultar más efectiva que los componentes individuales, apuntando a reducir la cantidad necesaria de los aditivos, y asimismo mejorar el sabor dulce, en el caso de los edulcorantes (Gliemmo y col., 2008), la textura, mezclando espesantes y el poder antimicrobiano de los conservantes.

### **1.2.1. Aditivos empleados en la formulación de mermeladas de reducido tenor glucídico**

Según el Código Alimentario Argentino (CAA, 2007), se define como Aditivo Alimentario:

*Cualquier substancia o mezcla de substancias que directa o indirectamente modifiquen las características físicas, químicas o biológicas de un alimento, a los efectos de su mejoramiento, preservación, o estabilización, siempre que:*

*a) Sean inocuos por sí mismos o a través de su acción como aditivos en las condiciones de uso.*

*b) Su empleo se justifique por razones tecnológicas, sanitarias, nutricionales o psico-sensoriales necesarias.*

*c) Respondan a las exigencias de designación y de pureza que establezca este Código.*

En la formulación de mermeladas de reducido tenor glucídico se incorporan edulcorantes, espesantes, gelificantes y antimicrobianos. A continuación se describirán los aditivos más frecuentemente empleados.

#### **1.2.1.1. Edulcorantes**

La palabra edulcorante viene de la palabra latina “dulcor”, que significa dulzor. Los edulcorantes son sustancias capaces de endulzar un alimento, una

bebida o un medicamento. El sabor dulce, si bien es un atributo más dentro de un complejo total que incluye textura, color, etc., puede influir notablemente en la selección de un alimento ya que, la preferencia por lo dulce no es un sabor adquirido sino innato de la naturaleza humana (Sancho y col., 1999). Los edulcorantes pueden ser calóricos y no calóricos, sintéticos o naturales (Lindsay, 1999).

Un edulcorante "ideal", tomado como punto de referencia a la sacarosa, deberá tener un sabor dulce semejante, con ausencia de sabores residuales y de contenido calórico bajo por tener un alto poder edulcorante o por no ser metabolizado por el organismo. En lo que se refiere a las propiedades físicas, deberá presentar resistencia a las temperaturas elevadas y a los valores de pH habituales de los alimentos, ser soluble en agua, poseer similares características de textura y viscosidad que la sacarosa en iguales condiciones. En la práctica, no existe ninguna sustancia que satisfaga todas estas condiciones, lo que obliga a recurrir a mezclas de edulcorantes y al uso de otros aditivos.

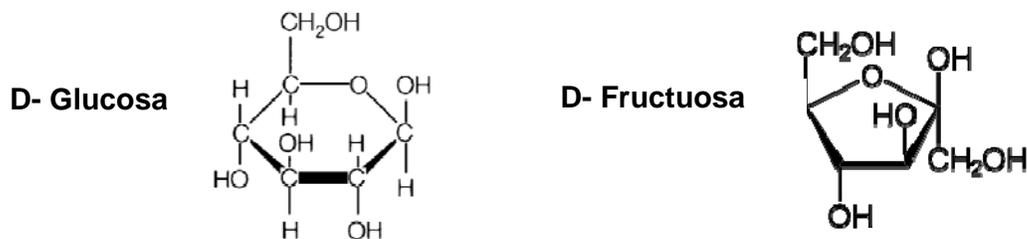
#### **1.2.1.1.1. Clasificación de los edulcorantes**

##### **1.2.1.1.1.1. Edulcorantes Nutritivos Naturales**

Son los que provienen del azúcar que se encuentra en los alimentos. Se agrupan según su estructura química en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Pertenecen a este grupo, entre otros, la glucosa, la fructosa, la galactosa, la sacarosa, la lactosa, la maltosa y la miel. Todos ellos proveen al consumidor similar cantidad de energía, se caracterizan por tener sabor dulce pero difieren en su poder edulcorante (Tabla 1.1). Para aquellas personas que padecen anomalías genéticas del metabolismo de los carbohidratos como intolerancia (adquirida o hereditaria) a la glucosa, intolerancia hereditaria a la fructosa o galactosemia, su uso está limitado o restringido (Astiasarán y Martínez, 2000).

La glucosa se encuentra presente de forma natural pero limitada, en las frutas. Para su uso en la industria alimentaria, se obtiene a partir de la hidrólisis enzimática del almidón, obtenido a su vez del maíz, papa o trigo. Se comercializa generalmente disuelta en forma de jarabe o cristalizada como el

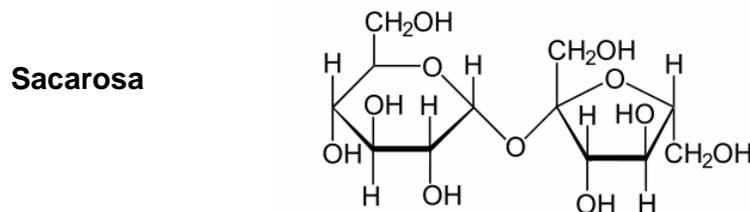
monohidrato. La sacarificación se realiza enzimáticamente por  $\alpha$  amilasas y amiloglucosidasas obtenidas a partir del *Aspergillus niger*, luego el hidrolizado se purifica, se concentra y se cristaliza. Desde el punto de vista fisiológico, la glucosa es transportada activamente e ingresa directamente al metabolismo energético dependiente de la insulina para ser utilizada por los tejidos; todos los demás monosacáridos lo hacen por difusión y se metabolizan en el hígado. Su administración por vía oral produce un rápido aumento de la glucemia y de la secreción de insulina. El agregado de un cierto porcentaje de este azúcar reductor en mermeladas, a través del incremento de la concentración de solutos, cumple la función de agente depresor de la actividad de agua ( $a_w$ ), contribuye a que la formulación adquiera una adecuada apariencia cristalina y brillante (Belitz y Grosch, 1992).



La fructuosa o levulosa, se encuentra en forma natural en las frutas y en la miel y es algo más dulce que la sacarosa. Usada por su bajo índice glucémico y por metabolizarse sin necesidad de insulina, interviene en la vía de los polioles; el cerebro no la utiliza como combustible, no frena la sobreproducción de glucosa a nivel hepático, se convierte en ácido láctico y eleva la trigliceridemia y las lipoproteínas de muy baja densidad, es por ello que no se aconseja en dislipemias ni en diabetes acompañada de obesidad (Longo y Navarro, 1998).

El edulcorante natural por excelencia es el azúcar común (sacarosa). Se emplea en la industria alimentaria no solo para endulzar. En el caso específico de las mermeladas, la sacarosa tiene un efecto preservante al disminuir la  $a_w$  en el producto, además tiene la propiedad de facilitar la formación de geles cuando se combina con la pectina de la fruta y una adecuada acidez. Si bien la sacarosa produce un incremento de la glucemia postprandial similar a la de la

ingesta de pan, patata o arroz, su consumo es poco relevante a los efectos del control de la glucemia y de los lípidos, siempre que se contemple la distribución y el total de los hidratos de carbono del plan de alimentación (Gabaldón y Montesinos, 2006), tanto para los diabéticos insulino dependientes como aquellos tratados con hipoglucemiantes orales o los que su diabetes se controla solo a través de la alimentación pues, un exceso de consumo de carbohidratos totales y una distribución despareja a lo largo del día, tienen como resultado un desequilibrio metabólico que promueve la síntesis de grasas por un aumento de Acetil CoA y su conversión a ácidos grasos (Mahan y Escott-Stump, 1998). Es por ello que la Asociación Americana de Diabetes recomienda como indispensable, que el aporte de hidratos de carbono en la dieta del diabético sea a través del incremento de polisacáridos, a expensas de la disminución de mono y disacárido, a fin de lograr una absorción lenta de los mismos, evitando menores oscilaciones glucémicas postprandiales (Torresani y Somoza, 2000).

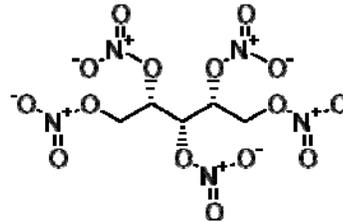


#### 1.2.1.1.1.2. Edulcorantes de sustitución: Polioles

Ellos son derivados de las hexosas por reducción. Aunque existen numerosos polioles, solo unos pocos son importantes en los alimentos, entre ellos se destacan: sorbitol, manitol, xilitol, maltitol y lactitol. Los polioles, desde el punto de vista tecnológico, tienden a ser más higroscópicos y más difíciles de cristalizar que los azúcares que les dieron origen. Además de los edulcorantes intensos, el empleo de polioles constituye una alternativa interesante ya que, a pesar de aportar valor calórico, el mismo es menor que el de la sacarosa. El sorbitol, manitol y xilitol producen un efecto edulcorante similar a glucosa pero menos dulce que la sacarosa y son metabolizados como la fructuosa (OPS, 1998). En cuanto al aspecto nutricional, estos monosacáridos hidrogenados son absorbidos en cantidades reducidas a nivel

de intestino delgado, llegando al colon en solución isotónica; es por ello la ingestión de grandes cantidades pueden provocar diarreas osmóticas (Longo y Navarro, 1998). Adicionalmente, ejercen otras funciones como agentes depresores de la  $a_w$ , humectantes (Lindsay, 1999).

xilitol



En particular, el empleo de xilitol presenta algunas ventajas adicionales, tales como la de no ser cariogénico, a diferencia de la sacarosa, pues las bacterias presentes en la boca no lo fermentan a ácido, además de ejercer un cierto efecto de inhibición del crecimiento de *Z. bailii*, levadura de reconocido poder deteriorativo en alimentos ácidos (Gliemmo y col., 2006). El xilitol es un penta alcohol ( $C_5H_{12}O_5$ ) cuyo peso molecular es de 152,1 y se encuentra naturalmente en pequeñas cantidades en algunas frutas y verduras. Se obtiene comercialmente por la hidrólisis ácida de la D-xilosa a partir de la hemicelulosa de los árboles de abedul, los tejidos estructurales de plantas como el maíz, los tallos, las de trigo cáscaras de semilla de algodón, y cáscaras de coco (Hyvönen y col., 1982; Belitz y Grosch, 1992). Este método es muy costoso y además produce impurezas que dificultan su posterior purificación y cristalización, es por ello que se están estudiando otras alternativas más económicas y de mayor rendimiento para su obtención como los métodos biotecnológicos basados en la fermentación con levaduras (Venegas-Córdoba y col., 2004; Ooi y col., 2002). Por sus múltiples ventajas, se usa en la industria alimentaria, farmacéutica y en la elaboración de productos de higiene oral. El xilitol tiene una ligera sensación refrescante que se produce a nivel del trigémino y se cree que es debido a su bajo calor de disolución de -153 KJ/Kg.; además, posee la capacidad de enmascarar el sabor de otros ingredientes (BeMiller y Whistler, 1996). Es similar a la sacarosa en textura y dulzor y su solubilidad es la misma (68g/100gr de solución a 30 °C), pero su viscosidad es significativamente menor (Hyvönen y col., 1982). Es estable en la fabricación de alimentos, no fermenta ni produce pardeamiento vía reacción de Maillard

(Gliemmo y col., 2008; Ooi y col., 2002). Se absorbe por difusión simple en el intestino en un 25% y es metabolizado en un 100%; la mayor parte en el hígado mientras que una pequeña fracción se metaboliza en el riñón y otros tejidos. El resto de xilitol no absorbido fermenta completamente en el colon. Su aporte energético es de 2,4 kcal/g que, al utilizarlo en reemplazarlo del azúcar en relación 1:1, representa un 40 % menos de calorías respecto al azúcar (CRFSFS, 2006). Debido a que no se requiere de insulina para su metabolismo y por producir una respuesta baja a la glucemia, está indicado para los pacientes diabéticos y en aquellos con deficiencia en glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa aunque en altas dosis puede causar diarrea (OPS, 1998). Fue aprobado por la Food and Drug Administration de EE.UU (FDA) en 1963 (Astiasarán y Martínez, 2000).

Todos los azúcares naturales así como los polioles derivados de ellos, poseen la característica de tener sabor dulce pero su poder edulcorante difiere en cada caso (Tabla 1.1). El poder edulcorante se determina en relación a la sacarosa que, elegida como referencia, posee un poder edulcorante igual a 1, en solución de 30 g/L y a 20° C, condiciones de referencia (Astiasarán y Martínez, 2000).

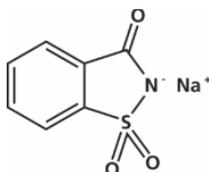
**Tabla 1.1. Poder edulcorante de los monosacáridos, disacáridos y polioles.**

	<b>PODER EDULCORANTE</b>
Glucosa	0.7
Fructuosa	1.1 - 1.3
Galactosa	0.3
Sacarosa	1*
Lactosa	0.25
Maltosa	0.6
Sorbitol	0.5 -0.6
Manitol	0.5 -0.6
Xilitol	1

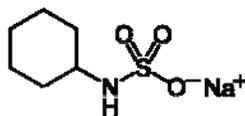
Fuente: Astiasarán y Martínez (2000)

### 1.2.1.1.1.3. Edulcorantes no nutritivos

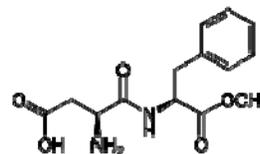
Los edulcorantes más empleados por la industria son: ciclamatos, sacarina, aspartamo y acetasulfame K (Sandrou y Arvanitoyannis, 2000). Todos ellos de origen sintético. Los tres primeros en su momento fueron muy cuestionados; la sacarina y los ciclamatos (ciclohexilsulfamato) como presuntos factores cancerígenos en ratas en estudios experimentales; el tercero, porque la mezcla aspartato-fenilalanina que lo forman sería precursora de mayor cantidad de serotonina, hecho que podría ser riesgoso a nivel de los transmisores nerviosos. Ambas hipótesis no se han comprobado en seres humanos, por lo que el uso de sacarina continúa en EE.UU aunque cabe advertir que, dado que la sacarina atraviesa la placenta, es conveniente evitar su consumo durante el embarazo (Torresani y Somoza, 2000). El valor edulcorante de la sacarina es de 300 a 400 veces superior al del azúcar, el ciclamato sólo 30-60 veces; se acostumbra asociarlos en proporción 10:1 (ciclamato-sacarina). Respecto a los ciclamatos, fueron descubiertos en 1937, aprobados en como aditivo alimentario en EE UU en 1949 y prohibido a finales de 1969. Sin embargo, varias organizaciones, tales como la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) avalan su uso sin aparentes daños a la salud. Su empleo está aprobado por más de cincuenta países del mundo, tales como la Unión Europea, Canadá, Australia, China y, prácticamente, toda Latinoamérica. Sin embargo, en los Estados Unidos su uso se prohibió en 1970 y se permitió desde 1985 ya que los estudios toxicológicos permitieron establecer una ingesta diaria admisible (IDA) del edulcorante de 11 mg/kg de peso/día (Tabla 1.2; <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/en/index.html>).



Sacarina



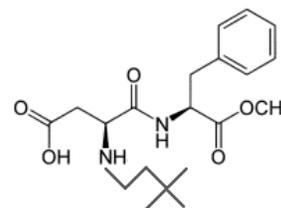
Ciclamato



Aspartamo

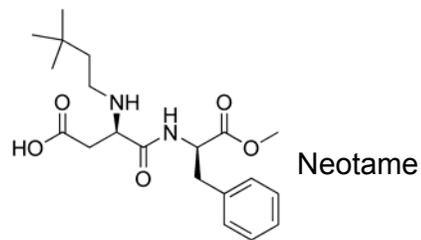
El aspartamo, descubierto en 1967, es un dipéptido formado por ácido aspártico y la fenilalanina que, a partir de la década del 80, se popularizó su uso. La FDA, el Comité Conjunto FAO/OMS y el CCAC EE, han considerado que en las dosis usuales, no ofrece ningún riesgo para la salud (CRFSFS, 2006). Su capacidad para endulzar es el doble que la de la sacarosa pero es inestable y se hidroliza en función de la humedad, temperatura y pH de los alimentos (Gliemmo y col., 2001; Homler, 1984). Ninguno de los productos de su hidrólisis es dulce, razón por la cual su degradación disminuye el dulzor del alimento modificando sus características sensoriales. Además, debido a su naturaleza peptídica, puede reaccionar vía reacción de Maillard con otros componentes del alimento como azúcares, compuestos carbonílicos provenientes de aromatizantes y de la degradación oxidativa de los sorbatos, alterando el color y flavor del producto, disminuyendo así la vida útil del mismo (Gliemmo y col., 2001; Pattanaargson y col., 2001; Wang y Schroeder, 2000; Hutchinson y col., 1999). Si bien el aspartamo tiene valor calórico, su elevado poder edulcorante obliga a ser utilizado en pequeñas cantidades y, como consecuencia, prácticamente no aporta calorías a las preparaciones. Por otra parte, su consumo está restringido para las personas con fenilcetonuria, requiriéndose la expresa indicación de su presencia en el etiquetado del producto (Morón y col., 2005; CRFSFS, 2006). La enfermedad puede ocasionar retraso mental por las dificultades en el metabolismo del aminoácido. El retraso mental puede prevenirse limitando la ingestión de fenilalanina desde el primer mes de vida. Es por esta razón que en los países desarrollados se efectúa la prueba neonatal para la fenilcetonuria (Torres-Sepúlveda y col., 2008).

Acesulfame de potasio (Acesulfamo-k) fue descubierto en Alemania en 1967. Su estructura química es la sal potásica de 6-metil-1,2,3-oxatiazin-4(3H)-ona-2,2-dióxido. Es aproximadamente 200 veces más dulce que el azúcar y estable a altas temperaturas, razón por la cual se puede utilizar durante la cocción.



No aporta calorías porque el organismo humano no lo metaboliza. En altas concentraciones, el acesulfamo-k tiene un sabor ligeramente amargo, como la sacarina por eso se suele utilizar en combinación con otros edulcorantes, como

por ejemplo en las gaseosas colas. En 1983 es aprobado por el Comité de expertos en aditivos alimentarios (JECFA) dando una IDA de 9 mg/kg de peso corporal/día pero en 1991 lo incrementó a 15 mg/kg/día (Tabla 1.2). Algunas pruebas han insinuado que el acesulfame de potasio puede aumentar los tumores de mama en animales de laboratorio, pero la FDA de los Estados Unidos no ha requerido pruebas adicionales (CRFSFS, 2006).



El Neotame es un derivado del dipéptido compuesto por los aminoácidos ácido aspártico y fenilalanina, similar al aspartamo pero más estable y 35 a 65 veces más dulce. Tampoco requiere leyenda en el rotulado de los alimentos que lo contienen (a diferencia del aspartamo) porque no tiene contraindicaciones en su uso para los fenilcetonúricos pues, si bien al hidrolizarse, se produce metanol, como se utiliza en muy pequeñas cantidades por su intenso dulzor, éste no es significativo (CRFSFS, 2006). El neotame es resistente al calor de cocción, el grupo 3,3-dimetilbutil enlazado al grupo amino del ácido aspártico bloquea las enzimas que rompen los enlaces peptídicos y estabilizan la molécula pero, se degrada a pH bajos y temperaturas elevadas durante períodos prolongados de tiempo de almacenamiento (Ramírez, 2003). La FDA aprobó el neotame para uso general en julio de 2002. En los últimos años se incorporó al mercado un nuevo edulcorante no nutritivo, la sucralosa (Splenda®). Fue aprobada por la FDA como edulcorante de mesa en 1998, lo cual fue seguido por su aprobación como edulcorante de uso general en 1999.

El uso de mezclas de edulcorantes es una estrategia que permitiría disminuir el riesgo a sobrepasar el valor de la IDA, que es, en definitiva, el nivel de ingesta segura durante toda la vida sin riesgos para la salud. La IDA para sacarina, ciclamatos, aspartamo, acesulfame.K y neotame es de 2,5; 11; 40; 9 y 2mg/kg de peso corporal/día, respectivamente (Tabla 1.2). Por el momento, no existen datos suficientemente fiables que demuestren que la ingesta diaria

de edulcorantes artificiales pueda ser perjudicial en cantidades moderadas. No obstante, el incremento de estos aditivos en determinados productos, especialmente bebidas refrescantes, y un consumo cada vez mayor, puede comprometer los niveles de ingesta diaria de modo que se excedan los límites recomendables. En estas condiciones, no son de descartar alteraciones imprevisibles (Torresani y Somoza, 2000). Teniendo en cuenta que el consumo de edulcorantes artificiales suscita dudas sobre los efectos que puede tener en la salud humana, esto lleva a investigar alternativas naturales. En el presente trabajo se empleó xilitol, glucosa y un edulcorante que no se encuentra en ninguna de las anteriores clasificaciones, la estevia pues, es un edulcorante natural no nutritivo.



#### **1.2.1.1.1.4. Edulcorantes naturales no nutritivos**

La estevia es una mezcla de derivados glicosilados de esteviol. Se obtiene a partir de la hierba paraguaya *Stevia rebaudiana* (Bertoni), su uso está aprobado en Brasil, Argentina, Paraguay, China, Corea y Japón. Recientemente, la Food and Drug Administration (FDA) lo reconoció como aditivo seguro (generally recognized as safe, GRAS), estableciendo su potencial uso como edulcorante en bebidas y alimentos (Foodqualitynews.com, 2008). El poder edulcorante de sus hojas está dado por una mezcla de esteviósidos y una serie de rebaudiósidos A, B y C, entre otros (Lindsay, 1999). El esteviósido se encuentra en mayor concentración (6% de su peso en seco, en variedades chinas y hasta 13% en las sudamericanas) (Alonso, 1998) y es 300 veces más dulce que la sacarosa, soluble en agua fría y caliente y resistente a las temperaturas de horneado (Lindsay, 1999). Posee efectos benéficos para la salud, entre los cuales se mencionan su acción antibacteriana bucal, hipotensora, vasodilatadora y su potencial uso en el tratamiento de diabetes tipo II (Ferri y col., 2006; Gregersen y col., 2004). Sin embargo, si bien hay datos de la estabilidad de los esteviósidos, hay muy pocos que aborden el estudio de la misma en alimentos y de sus posibles interacciones con otros aditivos o componentes del producto (Clos y col., 2008; Chang y Cook, 1983).

La evaluación toxicológica y bioquímica de este edulcorante mostró que el esteviósido y el rebaudiósido "A" no son genotóxicos *in vitro* o *in vivo*. Por otra parte, el esteviósido mostró alguna evidencia de efectos farmacológicos en pacientes con hipertensión o con diabetes tipo 2 en dosis correspondientes a 12,5 a 25mg/ kg de peso corporal/día (equivalente a 5-10 mg/ kg de peso corporal/día expreso en esteviol). Las evidencias disponibles eran inadecuadas para evaluar si tales efectos farmacológicos podrían ocurrir en bajos niveles de exposición. Se estableció una IDA temporal de 0-2mg/ kg de peso corporal/día para el esteviol glicosideo, expresado como esteviol (JECFA, 2008; FAO/OMS, 2005).

**Tabla 1.2. Ingesta diaria admisible (IDA) de edulcorantes**

<b>EDULCORANTES</b>	<b>IDA (mg/ kg peso corporal)</b>
Sacarina	5,0
Aspartamo	40
Ciclamato	11
Acesulfamo K	15
Sucralosa	15
Neotame	2,0
Neohesperidina	5,0
Stevia	5,5

Además de la estevia, se están estudiando y desarrollando nuevos endulzantes alternativos de origen natural, como la glicirricina o el ácido glicirrícico, oriundo del sur de Europa y norte de África, se origina de forma natural en la planta del regaliz *Glycyrrhiza glabra*, mientras que su sal amónica se fabrica a partir del extractos acuosos de dicha planta (Diario Oficial de la Unión Europea, 2004). Su poder edulcorante es 50-100 veces mayor que la sacarosa. Su uso ha sido aprobado sólo como aromatizante y surfactante en golosinas y bebidas pero no como edulcorante (Lindsay, 1999). Su consumo excesivo puede producir "síndrome del exceso aparente de

mineralocorticoides", entendido como la retención de sodio y la pérdida de potasio con afectación al sistema hormonal de regulación hídrica que puede desembocar en hipertensión arterial. En el 2003, el Comité Científico de la Alimentación Humana de la Unión Europea, estableció como límite de ingesta diaria, 100 mg/día de ácido glicirrónico y su sal amónica. Recomienda también un etiquetado que proporcione a los consumidores la advertencia de la presencia de ácido glicirrónico a fin de proteger a la población vulnerable como hipertensos e individuos con trastornos de la homeostasis del agua y los electrolitos (UE, 2004).

La neohesperidina dihidrochalcona (NDC) es un edulcorante no nutritivo de alta intensidad, 1500-2000 veces más dulce que la sacarosa, y se deriva de las flavononas amargas de los cítricos. Presenta un pequeño retardo en alcanzar el máximo de intensidad de sabor seguido de un regusto con sabor a mentol o regaliz. Opera como un potenciador del sabor y modificador, más que como un edulcorante, pues, en combinación con otros edulcorantes, muestra efectos sinérgicos notables y puede mejorar el perfil global del dulzor e incluso realzar la calidad de los edulcorantes combinados, a concentraciones muy bajas (<5 ppm). También es efectivo para enmascarar el sabor amargo de otros compuestos como el limonin y naringina en los cítricos. Es estable al calor y a los pH extremos, tanto en forma sólida como en solución acuosa; es acariogénico y se puede utilizar en productos dietéticos para las personas con diabetes. Su uso como edulcorante está aprobado por la Unión Europea (1994), Bélgica y Argentina, pero la FDA ha solicitado pruebas toxicológicas adicionales (Internacional Sweeteners Association, 2011; Lindsay, 1999).

Existen también varios edulcorantes de naturaleza proteica, metabolizados por el organismo como cualquier otra proteína alimentaria. Uno de ellos es la taumantina, una proteína alcalina de cadena única con una secuencia de aminoácidos carente de histidina. Se obtiene del fruto del Katemfe de África Occidental (*Daniellia Thaumatococcus*). Su peso molecular es de alrededor de 20000 y es 1600-2000 veces más dulce que la sacarosa. En el Reino Unido se comercializa el extracto de katemfe bajo el nombre de Talin y su uso como edulcorante y potenciador del sabor ha sido aprobado en Japón y Gran Bretaña. También se permite su empleo como potenciador del sabor en la

goma de mascar en Estados Unidos. Presenta una dulzura de larga duración con un ligero sabor a regaliz que, junto con su alto costo, hacen limitado su uso (Lindsay, 1999; Mandrile y col., 1988). Otra proteína dulce, también originaria de África y sin glúcidos, es la monelina, que se obtiene de las bayas encarnadas de la planta herbácea Ekali-Bonte. Su peso molecular es de unos 11500. Tiene la desventaja de ser inestable al calor, pierde dulzor cuando se mantiene en soluciones por debajo de pH 2 y a temperatura ambiente, y es un producto costoso. Otra proteína básica, la miraculina, es una glicoproteína con un peso molecular de 42000. Se ha aislado del pequeño fruto rojo del arbusto Dulcifica Richadella, cuyo hábitat es el oeste africano. Carece de sabor dulce. Sin embargo, tiene la peculiaridad de cambiar el sabor amargo a dulce pues parece que distorsiona la estructura terciaria de los receptores. Su efecto endulzante persiste por más de 24 horas después de colocar en la boca, lo que limita su uso potencial. Es lábil al calor y se inactiva a los valores de pH bajo. Para la FDA, los datos de seguridad para permitir su uso no son suficientes (Lindsay, 1999; Mandrile y col., 1988; Food Lex, 2008).

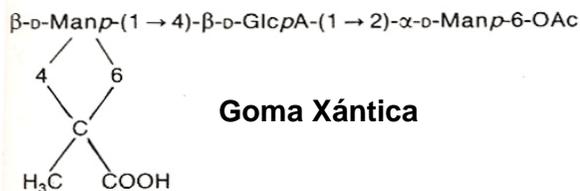
#### **1.2.1.2. Espesantes y gelificantes**

Los espesantes, necesarios para restaurar el cuerpo y la viscosidad perdida por la remoción de la sacarosa, son mayoritariamente hidrocoloides de origen natural, aditivos generalmente reconocidos como GRAS ya que no se absorben en el organismo. En base a ello, su presencia no es cuestionada por los consumidores, pero es crítica su elección desde el punto de vista de su capacidad para emular las propiedades texturales de los productos regulares.

Los hidrocoloides se destacan por las características estructurales, funcionales y texturales que presentan, con gran variedad de aplicaciones en la industria alimentaria, cumpliendo diversas funciones tales como espesar, gelificar y estabilizar emulsiones, suspensiones y espumas. Se obtienen a partir de algas marinas: alginatos, agar-agar y carrageninas; de semillas de plantas terrestres: goma guar; de exudados de árboles: goma arábiga y goma tragacanto, por procesos microbiológicos: goma xántica y goma gellan o por modificaciones químicas de productos vegetales: pectinas (Pasquel, 2001). La capacidad de retención de agua, con ausencia de pérdida de líquido, se debe a

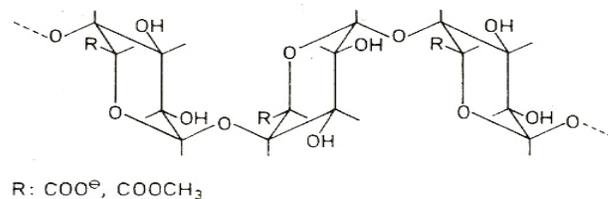
que las moléculas de agua se enlazan con los grupos hidroxilos de los hidrocoloides, formando una red tridimensional. Si la interacción entre las moléculas es baja, tienen la propiedad de espesar porque las moléculas se mueven al azar, si en cambio la interacción es fuerte, gelifican mediante la formación de enlaces verdaderos entre las moléculas (Bedui-Dergal, 2006).

La goma xántica, es un polisacárido natural, presente en la familia de las coles, de alto peso molecular (superior a  $10^6$ ). Es producida por *Xantomonas campestris* en medios de cultivos enriquecidos y extraída por precipitación con isopropanol en presencia de KCl. Su estructura química es tan similar a la celulosa que podría considerarse un derivado de ella ya que, su cadena principal es idéntica, conformada por restos de  $\beta$ -glucopiranososa unidos por enlaces 1-4. A lo largo de esta columna vertebral, cada dos restos de glucosa en posición 3, se enlaza un trisacárido de estructura:  $\beta$ -D-Manopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D Glucuronopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-manopiranosil. Estas cadenas laterales, por fuerzas de enlace secundario, interactúan con la cadena principal otorgándole a la molécula mayor rigidez. La manosa unida a la cadena lateral está acetilada en posición 6 y sus restos en posición terminal, en aproximadamente un 50%, forman un acetal 4-6 cíclica con piruvato (Be Miller y Whistler, 1996; Belitz y Grosch, 1992).



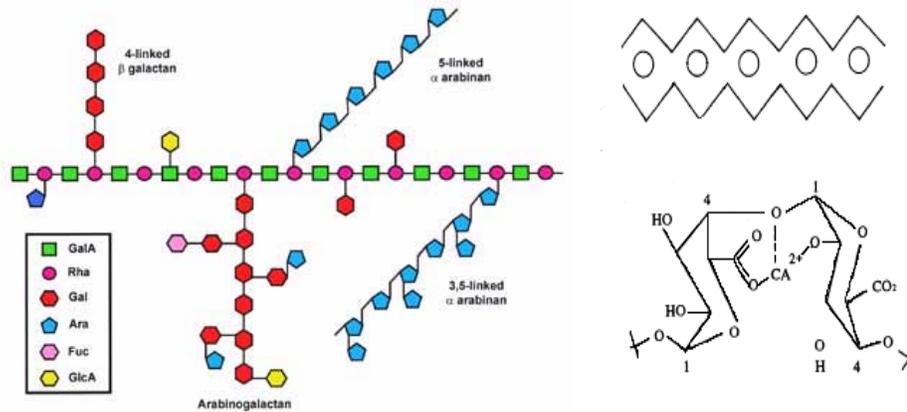
Este polvo de color crema, soluble en agua fría y caliente, produce una elevada viscosidad en bajas concentraciones, dando lugar a soluciones que tienen propiedades tixotrópicas. Fue elegida como espesante en el presente trabajo de investigación, por su resistencia frente a pH extremos y por su amplia estabilidad térmica, ésta propiedad que la distingue del resto de los hidrocoloides, permite aplicar la temperatura de cocción ( $106^\circ$ ) y de pasteurización ( $100^\circ\text{C}$ , 15 min.) sin alterar la consistencia de la mermelada.

La pectina cumple una función estructural en los tejidos vegetales. Tiene una importante aplicación como gelificante en la industria alimentaria pues tiene una capacidad única para formar geles untables y termo-reversibles en presencia de azúcar y ácido o iones de calcio, es por ello que se utilizan casi exclusivamente para la elaboración de mermeladas y jaleas. Las pectinas comerciales se obtienen de las pectinas nativas extraídas de la cáscara de limones o de la cáscara de otros cítricos y de manzana y, del orujo de oliva mediante un proceso en medio ácido. Son polímeros del ácido  $\alpha$ -D-galacturónico unidos por enlaces (1-4), con el grupo carboxilo parcialmente esterificado con metanol. También contienen restos de L-ramnosa en la cadena principal y, en pequeñas cantidades, D-galactanos, L-arabinanos y arabinogalactanos en unión covalente al galacturonano; los grupos OH en posición 2 y 3 pueden estar acetilados en pequeñas proporciones. Según su grado de esterificación se distinguen las pectinas de "alto metoxilo" (PAM) donde más de la mitad de los grupos carboxilo están en la forma de éster metílico (-COOCH<sub>3</sub>) y el resto de los grupos carboxilo están como ácido libre (-COOH) o formando sal (-COO-Na<sup>+</sup>); y las pectinas de "bajo metoxilo" (PBM) que, en su estructura tienen menos de la mitad de los grupos carboxilo en forma de éster metílico.



Tanto en las pectinas de alto como las de bajo metoxilo, la estabilidad está determinada por el pH. A pH por debajo de 3, se produce la hidrólisis de los enlaces glucosídicos y a pH alcalinos se hidrolizan tanto los enlaces glucosídicos como también los ésteres. Las PAM necesitan la presencia de azúcar para formar geles, en cantidades proporcionales al grado de esterificación. En cambio las PBM gelifican con o sin la presencia de azúcar pero, por su estructura débilmente metilada, necesitan de la presencia de iones Ca<sup>2+</sup>, formando, como se muestra más abajo en la figura, una estructura

llamada “caja de huevo”, en la que los iones calcio se unen a dos cadenas adyacentes originando un entrecruzamiento. Los enlaces de calcio se estabilizan con la presencia de enlaces cruzados vecinales (Plant Cell Walls).



### 1.2.1.3. Agentes antimicrobianos

En cuanto a los agentes antimicrobianos, los más empleados en la formulación de jaleas y mermeladas reducidas en su tenor glucídico son los ácidos lipofílicos débiles como el ácido benzoico, el ácido sórbico y sus sales (Lindsay, 1996). Como ya se mencionó, los consumidores tienen una percepción negativa de los aditivos sintéticos y prefieren consumir formulaciones con aditivos naturales. El uso de aceites esenciales de canela y clavo de olor como preservativos se remonta a los tiempos del antiguo Egipto donde se utilizaban en los procesos de momificación; posteriormente los griegos y los romanos lo hicieron con fines medicinales (Bullerman y col., 1977). A partir del siglo 19 comienzan los primeros estudios científicos sobre estos.

La mayoría de los aceites son menos densos que el agua (salvo excepciones como por ejemplo, los aceites esenciales de canela y clavo) y con un alto índice de refracción. Los aceites esenciales son sustancias líquidas, aromáticas y volátiles situadas en cualquier parte del vegetal, conformada por un grupo heterogéneo de sustancias orgánicas (alcoholes, aldehídos, ésteres, cetonas, etc.) (Alonso, 1998). Se obtienen preferentemente por destilación en corriente de vapor de las plantas completas o sus partes. Luego se separan de la fase acuosa, se purifican y almacenan. Los componentes principales de los

aceites esenciales son mono y sesqui terpenos, fenoles o éteres fenólicos, ej.: eugenol y el safrol cuya biosíntesis parte de la fenilalanina y uno de sus intermediarios es el aldehído cinámico, principal compuesto aromático de la corteza de árbol de canela. Su localización en la planta puede ser muy variada e incluso un aceite vegetal puede presentarse en diferentes concentraciones en las distintas partes de la misma.

Los aceites de canela y clavo de olor son reconocidos por la FDA como compuestos GRAS y están exentos de requerimientos sobre datos de toxicidad por la U.S. EPA (2004). El clavo de olor está constituido por un 73-85% de eugenol, un 7-12%  $\beta$ -cariofileno y un 1,5-11% de acetato de eugenol. En la composición promedio de la canela participa el aldehído cinámico (50-80%) el eugenol (10%), el safrol (hasta un 10%) y el linaool y alcanfor (10-15%).

Trabajos anteriores indican que la canela era inhibidora del crecimiento de hongos productores de aflatoxinas. El aceite de canela, el aceite de clavo, el aldehído cinámico y el eugenol inhiben el crecimiento del *Aspergillus parasiticus* y la posterior producción de toxinas. Como ya se mencionó, el aldehído cinámico y el eugenol son los principales elementos constitutivos de los aceites de canela y clavo de olor, concluyéndose que estos son los principales ingredientes activos antifúngicos. El clavo de olor es un árbol perteneciente a la familia de las Mirtáceas, es originario de las islas Molucas (Indonesia), posteriormente se introdujo en América (en Antillas y Brasil). Su uso se remonta a los 300 años a.C., se encontraron escritos chinos que sugerían masticar clavo de olor cada vez que una persona debía hablar con el emperador, también formaba parte de las fórmulas empleadas para embalsamar. Lo que comúnmente llamamos "clavo", son los botones florales sin abrir de la planta. Su uso se expandió a Europa a partir del siglo IV y su cultivo en el continente a partir del XVII.

#### **1.2.1.4. Acidificantes**

Son exaltadores de aromas, sabor y color, preservadores por sus propiedades antimicrobianas y su participación en los sistemas tampón. Son importantes en la formación de geles de pectina: el ácido cítrico se añade para reducir el pH por debajo de 4,5 (Lindsay, 1999). Además presentan otras

funciones en los alimentos, como es el caso de ácido cítrico, que se utiliza como supresor del pardeamiento de frutas y hortalizas, actúa sinergizando los antioxidantes y mejora el aroma. Se obtiene por fermentación de melazas con *Aspergillus niger* (Belitz y Grosch, 1992).

### 1.2.2. Elaboración de mermeladas

El origen preciso de las mermeladas aún es discutido. Algunos sostienen que su elaboración y consumo comenzó en los países del medio oriente donde la de caña de azúcar crecía de manera natural y que, durante el medioevo, los cruzados, a su regreso de las invasiones, llevaron consigo jaleas y mermeladas a Europa. Otra teoría sostiene que los moros del Norte de África enseñaron a los portugueses estas formas de preparación innovadoras. Desde allí fue que los comerciantes portugueses llevaron las mermeladas en sus barcos a otros países de Europa, como Inglaterra. De hecho, la palabra "jalea o "jelly" en inglés, proviene del francés "geleé" que quiere decir congelado o escarchado. Luego, las conservas de fruta se hicieron populares en toda Europa. El primer libro de cocina conocido por el mundo denominado "De asuntos culinarios", escrito por el gastrónomo romano Marcus Gavius Apicius en el primer siglo d.C., incluye recetas para frutas preservadas.



La mermelada, se piensa, fue creada por el médico de María, Reina de Francia, en 1561, quién mezcló pulpa de naranjas con azúcar molida para aliviar los mareos de la Reina en sus viajes por barco. Hay quien asegura que la palabra mermelada proviene del francés "Marie Est Malade" o sea, "María está enferma". Al convertirse en una delicadeza real, los sabores fueron variando y enriqueciéndose. Cronistas reales de la época narran que siempre incluían jaleas y conservas de frutas como parte del menú de los lujosos banquetes. La mermelada llegó al continente americano cerca del siglo 17, y se comenzó a elaborar jaleas y conservas con los desconocidos frutos que ofrecía al nuevo mundo, entre ellos, el tomate. Las jaleas y mermeladas siguen siendo un ingrediente popular para endulzar y aromatizar nuestros



alimentos, desde pasteles hasta una simple untada en un pedazo de pan (Wilson, 1999).



Para la preparación tradicional de mermelada se procede a la selección, lavado, acondicionamiento y pesado de las frutas u hortalizas. Luego, según su peso, se calcula y agrega el azúcar (que puede ser en dos etapas), se realiza su cocción y concentración a olla abierta. Poco antes de finalizar el proceso, se añade el resto de ingredientes deseados como, gelificantes, ácidos, glucosa, aromatizantes, etc. (Studer y col., 1996; Contardi y Gascón, 1999). La finalización de la cocción se determina midiendo los °Brix con refractómetro, 65° Brix son los que estipula el CAA. Esta concentración de azúcar produce una disminución de la  $a_w$  impidiendo el desarrollo microbiano, obteniendo un producto de humedad intermedia. El envasado, en frascos de vidrio limpios y secos con tapa de metal barnizada, se realiza en caliente y hasta casi llegar al borde a los efectos de evitar la dilución por condensación de vapor y el posterior desarrollo de hongos y levaduras en el espacio de cabeza, y ruptura de frascos por diferencia brusca de temperatura durante la pasteurización. Después del llenado de cada frasco, se cierran inmediatamente para impedir su enfriamiento y posible contaminación; luego se procede a su pasteurización para asegurar una prolongación de su vida útil y calidad organoléptica (Contardi y Gascón, 1999). La temperatura y el tiempo de pasteurización no deben exceder los 100°/15min para evitar la oxidación del ácido ascórbico y como consecuencia, el pardeamiento del producto final. A escala industrial el proceso se realiza al vacío, donde los tiempos de cocción se acortan, los compuestos aromáticos volátiles se recuperan y presentan mejor conservación del color pero la escasa caramelización por la falta de inversión de la sacarosa, hace que el producto final no tenga el sabor característico de la mermelada tradicional. Existen mermeladas de una sola fruta, de varias o de mezclas de mermeladas (Studer y col., 1996; Belitz y Grosch, 1992).

### **1.2.3. Desarrollo de mermeladas dietéticas**

El estudio de la optimización del desarrollo de mermeladas dietéticas o de reducido tenor glucídico está extensamente reportado en bibliografía. A continuación se detallarán algunos trabajos.

Abdullah y Cheng (2001) optimizaron la formulación de una mermelada de bajo valor glucídico de una mezcla de papaya, carambola y piña, utilizando como endulzantes acesulfame-K y sorbitol y, pectina de bajo metoxilo como gelificante. Con el propósito de determinar la proporción óptima de cada fruta en la mezcla, aplicaron un diseño de componentes, siendo los mismos, la fracción en peso de cada fruta. El diseño contempló 10 formulaciones, las que fueron sometidas a análisis sensoriales con un panel de jueces entrenados, mediante una escala hedónica de puntos. Los resultados obtenidos mostraron que la mermelada formulada con una sola fruta, que resultó más aceptable, fue la piña, seguido por la papaya y carambola. Sin embargo, la mermelada de papaya obtuvo un mejor color seguido por la de piña y carambola. Para la combinación de dos frutas, la mejor formulación se logró mezclando piña y papaya.

En el desarrollo de una mermelada de guayaba baja en calorías, Campos-Gutiérrez y col. (2008) utilizaron distintos tipos de gomas variando su concentración. Todas las formulaciones contenían pectina, sucralosa (0.5 mg/100 g de pulpa) y benzoato de sodio. Realizaron un diseño experimental unifactorial con 5 tratamientos: Control 0%; 0,6% y 0,8% (mg/100g) de goma xántica y la mismas proporciones de goma guar. Luego evaluaron color, textura y nivel de agrado o preferencia a través de una escala hedónica de 7 puntos. Como resultado obtuvieron que las gomas influyen en la textura y aceptabilidad. El tratamiento con 0,6% de goma xántica fue el mejor evaluado por los consumidores tanto en textura, como en aceptabilidad.

Posteriormente Acosta y col. (2008), utilizaron otra mezcla de frutas tropicales combinando piña, banana y fruta de la pasión, considerando como variables independientes los siguientes aditivos: pectina de bajo metoxilo y  $\text{CaCl}_2$  (gelificante y coadyuvante respectivamente) y los endulzantes aspartamo y acesulfame-k. Esta selección de variables independientes fueron establecidas ya que, a criterio de los autores y basándose en los estudios de Sandrou y Arvanitoyannis (2000), el gusto dulce y textura del gel son los más afectados por la ausencia de sacarosa. Mediante la metodología de superficie de respuesta se realizó un diseño de 3 variables y 3 niveles de dichos ingredientes. Se evaluó la aceptabilidad global con un panel de 100

consumidores habituales de este tipo de mermeladas, mediante el empleo de una escala estructurada. El análisis de los resultados mostró que las concentraciones relativamente altas de calcio pueden destruir el gel aumentando el entrecruzamiento, de tal manera que la pectina precipita adquiriendo una textura granulosa. Los efectos de las variaciones en la concentración de pectina y de los edulcorantes no fueron significativos en la aceptabilidad global.

Es curioso lo observado por Gajar y Badrie (2002) que, utilizando papa del aire (*Sechium edule*) como materia prima fresca, obtuvieron como variable de preferencia del gelificante, a la pectina de alto metoxilo al 2% frente a la pectina de bajo metoxilo al 1 y 2%, mediante la aplicación de un diseño experimental y un análisis sensorial con 20 panelistas que evaluaron, por escala hedónica de 9 puntos, los atributos de apariencia y textura aceptables. En una segunda etapa, para determinar la textura más aceptable, utilizaron como variables independientes distintos niveles de carragenina en las sucesivas proporciones: 0,03; 0,06 y 0,09%. Una vez establecido el gel deseado (0,03% de carragenina), se realizaron 4 formulaciones con los siguientes edulcorantes: sacarina; mezcla de aspartamo y sacarina; aspartamo; y sucralosa. Determinándose que, la combinación de 2 % PAM, 0,06% de carragenina y 1,9% de sucralosa producen una mermelada con un gel aceptable en cuanto a los atributos de apariencia y textura.

Con el objetivo de determinar la vida útil de néctares de pulpa de tomate de árbol, Moreno-Álvarez y col. (2003) desarrollaron un diseño de 4 formulaciones con diferentes concentraciones de ácido ascórbico (0; 0.5; 1.0 y 1.5% p/v) con el añadido de sacarosa hasta llegar a un valor de 14° Brix. Se realizaron evaluaciones fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales sobre las muestras a los 7, 14 y 21 días luego de ser pasteurizadas. Los parámetros de acidez titulable, pH, azúcares totales y sólidos solubles no cambiaron significativamente durante los 21 días del estudio para las cuatro formulaciones. En cambio, los carotenoides totales y la vitamina C presentaron evidencias de oxidación. La formulación conteniendo 1,5 % de ácido ascórbico mostró los mayores valores de carotenoides totales comprobándose su efecto antioxidante. En cuanto a la calidad microbiológica de los productos, se

evaluaron bacterias mesófilas, hongos, levaduras, coliformes totales. Los parámetros estimados fueron comparados con los establecidos por las Normas COVENIN 1699/ 1337 de la Comisión de Normas Industriales de Venezuela, de donde es originario el presente trabajo. Los resultados para el primer día de pasteurización, presentaron valores menores a los señalados por las Normas en las 4 formulaciones con lo cual se dedujo que el proceso de pasteurización fue eficiente. En el día 21 se detectó una importante carga microbiana en las formulaciones conteniendo ácido ascórbico en las menores proporciones, por lo que se les determinó una vida útil de 14 días; no así para las formulaciones conteniendo 1.0 y 1.5% de ácido ascórbico, que presentaron buena calidad microbiana durante todo el estudio, quedando establecido para estas, 21 días de vida útil. Los resultados comentados corroboran la importancia del ácido ascórbico como factor de conservación. En los análisis sensoriales se evaluaron los atributos olor, sabor y color por un panel no entrenado de 24 personas. Los resultados indicaron que no existieron diferencias significativas entre las formulaciones para los atributos olor y sabor en los diferentes tiempos. En cambio, la formulación sin ácido ascórbico fue preferida mayoritariamente por su color. Se concluye que existe factibilidad técnica en la elaboración de néctares del tomate de árbol para su comercialización ya que esta especie, de un adecuado valor nutricional, no está aprovechada por la industria alimentaria.

Porto-Cardoso y André-Bolini (2008) realizaron ensayos con variedad de edulcorantes en un néctar de durazno. Lo interesante de este trabajo es que, en una primera etapa, establecieron como dulzor ideal la concentración de 10 % de sacarosa, partiendo de cinco muestras endulzadas en las siguientes proporciones: 5,0%, 7,5%, 10,0%, 12,5% y 15,0% que posteriormente fueron evaluadas por un panel 100 consumidores. En una segunda etapa, se determinó la concentración equivalente al dulzor ideal de sacarosa en aspartamo, ciclamato, la mezcla sacarina/estevia 2:1, estevia, sucralosa y acesulfame K. Los resultados arrojaron las siguientes equivalencias de dulzor: aspartamo 0,054%, mezcla ciclamato/sacarina (2:1) 0,036%; estevia 0,10%; sucralosa 0,016%; acesulfame 0,053%. Por otra parte, se detectó un efecto residual en estevia y aspartamo.

### 1.3. El tomate

#### 1.3.1. Características, aspecto nutricional y beneficios de su consumo

El tomate (*Lycopersicum esculentum*) es uno de los frutos más importantes de la familia de las Solanáceas. La planta proviene de Perú y de Méjico. Muy probablemente los españoles la introdujeron en Europa en el siglo XVI y desde allí se extendió a otras partes del mundo. Se sabe que los aztecas lo llamaban tumatí y lo consideraban un alimento noble (Nuez Viñals, 1995).



En la Tabla 1.3 se detalla la composición química porcentual del tomate fresco y su valor energético.

**Tabla 1.3. Composición porcentual del tomate fresco, crudo - *Lycopersicum sculentum* por 100 gr de porción comestible.**

Energía	84	kJ
Energía	20	kcal
Agua	94	g
Proteínas	1	g
Grasa Total	...	g
Carbohidratos totales	4.1	g
Carbohidratos disponibles		g
Fibra dietética		g
Cenizas	0.9	g
Sodio	5	mg
Potasio	267	mg
Calcio	9	mg
Fósforo	43	mg
Hierro	1.67	mg
Zinc		mg
Tiamina	0.071	mg
Riboflavina	0.067	mg
Niacina	0.4	mg
Vitamina C	18.1	mg

Fuente: Universidad de Lujan

Es un vegetal muy versátil pues se puede consumir tanto fresco como procesado (salsas, sopas, secos, concentrados, jugos, etc.). El tomate y productos del tomate son fuente de vitaminas A, C, E y folatos; potasio y fibra dietética aportando 1,4 g de fibra por cada 100 g de alimento, siendo la fibra promedio de los vegetales "A" de 2,15 y de las frutas frescas 1,95 (Torresani y Somoza, 2000).

El componente nutritivo más destacado es el licopeno, que otorga la coloración roja característica de los tomates. Es un pigmento vegetal carotenoide, isómero del  $\beta$ -caroteno, desprovisto de actividad pro-vitamina "A" pero con actividad antioxidante. También están presentes en el tomate otros carotenoides, tales como  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -caroteno, luteína, fitoeno y phytoflune, y flavonoides que, en combinación con el licopeno, potencian sus propiedades (Alshatwi y col., 2010). Todos ellos son sintetizados por la propia planta y cumplen la función biológica de absorber la luz durante la fotosíntesis, protegiéndola de la foto sensibilización pero, desde el punto de vista nutricional, el licopeno, es el que más se destaca por sus propiedades antioxidante, además de ser el carotenoide más abundante en los tomates (Cadelas-Candillo y col., 2005). Por su naturaleza carotenoide, es soluble en disolventes apolares (incluyendo lípidos de la dieta) e insoluble en agua, y está caracterizado por una estructura simétrica y acíclica con 11 dobles enlaces conjugados (Belitz y Grosch, 1992); se presenta en la naturaleza como la forma todo-trans (Von Elbe, 2003). El licopeno, en comparación con otros carotenoides y dado su elevado número de dobles enlaces, tiene mayor capacidad de captar los radicales peróxidos y de inhibir al oxígeno singulete. (Shi y col., 2007; Vitale y col., 2010). Es ampliamente reconocido que el estrés oxidativo es un importante factor etiológico y principal contribuyente al aumento del riesgo de enfermedades crónicas y daño celular que actualmente afectan a la población mundial (Cadelas-Candillo y col., 2005; Periago y col., 2001; Lewinsohn y col., 2005). Es por ello que, un elevado consumo de tomates se relaciona tanto experimental como epidemiológicamente con una disminución de la peroxidación de lípidos y del riesgo de padecer cierto tipo de cánceres, como el de próstata, pulmón y tracto digestivo y, enfermedades cardiovasculares; actúa como modulador de la respuesta inmune, modifica los procesos inflamatorios y

de envejecimiento (Periago y col., 2001; Martín-Moreno y Gorgojo, 2002; Alshatwi y col., 2010; Krzysztof y Blasco, 2010). También se han constatado sus efectos positivos en la prevención del síndrome de degeneración macular, principal causa de ceguera en las personas mayores de 65 años (Waliszewsk y Blasco, 2010). La cantidad de licopeno en tomates frescos puede variar dependiendo de la especie, la madurez y las condiciones ambientales en las que la fruta madura (Kuc y col., 2005). Habitualmente los tomates contienen cerca de 3 a 5 mg de licopeno por 100 g de material crudo (Martín-Moreno y Gorgojo, 2002; Markovic y col., 2006). El contenido de licopeno y el hallazgo de sus propiedades plantea cuestiones importantes para establecer las recomendaciones óptimas de su ingesta diaria (Markovic y col., 2006).

**Tabla 1.4. Principales fuentes y raciones consumidas ricas en Licopeno.**

<i>Producto</i>	<i>Porción o ración alimentaria</i>	<i>Cantidad de Licopeno (mg/ración)</i>
<i>Zumo de tomate</i>	<i>250 cc (1 vaso)</i>	<i>25,0</i>
<i>Ketchup</i>	<i>15 cc (1 cucharada)</i>	<i>2,7</i>
<i>Salsa para spaghetti</i>	<i>125 cc (1/2 taza)</i>	<i>28,1</i>
<i>Pasta de tomate</i>	<i>30 cc (2 cucharadas)</i>	<i>13,8</i>
<i>Sopa de tomate (condensada)</i>	<i>250 cc preparado</i>	<i>9,7</i>
<i>Salsa de tomate casera</i>	<i>60 cc (1/4 taza)</i>	<i>8,9</i>
<i>Salsa de chili</i>	<i>30 cc (2 cucharadas)</i>	<i>6,7</i>
<i>Tomate crudo</i>	<i>123 g (1 medium)</i>	<i>3,7</i>

Fuente: Martín-Moreno y Gorgojo (2002).

### **1.3.2. Efecto del procesamiento sobre los componentes del tomate y sobre su valor nutricional**

En el procesamiento de tomates a nivel industrial, un inadecuado procedimiento puede producir alteraciones en el licopeno por las altas temperaturas en función del tiempo, la luz, el oxígeno, los ácidos y los iones metálicos, afectando la isomerización del licopeno (de trans a mono o poli-cis) y la autooxidación, produciendo no solo cambios en el color y la aparición de off-flavors sino también, una disminución de su valor nutritivo (Melendez-Martinez, y col., 2004; Shi y col., 2007; Kong y col., 2010). Pero si bien los isómeros cis

son más susceptibles a la oxidación (Lovrić y col., 1970), su biodisponibilidad



es superior a los isómeros trans ya que, las formas cis son ligeramente más polares, presentan menor tendencia a la cristalización, son más solubles en aceites y solventes hidrocarbonatos y en las micelas de los ácidos biliares, facilitando su absorción por difusión pasiva a las células de la mucosa intestinal, donde se incorporan a los quilomicrones para luego ser liberados al torrente sanguíneo y transportados al hígado para su metabolización. Luego, el licopeno es transportado por las lipoproteínas plasmáticas para su distribución a diferentes órganos. Su absorción es de 10-30% dependiendo de factores biológicos y del estilo de vida (la edad, género, estado hormonal, masa y composición corporal, niveles lipídicos en sangre, fumar, consumir alcohol y la presencia de otros carotenoides) (Periago y col., 2001; Waliszewski y Blasco, 2010).

Además, el procesamiento de alimentos rompe las paredes celulares, lo que debilita las fuerzas de enlace entre el licopeno y el tejido de la matriz, obteniendo una mayor biodisponibilidad de licopeno en los productos a base de tomate que, en los tomates frescos sin procesar (Shi y col., 2007). Durante mucho tiempo se consideró que la transformación de vegetales por aplicación de calor disminuía su valor nutritivo frente a los productos frescos debido a la pérdida de vitamina C durante el procesamiento. Sin embargo, Dewanto y col. (2002), si bien corroboraron la pérdida de vitamina C en tomates sometidos a tratamiento térmico de 88 °C durante 2, 15 y 30 minutos, también pudieron constatar que el proceso elevaba la actividad antioxidante total, el contenido de licopeno y su bioaccessibilidad, indicando que el procesamiento térmico mejora el valor nutritivo de los tomates. Según Lee y Chen (2002), que estudiaron la estabilidad del licopeno frente a la temperatura y la luz, reportaron que durante el calentamiento hasta los 50°C, se producía isomerización, sin embargo a los 100 y 150°C, la degradación oxidativa procedía más rápido que la isomerización; frente a la luz, la isomerización fue la reacción dominante y observaron que la tasa de degradación constante de licopeno aumentó al aumentar la temperatura. No obstante, Nguyen y Schwartz (1998), al evaluar el

efecto de algunos tratamientos térmicos sobre la distribución de isómeros de licopeno, indicaron que, en contraste con el  $\beta$ -caroteno, el licopeno se mantuvo relativamente resistente al calor. Takeoka y col. (2001) evaluaron la actividad antioxidante en tomates frescos y pasta de tomate. Los resultados indicaron que durante el procesamiento del tomate crudo, su escaldado y reducción por cocción a 25-30 ° Brix, observaron pérdidas en el licopeno de los tomates en pasta entre 9 y 28%. Pérez Conesa y col. (2009) estudiaron el efecto del tratamiento térmico en bioactivos del puré de tomate: carotenoides, fenoles totales, ácido ascórbico y folatos. Observaron que durante la pasteurización, los carotenoides fueron relativamente resistentes a la degradación térmica, mientras que el contenido de fenoles totales y ácido ascórbico disminuyó significativamente. Se concluyó que la pasteurización a 98 °C durante 40 min mejora el valor nutricional de puré de tomate, aumenta de la biodisponibilidad de los folatos y mantiene los carotenoides.

La producción argentina de productos derivados del tomate promedia las 100.000 toneladas anuales (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2011). Entre los principales productos se incluyen:

- Enlatados de tomates enteros o en trozos
- Puré de tomate
- Salsas
- Extractos
- Pulpa
- Tomate triturado



Los tomates y sus productos derivados son las mayores fuentes de licopeno y son considerados importantes contribuidores de carotenoides en la dieta humana.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Generales**

- Contribuir a la optimización de formulaciones involucradas en la industrialización de alimentos.
- Contribuir al desarrollo de alimentos sanos y nutritivos, los cuales sean aceptados por el consumidor por su adecuada funcionalidad y aptitud organoléptica.

### **2.2. Específicos**

- Desarrollar jaleas y mermeladas modificadas en su tenor glucídico empleando aditivos naturales.
- Estudiar las interacciones entre preservadores y otros aditivos e ingredientes de una formulación con el objetivo de optimizar el uso de los mismos para lograr una mejor calidad de jaleas y mermeladas modificadas en su tenor glucídico.
- Evaluar el efecto de las interacciones observadas sobre la estabilidad, la actividad biológica y/o la funcionalidad de los aditivos.
- Contribuir a la correcta elección de los aditivos a utilizar y de la concentración indispensable para asegurar la adecuada actividad biológica y funcionalidad de los mismos.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Materias primas y reactivos**

Se utilizaron tomates redondos maduros (Larga Vida Fortaleza Torino) obtenidos en un puesto del Mercado Central de Bs. As.

Se empleó pectina de bajo metoxilo y goma xántica (Cargill, Argentina); estevia (Imnobal-Nutrer, Argentina); xilitol de calidad alimenticia (Gelfix, Argentina); ácido cítrico y cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), de calidad analítica (Anedra, Argentina); vainillina (Sigma, USA), aceite esencial de canela y de clavo de olor (Sigma, USA). Además se utilizaron los siguientes medios de cultivo: caldo y agar Sabouraud, agar MRS, agar para recuento de viables, caldo y agar Muller Hinton y agua peptona (Biokar, Francia).

#### **3.2. Criterios empleados en la formulación y procesamiento de las mermeladas**

Las mermeladas de bajo valor glucídico se elaboraron teniendo en consideración la búsqueda de la formulación de un producto con adecuadas características sensoriales y que cumpla con la normativa del Código Alimentario Argentino que establece, para “Alimentos Modificados en su Composición Glucídica”, que la cantidad de calorías no debe ser mayor a 70 % de la que provee el alimento corriente (art.1370/Res 1542 del 12.09.90). Además, en cuanto a las mermeladas, estas no deben contener más del 10% p/p de carbohidratos asimilables en el producto listo para consumir (art. 1371-Res 1505 del 10.08.88).

En base a trabajos previos realizados por el grupo, se decidió utilizar xilitol como edulcorante y agente texturizante. Respecto al porcentaje de este polirol, el CAA no establece un límite pero se consideró para su cálculo que, los polioles tienen un efecto laxante y que para el manitol, el CAA establece un máximo de 15 % (Res 101 del 22.02.93, Artículo 10).

Por otra parte, en base a la evaluación de mermeladas comerciales, a ensayos preliminares y a la experiencia previa en el tema se fijaron otros parámetros de la formulación.

En cuanto a la evaluación de muestras de mermeladas comerciales, se les midió los °Brix, el pH, la  $a_w$  y el color. En cuanto a los ensayos preliminares, se realizaron distintas formulaciones que permitieron poner a punto el proceso de elaboración.

En base a lo comentado, se seleccionaron las siguientes condiciones de trabajo:

- a) La cocción se realizó en una olla a presión atmosférica y el proceso finalizó cuando la concentración de sólidos solubles alcanzó los 30° Brix.
- b) La concentración de hidratos de carbono asimilables (pulpa de tomate y glucosa) se fijó en 10,0% m/m.
- c) La concentración de xilitol se fijó en 20,0% m/m.
- d) El pH final se ajustó a 3,50, empleando ácido cítrico como acidulante.
- e) La concentración de pectina de bajo metoxilo seleccionada fue de 0,6% m/m y la de  $\text{Ca Cl}_2$ , de 0,025% m/m.
- e) La concentración de vainillina fue de 0,05% m/m.

Para otorgar al producto el sabor dulce y la textura adecuada, se incorporaron estevia y goma xántica, probándose distintas concentraciones de dichos aditivos y realizándose distintas formulaciones.

### **3.3. Optimización de la concentración del edulcorante y del espesante**

#### **3.3.1. Metodología para la elaboración de mermeladas**

La elaboración de las formulaciones se realizó de acuerdo al diagrama de flujo que muestra la Figura 3.1.

La materia prima fresca fue seleccionada descartando las unidades que presentaban daños físicos. Se pesaron los tomates (28,97 kg), luego se lavaron y se sumergieron en agua clorinada conteniendo 200 ppm de cloro durante 10 minutos. A continuación se los sometió al proceso de acondicionamiento que consistió en escaldado en agua hirviendo durante 45 seg y un rápido enfriamiento en agua helada conteniendo 50 ppm de cloro. Luego, se procedió al pelado, extracción de semillas y cubeteado. Se pesó la cantidad de pulpa (15,00 g.) y los excedentes (9,60 g). Toda la pulpa se mezcló, se envasó en

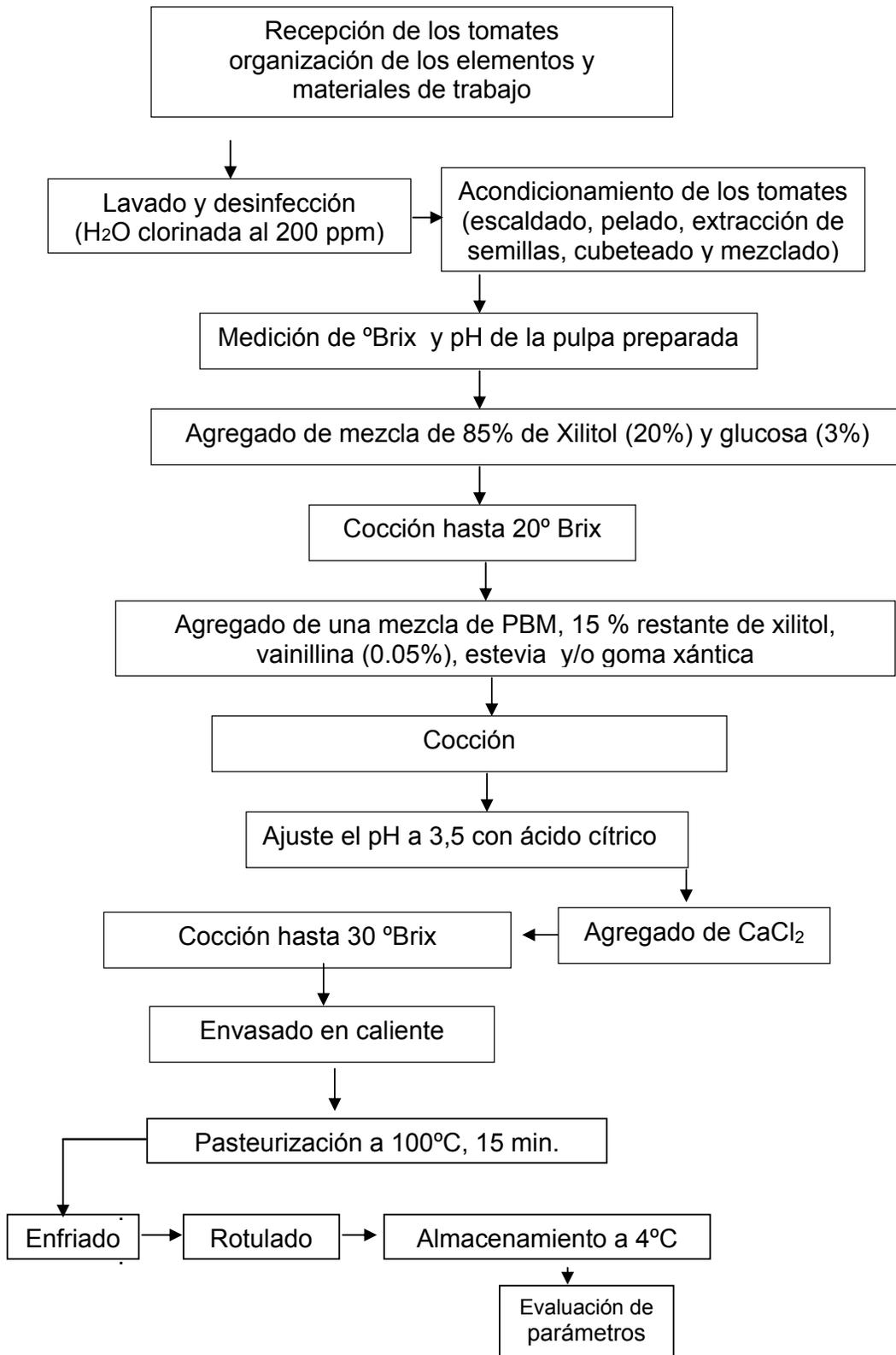
fracciones en bolsas de polietileno, las cuales fueron almacenadas en freezer hasta su utilización. El excedente se desechó. Se midieron los °Brix y el pH de la pulpa acondicionada para calcular la cantidad necesaria de cada aditivo según los porcentajes establecidos en la formulación inicial. Luego se agregó el 85% del xilitol total calculado y la glucosa. Se realizó una primera etapa de cocción hasta llegar a 20 ° Brix en la que se agregó, de a poco bajo agitación constante, una mezcla que contenía pectina de BM, goma xántica, vainillina, estevia y el 15 % restante de xilitol. Se continuó la cocción, luego se procedió al agregado de ácido cítrico hasta ajustar el pH a 3,50 y a continuación se añadió una solución que contenía  $\text{CaCl}_2$  para lograr una óptima gelificación.

Al llegar a 30° Brix, se finalizó el proceso de cocción y se envasó en caliente (80°C) en frascos de 200 cc dejando un mínimo espacio de cabeza. Los frascos se taparon inmediatamente y se pasteurizaron, a 100 ° C durante 15 minutos, en un esterilizador eléctrico (Tuttnauer, Israel). Por último, se dejaron enfriar a temperatura ambiente, se rotularon y se almacenaron en una cámara con temperatura constante de 4°C hasta su utilización.

Para optimizar la concentración de estevia y de goma xántica, se aplicó un diseño factorial, en tres bloques, con dos variables a dos niveles ( $2^2$ ) y un punto central, realizando un total de 15 experimentos. Las variables fueron la concentración de estevia y de goma xántica. En la Tabla 3.1. se indican las concentraciones de las variables en las 5 formulaciones. Todas las formulaciones además contenían: pectina de bajo metoxilo (0,60% m/m), xilitol (20,00% m/m), glucosa (3,00% m/m), vainillina (0,05% m/m),  $\text{CaCl}_2$  (0,025 % m/m) y ácido cítrico en cantidad suficiente para ajustar el pH a 3,5.

Las respuestas que se analizaron con el diseño fueron las propiedades sensoriales (aceptabilidad global, dulzor, dureza y color) de las formulaciones, cuyas determinaciones se detallan en las próximas secciones.

Figura 3.1. Diagrama de flujo de la elaboración de la mermelada de tomate



**Tabla 3.1. Composición de las cinco formulaciones de mermelada elaboradas.**

Composición (% m/m)	Formulaciones				
	1	2	3	4	5
Extracto de esteviosido	-----	-----	0.250	0.125	0.250
Goma xántica	0.450	-----	-----	0.225	0.450

### 3.3.2. Evaluación de parámetros fisicoquímicos

#### 3.3.2.1. Determinación del pH

Se midió el pH del tomate sin modificar por cocción (materia prima) y el producto final con un pHmetro Solution Analyzer 5800-05 (Cole-Parmer Instrument Co., Illinois, USA), previamente calibrado con buffers de pH 4,00 y 7,00. Todas las lecturas fueron tomadas por triplicado.

#### 3.3.2.2. Determinación de los °Brix

Se registraron los sólidos solubles totales, expresados en ° Brix, de la materia prima y de cada formulación a lo largo del proceso de elaboración hasta el producto final (30°Brix) con un refractómetro (Westover, China). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### 3.3.2.3. Determinación de la actividad de agua

Para estimar la  $a_w$  se utilizó un higrómetro electrónico digital marca AQUALAB (Decagon, USA) y se realizó una curva de calibración empleando soluciones salinas saturadas de Cloruro de Potasio, Cloruro de Bario, Nitrato de potasio y Sulfato de Potasio. Luego se corrigieron los valores leídos empleando la curva de calibración. El error experimental en la determinación de actividad de agua cuando se utiliza el higrómetro empleado en el presente estudio es  $\pm 0,005$  unidades de actividad de agua (Roa y Tapia, 1991). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### 3.3.2.4. Determinación del color

El color de las formulaciones realizadas se determinó por triplicado utilizando un colorímetro Minolta -Shimadzu, normalizado con una pieza blanca. Se midieron los valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  para el iluminante C, 2° de observación. En base a ellos se calculó la diferencia de color ( $\Delta E^*$ ) a través de la siguiente ecuación:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_o^* - L^*)^2 + (a_o^* - a^*)^2 + (b_o^* - b^*)^2}$$

donde  $L_o^*$ ,  $a_o^*$  y  $b_o^*$  representan la lectura de la formulación 2.

### **3.3.3. Evaluación de parámetros microbiológicos**

Para realizar los distintos ensayos microbiológicos se utilizaron los siguientes insumos: placas de petri, bolsas para homogeneización y discos esteriles.

#### **3.3.3.1. Evaluación de la flora nativa presente en las formulaciones ensayadas**

Se evaluó el recuento de aerobios mesófilos, bacterias ácido-lácticas, coliformes y hongos y levaduras.

Para ello, se tomó una alícuota de cada una de las mermeladas bajo flujo laminar y se introdujo en una bolsa estéril previamente tarada. Posteriormente se pesó y se añadió un volumen de agua peptona correspondiente a nueve veces el peso exacto de la muestra. El contenido de la bolsa se trituró y homogeneizó en un triturador de paletas (Stomacher). Se tomaron, con pipeta, alícuotas de los extractos microbianos y se realizan diluciones seriadas de los mismos. Las mismas se sembraron en placas de petri estériles y luego se les añadió aproximadamente 15 mL de agar a 45-48°C. El medio de cultivo empleado, así como las condiciones de incubación dependen del microorganismo que se desea enumerar. Para el caso de los aerobios mesófilos se emplea agar para recuento, para las bacterias ácido lácticas, agar MRS, para las coliformes, agar bilis rojo violeta y para los hongos y levaduras, agar Sabouraud. En cuanto a las condiciones de incubación, la flora aerobia, las bacterias ácido-lácticas y las coliformes se incubaron a 30°C por 48 h mientras que los hongos y levaduras se incubaron a 25°C por 5 días.

### **3.3.4. Evaluación de las propiedades sensoriales**

#### **3.3.4.1. Reclutamiento de jueces y acondicionamiento de instalaciones**

Un total de 20 personas fueron seleccionadas como jueces entre el personal docente y becarios de doctorado del Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA.

Se seleccionó un aula como área de evaluación sensorial de las instalaciones provista de iluminación natural y ventilación adecuada. Se prepararon 6 cubículos separados con divisiones desmontables apoyadas sobre una mesa grande con 6 banquetas. Luego, se realizó la organización de utensilios descartables (vasos, servilletas, cucharas, cuchillos, envases para muestras), agua, tostadas, golosinas para premiar a los jueces al finalizar las distintas pruebas, y se prepararon las muestras. La hora de aplicación: sesiones programadas (2 sesiones) en horas de la mañana de 9:00–11:00 a.m. temperatura de presentación de la muestra 20-25°C.

#### **3.3.4.2. Selección y entrenamiento del panel**

El entrenamiento permite al panel tener la habilidad para discriminar diferencias entre muestras.

##### **3.3.4.2.1. Prueba de agudeza gustativa- JELLINEK**

Para seleccionar y entrenar a los evaluadores en cuanto a su sensibilidad para diferenciar los gustos básico y evaluar su intensidad, se realizó una prueba de ordenamiento según intensidad de sabor de los siguientes gustos básicos: dulce, ácido, amargo y metálico (Anzaldúa-Morales, 1994; Norma Iram 20005-1,1993).

##### **3.3.4.2.1.1. Preparación de las muestras**

Se prepararon las 4 soluciones con agua destilada correspondientes a los 4 gustos básicos en las cinco concentraciones detalladas en la Tabla 3.2. Se envasaron en un total de veinte envases plásticos herméticos de 1500 ml de capacidad y recubiertos con papel aluminio para protegerlos de la luz hasta su utilización.

**Tabla 3.2. Soluciones empleadas para la evaluación de la agudeza gustativa.**

<b>Soluciones</b>			
<b>Sacarosa (% m/m)</b>	<b>Ácido cítrico (% m/m)</b>	<b>Cafeína % m/m)</b>	<b>Sulfato Ferroso (% m/m)</b>
10	10	0,1	0,1
5	5	0,05	0,05
2,5	2,5	0,025	0,025
1,25	1,25	0,0125	0,0125
0,625	0,625	0,006	0,006

Para el sabor dulce se utilizó sacarosa, para el ácido se empleó ácido cítrico, para lograr el amargo se recurrió a la cafeína y en el caso del sabor metálico, sulfato ferroso.

Se dispensaron 15 ml de solución de cada sabor y concentración en vasos que tenían un código numérico de 3 dígitos. Sobre cada cubículo se colocaron cuatro carteles consecutivos con los nombres de los gustos básicos, un vaso descartable de 350 ml de capacidad con agua mineral, otro vaso descartable de 1000 ml para escupir y servilletas para higienizarse.

#### **3.3.4.2.2. Prueba discriminativa de diferenciación de muestras y ordenamiento**

La prueba consistió en tres etapas. Primero se entregó a cada juez dos planillas (Planillas 3.1 y 3.2) y una bandeja con 10 vasos con distintas concentraciones. Se le explicó verbalmente en que consistía el ensayo, de acuerdo al procedimiento indicado en la Planilla 3.1.

A continuación se les dio a los jueces un intervalo de descanso de 5 minutos. Se realizó la segunda etapa donde se entregaron los 10 vasos restantes a cada juez para repetir la operación.

En una tercera etapa, luego de un intervalo de 5 minutos, los jueces debían ordenar sobre cada cartel indicativo, la intensidad que percibían de menor a mayor de cada gusto básico y completar la Planilla 3.2. El ensayo de gustos básicos se realizó por triplicado en días diferentes.

**Planilla 3.1. Discriminación de gustos básicos.**

**Nombre:**\_\_\_\_\_ **Fecha:**\_\_\_\_\_

Usted recibirá 20 muestras con sabores **dulce, amargo, ácido y metálico**

- Primero pruébelas y sepárelas en cuatro grupos dependiendo del sabor
- Descanse 5 minutos y **para cada sabor**, ordénelas de **menor a mayor** intensidad.
- No trague las muestras
- Indique sus respuestas usando la clave señalada en cada vaso
- Enjuáguese la boca con agua después de probar cada muestra  
Escupa el recipiente que se le dio para tal fin.

**Planilla 3.2. Evaluación de la intensidad de los gustos básicos.****DULCE****INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS DE MENOR A MAYOR INTESIDAD****Menos dulce** \_\_\_\_\_ **Más dulce****METALICO****INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS DE MENOR A MAYOR INTESIDAD****Menos metálico** \_\_\_\_\_ **Más metálico****ÁCIDO****INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS DE MENOR A MAYOR INTESIDAD****Menos ácido** \_\_\_\_\_ **Más ácido****AMARGO****INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS DE MENOR A MAYOR INTESIDAD****Menos amargo** \_\_\_\_\_ **Más amargo****MUCHAS GRACIAS**

### 3.3.4.2.3. Prueba de evaluación de la intensidad de color rojo

#### 3.3.4.2.3.1. Preparación de la muestra

Para construir una escala de color buscando tonos de intensidades posibles (Andalucía-Morales, 1994) se utilizó Ketchup Dánica en Sachet y una solución acuosa de colorante amarillo “DEKORA” al 0,3 % m/v. Se prepararon las siguientes muestras:

- 1) ketchup (10g).
- 2) Ketchup + 1,75 ml de la solución de colorante amarillo
- 3) Ketchup + 3,25 ml de la solución de colorante amarillo
- 4) Ketchup + 6,50 ml de la solución de colorante amarillo



Se colocaron 10 gr de cada muestra distribuidas en 4 placas de petri pequeñas (55mm x 15mm) previamente codificadas. Además de la evaluación sensorial del color, se midió el mismo con un colorímetro (Minolta Japón). Esto permitió verificar que las muestras son diferentes desde el punto de vista instrumental ya que el parámetro  $b^*$  y la luminosidad se incrementan con la concentración de colorante amarillo (Tabla 3.3).

**Tabla 3.3. Coordenadas cromáticas de las muestras de color.**

Muestra	$L^*$	$a^*$	$b^*$
1) ketchup (10g)	18.12	21.64	18.62
2) Ketchup + 1,75 ml	21.07	22.60	22.19
3) Ketchup + 3,25 ml	24.59	22.17	21.87
4) Ketchup + 6,50 ml	26.05	22.92	24.88

Se explicó verbalmente a cada juez en que consistía la prueba, se le entregó la correspondiente planilla y la bandeja con las 4 muestras (Planilla 3.3).

Los jueces debieron observar detenidamente cada muestra y compararla visualmente con el resto de las muestras; luego, completar la planilla adjunta (3.3).

### Planilla 3.3. Evaluación de la intensidad de color rojo

Nombre: _____ Fecha: _____					
Usted recibió 4 muestras con distintas tonalidades de color rojo.					
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ordénelas de <b>mayor a menor</b> según la <b>intensidad de color</b>.</li> <li>• Indique sus respuestas usando la clave señalada en cada recipiente.</li> <li>• No ingiera las muestras.</li> </ul>					
<b>INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS DE MAYOR A MENOR INTESIDAD</b>					
<b>Más intenso</b>	_____	_____	_____	_____	<b>Menos intenso</b>
<b>MUCHAS GRACIAS</b>					

#### 3.3.4.2.4. Prueba de evaluación de los atributos de textura

Dentro de los atributos de textura, se seleccionó evaluar untabilidad y dureza por ser los más pertinentes en la textura de mermeladas.

##### 3.3.4.2.4.1. Ensayos previos para seleccionar las muestras a utilizar

#### Reconocimiento de untabilidad

Con el fin de construir una escala de untabilidad y otra de dureza, se evaluaron 16 mermeladas comerciales de ciruela ya que su color es similar al del tomate y se encuentra una mayor variedad de marcas comerciales. Se las clasificó y separó en grupos por semejanza en el color y se evaluó su

untabilidad, consistencia (viscosidad) y dureza (en la boca) con la ayuda de cucharas descartables. A partir de este ensayo se seleccionaron 4 mermeladas para realizar el entrenamiento de los atributos de untabilidad y dureza. Las mermeladas empleadas se detallan en la Tabla 3.4.

**Tabla 3.4. Mermeladas comerciales empleadas para el entrenamiento de untabilidad y dureza**

1) Mermelada Ciruela Prodiabet ORIETA
2) Mermelada Ciruela DULCOR light Cormillot
3) Mermelada Ciruela ALCO
4) Mermelada Ciruela DULCOR

Para la realización del ensayo, cada juez recibió una bandeja con tostadas, cuchillos descartables y envases de plástico descartable con tapa, previamente codificado, cada uno conteniendo 10 gr de muestra de cada una de las muestras de mermeladas comerciales seleccionadas (Tabla 3.4).

Se explicó verbalmente a cada juez en que consistía la prueba y se entregó la correspondiente planilla (Planilla 3.4).

Los jueces debieron untar cada muestra en una tostada y evaluar si al deslizar el cuchillo sobre la tostada, la mermelada se esparcía con facilidad o presentaba alguna dificultad. Luego, debían ordenar las muestras según consideren el grado de untabilidad y registrarlo en la Planilla 3.4.

### Planilla 3.4. Reconocimiento de untabilidad

<b>Nombre:</b> _____ <b>Fecha:</b> _____					
<p style="text-align: center;">Usted recibió 4 muestras de mermeladas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tome cada muestra en el orden dado.</li> <li>• Evalúe su <b>untabilidad</b> esparciéndola sobre una tostada con el cuchillo.</li> <li>• Ordénelas de <b>mayor a menor</b> untabilidad.</li> <li>• Indique sus respuestas usando la clave señalada en cada recipiente.</li> <li>• No ingiera las muestras.</li> </ul>					
<b>INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS DE MAYOR A MENOR UNTABILIDAD</b>					
<b>Más untable</b>	_____	_____	_____	_____	<b>Menos untable</b>
<b>MUCHAS GRACIAS</b>					

### Reconocimiento de dureza

En cada cubículo se acomodó una bandeja con envases de plástico descartable con tapa, previamente codificado, cada uno conteniendo 10 gr de muestra de las mermeladas comerciales, un vaso descartable de 350 cc de capacidad con agua mineral, otro vaso descartable 1000 cc para escupir y servilletas para higienizarse. Además, los jueces recibieron dos pastillas de menta que debían comer previo a la determinación, para enmascarar el sabor de la muestra.

Se explicó verbalmente a cada juez en que consistía la prueba y se entregó la correspondiente planilla (Planilla 3.5).

Cada juez debió tomar una porción de muestra por vez con la cuchara, colocarla sobre la lengua, aplastarla contra el paladar y evaluar la primera sensación que sentía, ordenando en la planilla, los códigos según grado de dureza que percibía.

### Planilla 3.5. Reconocimiento de dureza

<b>Nombre:</b> _____ <b>Fecha:</b> _____					
Usted recibió 4 muestras de mermeladas.					
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antes de evaluar las muestras ingiera un Carmelo de menta.</li> <li>• Luego, tome cada muestra en el orden dado con una cuchara.</li> <li>• Coloque la muestra entre la lengua y el paladar.</li> <li>• Evalúe su <b>dureza</b> como la primera sensación al acercar la lengua al paladar.</li> <li>• Luego ordénelas de <b>mayor a menor</b> dureza.</li> <li>• Indique sus respuestas usando la clave señalada en cada recipiente.</li> </ul>					
<b>INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS DE MAYOR A MENOR DUREZA</b>					
<b>Más dura</b>	_____	_____	_____	_____	<b>Menos dura</b>
<b>MUCHAS GRACIAS</b>					

### **3.3.4.3. Evaluación sensorial de las distintas formulaciones**

El panel de jueces entrenados evaluó la aceptabilidad global, el dulzor, el color, la dureza y la untabilidad de las 5 formulaciones elaboradas, cuya composición de extracto de esteviósidos y de goma xántica se detalló en la Tabla 3.1.

Se utilizaron escalas hedónicas verbales balanceadas para evaluar las diferentes propiedades sensoriales (Meilgaard y col., 1987; Norma Iram 20014, 1998).

La evaluación se realizó luego de 3 días de elaboradas las mermeladas. Cada juez recibió una bandeja con las cinco formulaciones ordenadas al azar. Las mismas estaban contenidas en envases de plástico descartable con tapa, previamente codificados, cada uno conteniendo 10 gr de muestra. Las muestras se evaluaron en tres sesiones diferentes. Entre cada ensayo los panelistas tomaban un descanso de 5 minutos. Se explicó verbalmente a cada juez en que consistía la prueba y se entregó la correspondiente planilla.

Además, cada juez disponía de un vaso con agua mineral para enjuagarse la boca, otro vaso de descarte, tostadas, cuchillos, cucharas y servilletas para higienizarse.

Se utilizó el promedio de las puntuaciones sensoriales para el análisis estadístico.

#### **3.3.4.3.1. Evaluación de la aceptabilidad global**

Doce jueces entrenados evaluaron la aceptabilidad global utilizando la Prueba Afectiva de medición de grado de satisfacción con una escala hedónica de 5 puntos (1= me disgusta mucho; 5= me gusta mucho) que se muestra en la Planilla 3.6.

### Planilla 3.6. Evaluación de la aceptabilidad global

<b>Nombre:</b> _____ <b>Fecha:</b> _____					
<ul style="list-style-type: none"> <li>Pruebe las muestras de mermelada de tomate que se le presentan e indique, según la escala, su opinión sobre ellas.</li> <li>Marque con una X el renglón que corresponda a la clasificación para cada muestra.</li> <li>No ingiera las muestras.</li> <li>Enjuáguese la boca con agua después de probar cada muestra.</li> <li>Escupa en el recipiente que se le dio para tal fin.</li> </ul>					
<b>ESCALA</b>	<b>CLAVE DE LAS MUESTRAS</b>				
Me gusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____
Me gusta	_____	_____	_____	_____	_____
Ni me gusta ni me disgusta	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____
<b>Comentarios:</b> _____ _____ _____ _____					

#### 3.3.4.3.2. Evaluación del dulzor

Para la evaluación del dulzor participaron 12 jueces entrenados. Se empleó una escala hedónica de 5 puntos (1 = ausente; 5 = muy pronunciado). Los resultados debían volcarlos en la Planilla 3.7.

### Planilla 3.7. Evaluación del dulzor

**Nombre:** \_\_\_\_\_ **Fecha:** \_\_\_\_\_

- Pruebe las muestras de mermelada de tomate que se le presentan.
- Evalúe el **dulzor** de las muestras según la escala indicada.
- Marque con una X el renglón que corresponda a la clasificación para cada muestra.
- No ingiera las muestras.
- Enjuáguese la boca con agua después de probar cada muestra.
- Escupa en el recipiente que se le dio para tal fin.

ESCALA	CLAVE DE LAS MUESTRAS				
Muy pronunciado	_____	_____	_____	_____	_____
Pronunciado	_____	_____	_____	_____	_____
Normal	_____	_____	_____	_____	_____
Débil	_____	_____	_____	_____	_____
Ausente	_____	_____	_____	_____	_____

Comentarios:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### 3.3.4.3.3. Evaluación de la dureza

La dureza de las formulaciones se evaluó mediante una escala hedónica de 5 puntos (1= muy blanda; 5= muy dura), que se muestra en la Planilla 3.8. La determinación la realizó un grupo de 13 jueces entrenados, quienes, previamente, debieron degustar un caramelo de menta para evitar la influencia del gusto en la evaluación (Anzaldúa-Morales, 1994).

### Planilla 3.8. Evaluación de la dureza

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

- Antes de evaluar las muestras ingiera un Carmelo de menta.
- Tome con una cuchara cada muestra en el orden dado.
- Coloque la muestra entre la lengua y el paladar.
- Evalúe su **dureza** como la primera sensación al acercar la lengua al paladar.
- Marque con una X el renglón que corresponda a la clasificación para cada muestra.
- No ingiera las muestras.

ESCALA	CLAVE DE LAS MUESTRAS				
Muy dura	_____	_____	_____	_____	_____
Dura	_____	_____	_____	_____	_____
Ni dura ni blanda	_____	_____	_____	_____	_____
Blanda	_____	_____	_____	_____	_____
Muy blanda	_____	_____	_____	_____	_____

Comentarios:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### 3.3.4.3.4. Evaluación del color

Para la evaluación del color se empleo una escala hedónica de 5 puntos (1= muy débil; 5= muy pronunciado) tal como se describe en la Planilla 3.9.

### Planilla 3.9. Evaluación del color

Nombre: \_\_\_\_\_

- Observe las muestras de mermelada de tomate que se le presentan.
- Evalúe el **color rojo** según la escala.
- Marque con una X el renglón que corresponda a la clasificación para cada muestra.
- No ingiera las muestras.

ESCALA	CLAVE DE LAS MUESTRAS				
Muy pronunciado	_____	_____	_____	_____	_____
Pronunciado	_____	_____	_____	_____	_____
Normal	_____	_____	_____	_____	_____
Débil	_____	_____	_____	_____	_____
Muy débil	_____	_____	_____	_____	_____

Comentarios:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

—

### 3.3.4.3.4 Evaluación de la untabilidad

Para la evaluación de la untabilidad se empleó una escala hedónica de 5 puntos (1= poco untable; 3= muy untable) tal como se describe en la Planilla 3.10.

#### Planilla 3.10. Evaluación de la untabilidad

**Nombre:** \_\_\_\_\_ **Fecha:** \_\_\_\_\_

- Tome cada muestra en el orden dado.
- Evalúe su **untabilidad** esparciéndola sobre una tostada con el cuchillo.
- Indique, según la escala, su opinión sobre ellas.
- Marque con una X el renglón que corresponda a la clasificación para cada muestra.
- No ingiera las muestras.

ESCALA	CLAVE DE LAS MUESTRAS				
Muy untable	_____	_____	_____	_____	_____
Untable	_____	_____	_____	_____	_____
Poco untable	_____	_____	_____	_____	_____

Comentarios:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **3.4. Optimización de la estabilidad microbiológica de la formulación seleccionada**

La optimización de la concentración de extracto de esteviósidos y de goma xántica a través de la evaluación de las propiedades sensoriales de las 5 formulaciones permitió seleccionar una formulación, la cual fue optimizada desde el punto de vista microbiológico a través del empleo de los aceites esenciales de clavo de olor y de canela.

#### **3.4.1. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales de canela y clavo de olor**

Se evaluó la capacidad inhibitoria de los aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) frente al desarrollo de *Zygosaccharomyces bailii* y *Zygosaccharomyces rouxii*

##### **3.4.1.1. Evaluación de la capacidad inhibitoria de los antimicrobianos mediante la técnica de difusión en agar**

Una suspensión de sendas levaduras se incuba por 24 h a 25°C de forma tal de contar con un inóculo activo de la mismas. Una alícuota de 1 ml de cada inóculo se coloca sobre la superficie de placas conteniendo agar Sabouraud dextrosa. Luego, la placa se mueve para dispersar homogéneamente el inóculo y se deja secar la placa durante 45 minutos. Una vez que la placa está seca se coloca en forma aséptica sobre la superficie del agar un disco de papel de filtro estéril de 6 mm de diámetro. A los que se adiciona sobre la superficie 20 µl de cada aceite esencial. A las 24 h de incubación se mide con una regla el halo formado alrededor de cada disco.

##### **3.4.1.2. Evaluación de la mínima concentración inhibitoria de los antimicrobianos mediante la técnica de dilución en caldo**

La mínima concentración inhibitoria se calculó de acuerdo a la metodología propuesta por O'bryan y col. (2008). Se empleó la técnica de dilución en caldo, la incubación se realizó a 25°C. Para asegurar que los aceites esenciales permanezcan en suspensión se agrega al caldo 0,15% m/m de agar bacteriológico. Dado que estas suspensiones presentan cierta turbiedad que puede dificultar la evaluación del punto final, se incluye en el

medio el indicador trifeniltetrazolio que vira al rosado-rojizo cuando se produce el crecimiento de la levadura.

### 3.4.2. Optimización de los aceites esenciales de clavo y canela: ensayos de reto microbiano

Se evaluaron los niveles de los aceites esenciales de canela y de clavo, necesarios para inhibir el desarrollo de *Zygosaccharomyces bailii* y *Zygosaccharomyces rouxii* en la mermelada de tomate seleccionada. Para ello se llevaron a cabo dos ensayos de reto microbiano, en paralelo, uno con cada una de las levaduras.

Se aplicó un diseño factorial, en tres bloques, con dos variables a dos niveles ( $2^2$ ) y un punto central, realizando un total de 15 experimentos. Las variables fueron aceite de canela (AC) y aceite de clavo de olor (ACO). La composición de la formulación seleccionada para llevar a cabo este estudio así como los niveles de los aceites empleados se indican en la Tabla 3.5. La respuesta analizada fue el recuento de la población de las levaduras a un tiempo fijo del almacenamiento a 15°C.

**Tabla 3.5. Composición de la mermelada**

Ingrediente	Composición (% m/m)
Xilitol	20.0
Glucosa	3.0
Extracto de esteviósidos	0.25
Pectina de bajo metoxilo	0.60
Goma xántica	0.45
Vainillina	0.05
Cloruro de calcio	0.025
Aceite de canela	0.000-0.020-0.040
Aceite de clavo de olor	0.000-0.025-0.050

### 3.4.2.1. Metodología de trabajo

Se elaboraron dos inóculos en caldo Sabouraud, uno de *Z. rouxii* ATCC 28.253 y otro de *Z. bailii* NRRL 7256. Se incubaron a 25°C por 24 hs. Antes de ser utilizados, los inóculos se diluyeron en agua peptona (1.5% m/m) hasta alcanzar una población aproximada de  $10^6$  UFC/ml.

Se colocaron alícuotas de cada formulación en bolsas de polietileno estériles, a las cuales se les agregó un inóculo diluido logrando un nivel de  $10^3$  UFC/g. Las bolsas se almacenaron a 15°C. Con estas condiciones se simuló una contaminación post-proceso y un almacenamiento en condiciones inadecuadas de refrigeración. En el caso del ensayo con *Z. bailii*, a los 6 días de almacenamiento, se realizó el recuento en placa con agar Sabouraud, mientras que para el ensayo con *Z. rouxii*, el recuento se realizó a los 7 días de almacenamiento. Las placas se incubaron durante 5 días a 25°C.

### 3.5. Optimización sensorial de la formulación seleccionada: ensayos de aceptabilidad

Se elaboraron 4 formulaciones de la mermelada de tomate cuya composición coincide con la formulación 5 mostrada en la Tabla 3.4, pero conteniendo, además, diferentes niveles de aceite de canela: 0,000 - 0,006 - 0,011 - 0,013% m/m.

Un grupo de 47 consumidores evaluó la aceptabilidad global de las formulaciones mediante el empleo de una escala hedónica balanceada de 9 puntos (1 = me disgusta muchísimo; 9 = me gusta muchísimo) (Meilgaard y col., 1987). Cada juez recibió, por única vez, una bandeja con las 4 formulaciones ordenadas al azar, contenidas en envases plásticos codificados con diferentes números aleatorios de 3 dígitos. Además recibió 4 cucharas descartables, un vaso con agua mineral, un vaso grande para descarte y enjuague, y servilletas de papel. Cada juez debía tomar una porción de una muestra por vez con la cuchara, probar y completar la planilla (Planilla 3.11). Luego de cada degustación debía enjuagarse la boca con agua mineral.

### Planilla 3.11. Evaluación de la aceptabilidad global

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_

¿Consume mermeladas de bajas calorías? En caso afirmativo, indique la frecuencia de consumo:

\_\_\_\_\_

- Por favor, enjuague su boca antes de comenzar.
- Pruebe las mermeladas de tomate que se le presentan.
- Anote el código de cada muestra e indique su opinión GLOBAL marcando (✓) en el cuadrado correspondiente.
- Enjuáguese la boca con agua después de probar cada muestra.

Código de muestra: \_\_\_\_\_

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Me disgusta muchísimo				No me gusta ni me disgusta					Me gusta muchísimo

Código de muestra: \_\_\_\_\_

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Me disgusta muchísimo				No me gusta ni me disgusta					Me gusta muchísimo

Código de muestra: \_\_\_\_\_

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Me disgusta muchísimo				No me gusta ni me disgusta					Me gusta muchísimo

Código de muestra: \_\_\_\_\_

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Me disgusta muchísimo				No me gusta ni me disgusta					Me gusta muchísimo

Enjuague su boca al finalizar. GRACIAS!

### 3.6. Análisis de datos

La existencia de diferencias significativas entre las variables estudiadas se evaluó mediante un análisis de varianza (ANOVA) y para dilucidar las diferencias entre muestras se aplicó un test a posteriori. La creación de los diseños factoriales y el análisis de datos se realizaron mediante el empleo del

programa Statgraphics (Statgraphics Plus para Windows, versión 5.0, 2001, Manugistics, Inc., Rockville, Maryland, USA). La significatividad estadística se evaluó al nivel del 5% ( $P \leq 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Ensayos preliminares

#### 4.1.1. Evaluación de las características fisico-químicas de mermeladas comerciales

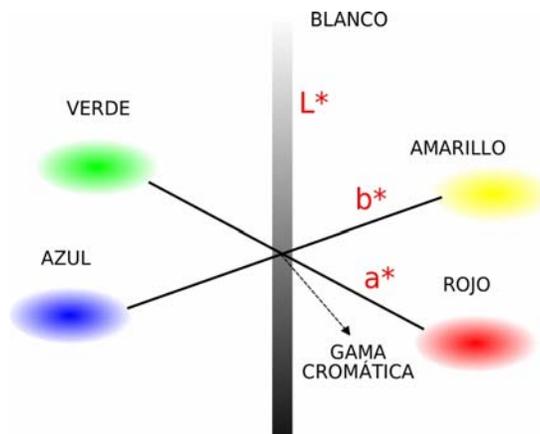
En la Tabla 4.1 se presentan los parámetros fisico-químicos evaluados en mermeladas comerciales.

**Tabla 4.1. Características fisico-químicas de las mermeladas comerciales.**

Mermelada comercial de tomate	pH	$a_w$	color		
			$L^*$	$a^*$	$b^*$
Regular	3,25	0,829	32.55	17.00	18.82
BC	3,38	0,96	39.21	11.83	22.37
Natalie	3,35	0,87	39.25	17.76	28.47

Se puede observar que las mermeladas evaluadas tienen un pH ácido entre 3,25 y 3,38. En cuanto a la  $a_w$ , las mermeladas bajas en calorías presentan un valor mayor que la regular lo que indica que los sustituyentes de sacarosa (endulzantes e hidrocoloides) no disminuyen la  $a_w$  de las mermeladas. En cuanto al color, en la Figura 4.1 se muestra un esquema de la variación de las coordenadas cromáticas. De las mermeladas analizadas, las BC y Natalie resultaron más luminosas que la regular y esto coincide con que esta última tiene menor  $a_w$ . Se obtuvieron valores similares de  $a^*$  para la regular y Natalie, y el valor de la BC está por debajo de las otras dos, lo que indica que las primeras resultaron más rojas. Con respecto al parámetro  $b^*$ , las 3 resultaron muy distintas, la regular más amarilla y la mermelada Natalie más azul, quedando BC en una zona intermedia.

**Figura 4.1. Coordenadas cromáticas**



#### **4.1.2. Ensayos de elaboración de las distintas formulaciones**

Se realizaron varios ensayos preliminares a fin de seleccionar las condiciones de trabajo y la composición más adecuada.

En un ensayo se elaboraron dos formulaciones, una con tomate perita y otra con tomate redondo. Luego de realizar una evaluación sensorial preliminar, se decidió trabajar con tomate redondo pues la mermelada resultante reunía las características de la mermelada tradicional de tomate.

En un segundo ensayo, se probó la incorporación de distintos niveles de goma xántica. En un tercer ensayo, se modificó el porcentaje de extracto de esteviosidos de 0,175 a 0,100 y 0,200% m/m (una concentración de estevia de 0,100% m/m tiene un dulzor equivalente a una solución de sacarosa al 10 % m/m).

#### **4.2. Optimización de la concentración del edulcorante y del espesante**

##### **4.2.1. Evaluación de parámetros fisico-químicos y cálculo del valor energético**

Los ácidos orgánicos presentes en los alimentos influyen en su sabor, color y estabilidad. Los valores de acidez pueden ser muy variables tanto en la materia prima como en los productos elaborados. Su determinación y registro es de gran importancia para el control de microorganismos en la producción de mermeladas. En la Tabla 4.2 se detallan los valores de pH,  $a_w$  y °Brix de las

formulaciones. Se puede observar que el pH se encuentra en el rango entre 3,41-3,47, los °Brix entre 28,5 y 30,0 y la  $a_w$  entre 0,952 y 0,954. Ello muestra que las 5 formulaciones presentaron parámetros físico-químicos similares no resultando significativas las diferencias entre ellos.

**Tabla 4.2. Parámetros físico-químicos de las distintas formulaciones.**

Formulación	pH	°Brix	$a_w$
1	3,46	28,50	0,952
2	3,47	29,60	0,950
3	3,46	30,00	0,950
4	3,43	28,50	0,954
5	3,41	30,00	0,954

En la Tabla 4.3 se muestran los promedios de las coordenadas cromáticas y de las diferencias de color de las cinco formulaciones de mermelada. Estos resultados indican que la adición de extracto de esteviósidos y/o de goma xántica disminuyó los parámetros  $L^*$  y  $a^*$ , y, consecuentemente, incrementó la diferencia de color (Formulación 2 vs. Formulaciones 1, 3, 4 y 5). El parámetro  $b^*$  no se afectó por la presencia de los aditivos.

**Tabla 4.3. Coordenadas cromáticas ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) y diferencia de color ( $\Delta E^*$ ) de las distintas formulaciones. Los valores seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ; test LSD).**

Formulación	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E^*$
1	32,17 <sup>a</sup>	16,93 <sup>c</sup>	20,12 <sup>e</sup>	4,85 <sup>f</sup>
2	35,33 <sup>b</sup>	20,26 <sup>d</sup>	21,04 <sup>e</sup>	0,00 <sup>g</sup>
3	32,03 <sup>a</sup>	18,81 <sup>c,d</sup>	21,72 <sup>e</sup>	3,89 <sup>f</sup>
4	32,84 <sup>a</sup>	17,60 <sup>c</sup>	20,80 <sup>e</sup>	3,81 <sup>f</sup>
5	32,32 <sup>a</sup>	17,95 <sup>c</sup>	19,87 <sup>e</sup>	4,02 <sup>f</sup>

Se calculó el valor energético de las mermeladas en base a la composición porcentual. Para ello, se consideró que los hidratos de carbono asimilables aportan 4 kcal/g y el xilitol 2,4 kcal/g. Por otra parte, se consideró que, de todos los componentes de las mermeladas, solamente los hidratos de carbono asimilables y el xilitol contribuían al valor calórico, siendo estos componentes constantes en las cinco formulaciones y aportando los 10 g de hidratos de carbono asimilables 40 kcal/100g y los 20 g de xilitol, 48 kcal/100g. Es decir, que 100 g de mermelada aportarían 88 kcal y la porción de 20 g, 17,6 kcal. Si comparamos este valor con el valor calórico declarado en el rótulo de una mermelada comercial de tomate (53 kcal por porción de 20 g), las mermeladas formuladas presentan un valor calórico que es 33% del de la mermelada regular, cumpliendo con los requerimientos establecidos por el CAA.

#### **4.2.2. Evaluación de la estabilidad microbiológica**

Se evaluó la flora nativa presente en las mermeladas luego del proceso de elaboración. Los microorganismos aerobios mesófilos, las bacterias ácido-lácticas, las coliformes y los hongos y levaduras dieron recuentos menores a 2 UFC/g en todas las formulaciones. Esto indica la óptima calidad microbiológica del producto elaborado.

#### **4.2.3. Evaluación de las propiedades sensoriales**

##### **4.2.3.1. Entrenamiento del panel**

Los ordenamientos obtenidos en los análisis de gusto dulce, color y textura se transformaron a valores numéricos, indicados en la Tabla 4.4, para su posterior tratamiento en un ANOVA (Anzaldúa-Morales, 1994).

##### **4.2.3.1.1. Análisis de los gustos básicos**

En la evaluación de los gustos básicos, se calculó el % de aciertos para cada juez:

$$\% \text{ de aciertos} = (\text{n}^\circ \text{ de respuestas correctas} / \text{n}^\circ \text{ de respuestas totales}) \times 100$$

Se eliminaron aquellos jueces cuyo % de aciertos fue menor al 70%. El 95% del panel pudo reconocer los gustos básicos.

El ANOVA de los datos de dulzor mostró que los jueces fueron capaces de ordenar las muestras de mayor a menor dulzor.

**Tabla 4.4**

**VALORES NUMERICOS PARA TRANSFORMACION DE DATOS ORDENADOS**

Se omiten las desviaciones medias de los números más grandes 1.º, 2.º, 3.º,... de muestras de diferentes tamaños. El cero y los valores negativos se omiten.

Tabla 1. De 2 a 10 tratamientos.

NUMERO ORDINAL	TAMAÑO DE LA MUESTRA								
	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,56	0,85	1,03	1,16	1,27	1,35	1,42	1,49	1,54
2	—	—	0,30	0,50	0,64	0,76	0,85	0,93	1,00
3	—	—	—	—	0,20	0,35	0,47	0,57	0,66
4	—	—	—	—	—	—	0,15	0,27	0,38
5	—	—	—	—	—	—	—	—	0,12

Tabla 2. De 11 a 20 tratamientos.

NUMERO ORDINAL	TAMAÑO DE LA MUESTRA									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	1,59	1,63	1,67	1,70	1,74	1,76	1,79	1,82	1,84	1,87
2	1,00	1,12	1,16	1,21	1,25	1,26	1,32	1,35	1,38	1,41
3	0,73	0,79	0,85	0,90	0,95	0,99	1,03	1,07	1,10	1,13
4	0,46	0,54	0,60	0,66	0,71	0,76	0,81	0,85	0,89	0,92
5	0,22	0,31	0,39	0,46	0,52	0,57	0,62	0,67	0,71	0,75
6	—	0,10	0,19	0,27	0,34	0,39	0,45	0,50	0,55	0,59
7	—	—	—	0,09	0,17	0,23	0,30	0,35	0,40	0,45
8	—	—	—	—	—	0,08	0,15	0,21	0,26	0,31
9	—	—	—	—	—	—	—	0,07	0,13	0,19
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,06

**4.2.3.1.2. Análisis del color**

El ANOVA de los datos transformados dio como resultado que los jueces pudieron diferenciar los colores. Además, el test de Tukey indicó que pudieron ordenar las muestras según su intensidad tal como se aprecia en la Tabla 4.5.

**Tabla 4.5. Contraste múltiple de rango para el color. Muestras codificadas según Tabla 3.3.**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Muestra	Frec.	Media	Grupos homogéneos
4	20	-0.9935	X
3	20	-0.3365	X
2	20	0.3	X
1	20	1.03	X

#### 4.2.3.1.3. Análisis de la textura

El ANOVA de los resultados de evaluación de dureza y untabilidad, mostró que los jueces encontraron diferencias entre las muestras. El posterior análisis por el test de Tukey indicó que los jueces pudieron diferenciar entre las muestras 1 y 3 (Tabla 4.6).

**Tabla 4.6. Contraste múltiple de rango para la dureza. Muestras codificadas según Tabla 3.4.**

-----			
Método:	95.0 porcentaje HSD de Tukey		
Muestra	Frec.	Media	Grupos homogéneos
-----			
2	20	-0.5815	X
1	20	-0.103	X
3	20	-0.0665	X
4	20	0.751	X

En cuanto a la untabilidad, los jueces sólo pudieron percibir unas de las muestras como diferente de las otras (muestra 4). Como se puede observar en la Tabla 4.7, las muestras 1, 2 y 3 no presentan diferencias significativas.

**Tabla 4.7. Contraste múltiple de rango para la untabilidad. Muestras codificadas según Tabla 3.4.**

-----			
Método:	95.0 porcentaje HSD de Tukey		
Muestra	Frec.	Media	Grupos homogéneos
-----			
4	20	-0.8605	X
3	20	0.1525	X
2	20	0.249	X
1	20	0.4955	X

#### 4.2.3.2. Análisis de las formulaciones ensayadas

Los resultados obtenidos en los ensayos de entrenamiento del panel, permitieron definir tanto las propiedades a evaluar como las escales que se eligieron para cada evaluación.

El diseño factorial pudo aplicarse a las evaluaciones sensoriales de las mermeladas dando como resultado modelos de regresión, cuya expresión general es la siguiente:

$$\text{Propiedad sensorial} = \text{constante (ordenada al origen)} + \alpha_1 * (\text{EE}) + \alpha_2 * (\text{GX}) + \alpha_3 * (\text{EE}) * (\text{GX})$$

donde  $\alpha_1$  es el efecto del agregado de EE;  $\alpha_2$  es el efecto del agregado de GX;  $\alpha_3$  es el efecto de la interacción de ambos agregados; (EE) es la concentración de extracto de esteviósidos y (GX) es la concentración de goma xántica. Ambas concentraciones están codificadas según se muestra en la Tabla 4.8.

Los análisis de varianza mostraron valores de  $R^2$  entre 0,80 y 0,90 indicando el buen ajuste de los datos a los modelos de regresión.

**Tabla 4.8. Concentraciones de las variables y su codificación en el diseño factorial.**

Variable	Niveles (% m/m)		
	-1	0	1
Extracto de esteviósido	0,000	0,125	0,250
Goma xántica	0,000	0,225	0,450

Con el objetivo de establecer un grupo homogéneo y representativo de jueces para cada propiedad sensorial y que no existan diferencias significativas entre ellos, se compararon los resultados de los 20 jueces entrenados a través de un ANOVA de dos factores (juez y formulación), empleándose como variable dependiente cada una de las propiedades sensoriales. Los resultados obtenidos permitieron seleccionar, como mínimo, 12 jueces para cada evaluación (Norma Iram 20005-1, 1996).

#### 4.2.3.2.1. Aceptabilidad global

Doce jueces entrenados quedaron seleccionados para evaluar la aceptabilidad global.

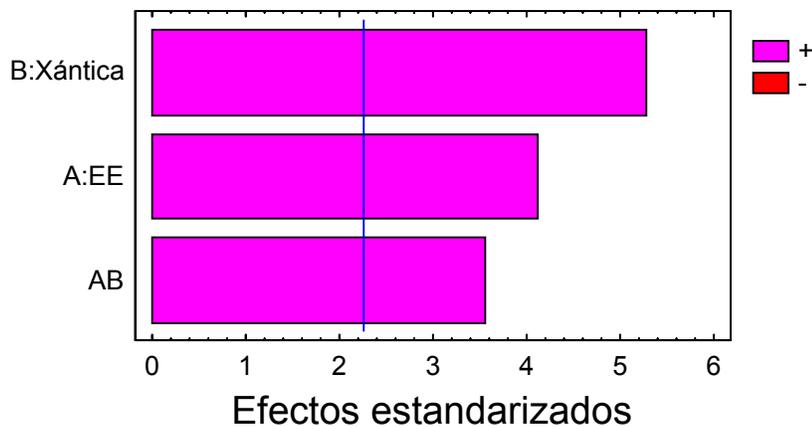
La ecuación de regresión del modelo ajustado es:

$$\text{Aceptabilidad global} = 2,872 + 0,195*(EE) + 0,25*(GX) + 0,168*(EE)*(GX)$$

En el gráfico de Pareto (Figura 4.2), se puede observar cómo cada uno de los efectos estimados y la interacción de los aditivos favorece la aceptabilidad global, pues no se aprecia ningún efecto negativo. Se puede observar también que, en grados de magnitud, es más importante el efecto de la GX y, en orden decreciente, le sigue la EE y por último la interacción entre ambas.

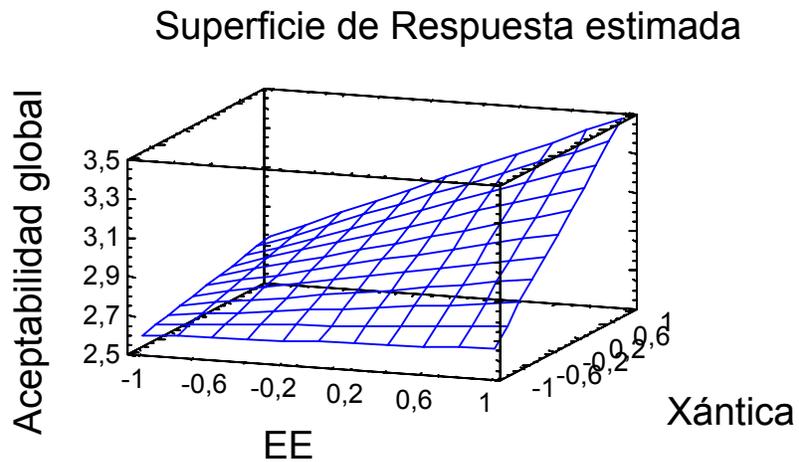
**Figura 4.2**

Gráfico de Pareto estandarizado para Aceptabilidad global



Resultados similares se pueden observar en la Figura 4.3 que muestra la superficie de respuesta estimada. La adición de EE y de GX incrementó significativamente la aceptabilidad global y se pudo apreciar que la presencia conjunta de los aditivos produce una interacción que la favorece, resultando óptima la formulación que contiene los máximos niveles de EE (0,250% m/m) y de GX (0,450% m/m) que se corresponden al máximo valor de aceptabilidad global (3,5).

Figura 4.3



#### 4.2.3.2.2. Evaluación de la dureza

Se seleccionaron 13 jueces entrenados para la determinación de la dureza. La aplicación del diseño factorial permitió obtener la siguiente ecuación de regresión:

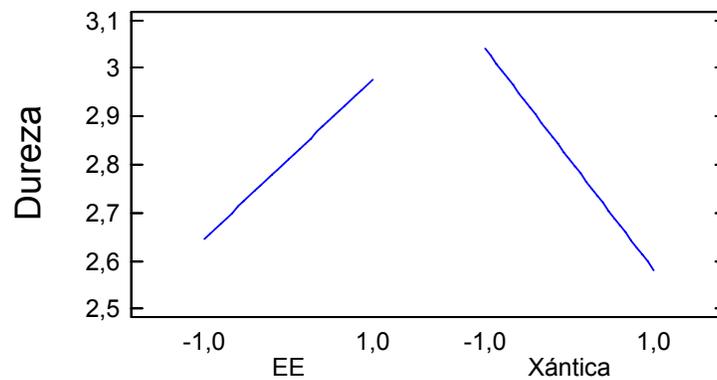
$$\text{Dureza} = 2,81 + 0,17*(EE) - 0,23*(GX) - 0,024*(EE)*(GX)$$

Se observó que a mayor concentración de EE, mayor dureza, y a mayor cantidad de GX, la dureza disminuyó. Además, no hubo interacción significativa (Tabla 4.9).

En la Figura 4.4 se ven los efectos principales de las variables de estudio. Se puede apreciar como el agregado de EE influyó significativamente aumentando la dureza y, en contraposición, la adición de GX la disminuyó significativamente.

**Tabla 4.9. Análisis de varianza para la dureza.**

	Suma de Cuadrados	Gl	C medio	F-Ratio	P-Valor
A:EE	0,330008	1	0,330008	10,14	0,0111
B:Xántica	0,630208	1	0,630208	19,36	0,0017
AB	0,00700833	1	0,00700833	0,22	0,6537
bloques	0,0339733	2	0,0169867	0,52	0,6104
Error Total	0,292975	9	0,0325528		
Total (corr.)	1,29417	14			

**Figura 4.4****Gráfico de Efectos principales para Dureza**

#### 4.2.3.2.3. Evaluación de la untabilidad

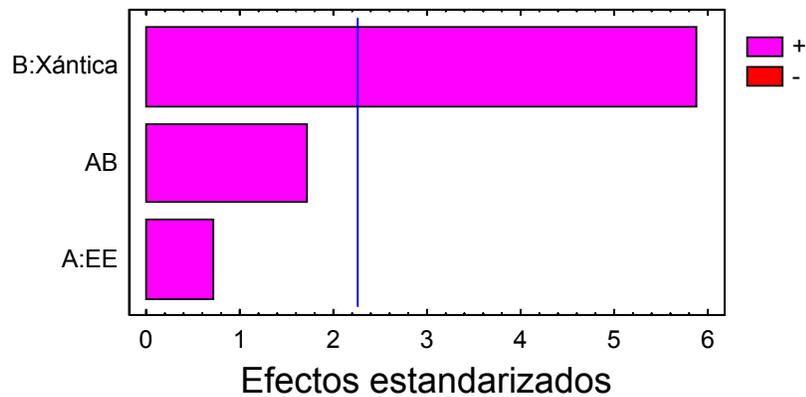
Para la evaluación sensorial de la untabilidad participaron 17 jueces entrenados. El modelo de regresión obtenido fue:

$$\text{Untabilidad} = 1,78 + 0,04*(EE) + 0,33*(GX) + 0,10*(EE)*(GX)$$

Se observó que el agregado de GX aumentó significativamente la untabilidad. Sin embargo, el agregado EE no produjo efectos significativos en la untabilidad y ni se observó interacción (Figuras 4.5 y 4.6).

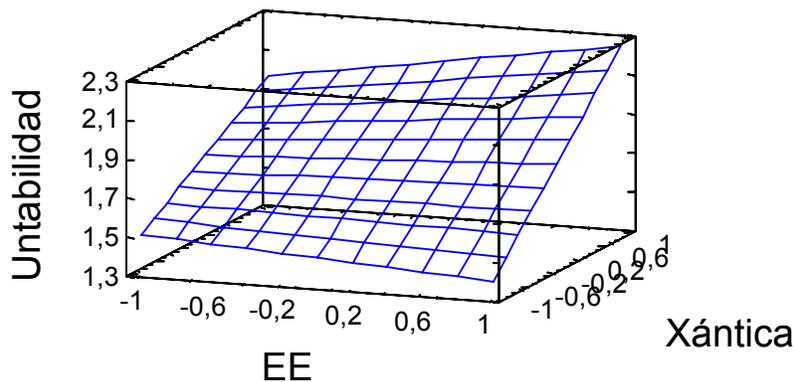
**Figura 4.5**

Gráfico de Pareto estandarizado para Untabilidad



**Figura 4.6**

Superficie de Respuesta estimada



Queda pendiente indagar el fundamento físico-químico que explique las modificaciones en la textura que se producen por incremento en la concentración de extracto de esteviósidos y goma xántica.

#### 4.2.3.2.4. Evaluación del dulzor

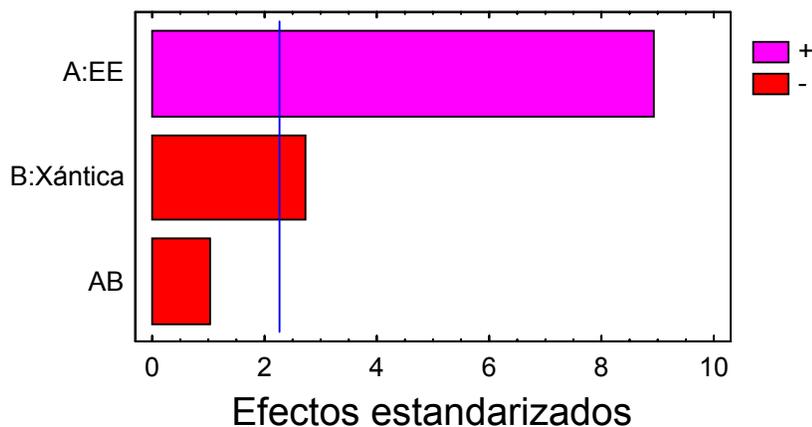
Los resultados obtenidos de 12 jueces entrenados en la evaluación sensorial sobre los efectos del dulzor, permitieron obtener la siguiente ecuación de regresión:

$$\text{Dulzor} = 2,92 + 0,44*(EE) - 0,13*(GX) - 0,05*(EE)*(GX)$$

Se observó que el agregado de la EE aumentó el dulzor y que la GX lo disminuyó de manera significativa. Esta tendencia confirmaría una vez más lo reportado en trabajos anteriores sobre los hidrocoloides; estos, por su estructura y sus propiedades de fractura al masticar, disminuyen la intensidad del dulzor de sistemas edulcorados (Gliemmo, 2005). Por otra parte, se observó que la interacción entre ambos no fue significativa a un nivel 95.0% de confianza (Figura 4.7).

**Figura 4.7**

Gráfico de Pareto estandarizado para Dulzor



#### 4.2.3.2.5. Evaluación del color

El análisis señorial del color dio como resultado que el agregado de EE y de GX incrementaron la intensidad de color rojo de las mermeladas de manera significativa (Figuras 4.8 y 4.9). Sin embargo, se observó una interacción negativa entre los aditivos. Este hecho se interpreta en la Figura 4.9, donde se observa que el incremento del color producido por el agregado de GX no se modificó por la adición de EE.

La ecuación de regresión obtenida es:

$$\text{Color} = 2,83 + 0,28*(\text{EE}) + 0,47*(\text{GX}) - 0,17*(\text{EE})*(\text{GX})$$

Figura 4.8

Gráfico de Pareto estandarizado para Color

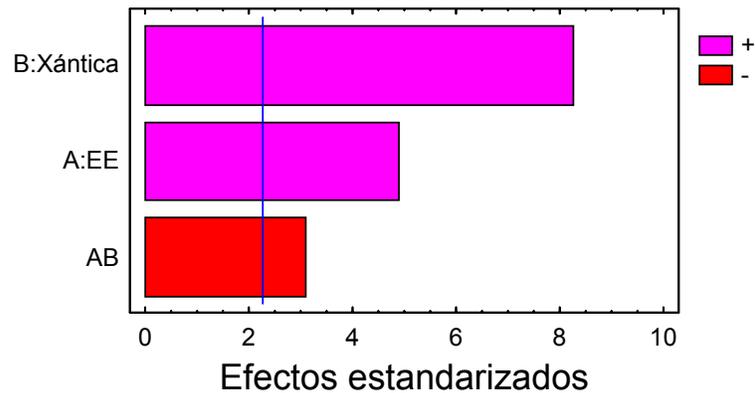
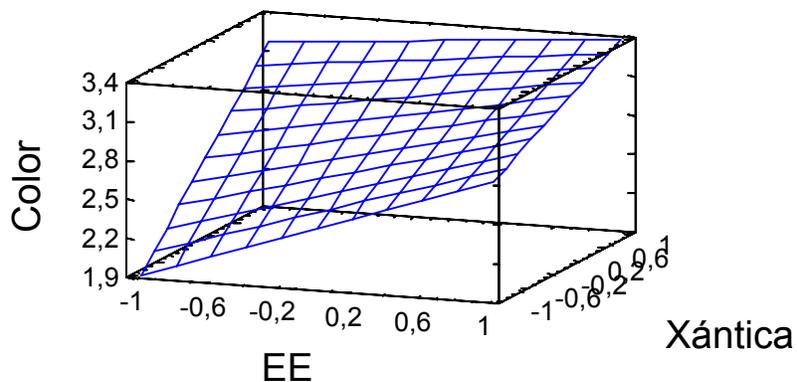


Figura 4.9

Superfície de Resposta estimada



Lo reportado en esta primera etapa, permite concluir que de las propiedades sensoriales evaluadas, la de mayor relevancia para la elección de los niveles de EE y de GX a emplear en una formulación es la aceptabilidad global. En base a ello, y utilizando la ecuación de regresión de la aceptabilidad global, se calculó que la aceptabilidad global máxima (3,5) la tendría una formulación que contenga 0,250% m/m de EE y 0,450% m/m de GX. Esta misma formulación también tendría puntuaciones máximas de color (3,4) y de untabilidad (2,3) si se maximizan los respectivos modelos de regresión.

### 4.3. Optimización de la estabilidad microbiológica de la formulación seleccionada

#### 4.3.1. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales de canela y clavo de olor

En la Tabla 4.10 se puede apreciar que el aceite esencial de clavo de y canela fueron efectivos para inhibir el crecimiento de *Z. bailii* y *Z. rouxii*., siendo el efecto del aceite de canela significativamente mayor. Esta tendencia es coincidente con lo previamente reportado en bibliografía (Matan y col., 2006; Conner y Beuchat, 1984).

**Tabla 4.10. Efecto del aceite esencial de clavo y de canela sobre el crecimiento de las levaduras.**

Diámetro del halo de inhibición (mm)		
Levadura	canela	clavo
<i>Z. bailii</i>	53,00	2,35
<i>Z. rouxii</i>	55,00	2,00

Los valores reportados corresponden al promedio de 3 determinaciones

Una vez corroborada la capacidad de ambos aceites para inhibir el desarrollo de *Z. bailii* y *Z. rouxii*, se determinaron las MIC de cada antimicrobiano, como paso previo a su inclusión en la formulación de la mermelada. En tabla 4.11 se detallan los valores obtenidos.

**Tabla 4.11. Mínimas concentraciones inhibitorias de aceite esencial de canela y de clavo frente al desarrollo de *Z. bailii* y *Z. rouxii*.**

MIC (ppm)		
Levadura	canela	clavo
<i>Z. bailii</i>	56	446
<i>Z. rouxii</i>	28	446

Los valores reportados corresponden al promedio de 3 determinaciones

Podemos observar nuevamente que el aceite esencial de canela fue el más efectivo ya que las MIC de dicho antimicrobiano son aproximadamente

diez veces menores. En cuanto al aceite de clavo, ambas levaduras mostraron igual sensibilidad. Sin embargo, *Z. rouxii* fue más sensible al aceite de canela que *Z. bailii*.

Es de destacar que hay poca información acerca de la acción antimicrobiana de los aceites de canela y de clavo de olor sobre el desarrollo de levaduras (Matan y col. 2006; Conner y Beuchat, 1984). Además, no hay estudios de su acción sobre el desarrollo de levaduras osmotolerantes.

Los resultados obtenidos en esta etapa del trabajo son promisorios acerca de la posibilidad del empleo de los aceites esenciales para controlar la posible contaminación con levaduras en las mermeladas en estudio.

#### **4.3.2. Optimización de los aceites esenciales de clavo y canela: ensayos de reto microbiano**

La aplicación del diseño factorial a los datos obtenidos dio como resultado los modelos de regresión mostrados en la Tabla 4.12. Las concentraciones de ambos aceites están codificadas según se indica en la Tabla 4.13.

**Tabla 4.12. Modelos de regresión del log de UFC/g para *Z. bailii* y *Z. rouxii* en función de las concentraciones de los aceites esenciales**

---

***Z. rouxii***

---

$$\log \text{ UFC/g} = 4,09 - 2,43*[\text{AC}] - 0,45*[\text{ACO}] + 0,45*[\text{AC}]*[\text{ACO}]$$


---

***Z. bailii***

---

$$\log \text{ UFC/g} = 3,55 - 1,25*[\text{AC}] - 0,60*[\text{ACO}] + 0,92*[\text{AC}]*[\text{ACO}]$$


---

[AC] es el nivel de aceite de canela y, [ACO], el de clavo de olor

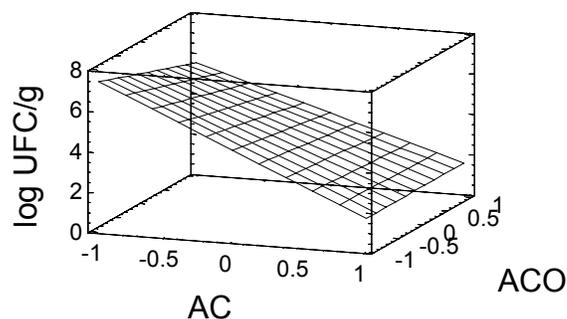
**Tabla 4.13. Concentraciones de los aceites esenciales en las mermeladas y su codificación en el diseño factorial**

Códificación		Concentración (% m/m)	
Canela	Clavo de olor	Canela	Clavo de olor
1	-1	0,040	0,000
0	0	0,020	0,025
-1	-1	0,000	0,000
-1	1	0,000	0,050
1	1	0,040	0,050

El análisis de varianza mostró valores de  $R^2$  de 0,91 y 0,90 para los modelados de *Z. rouxii* y de *Z. bailii*, respectivamente, indicando un buen ajuste de los datos a los modelos de regresión.

La presencia de AC inhibió el crecimiento de *Z. rouxii* ( $P = 0,00001$ ) mientras que el ACO no tuvo efecto significativo ( $P = 0,0763$ ). Además, no se observó interacción entre ambos antimicrobianos ( $P = 0,0763$ ). En ausencia de ACO, la adición de 0,040% m/m de AC redujo la población en 6 ciclos log, mientras que en presencia de 0,050% m/m de ACO, la reducción fue de 4 ciclos log (Figura 4.10). Por otra parte, en la mermelada que contiene el máximo nivel de AC estudiado, la adición de ACO no afectó el crecimiento de la levadura (Figura 4.10).

**Figura 4.10. Superficie de respuesta estimada para el log UFC de *Z. rouxii* /g en función del contenido de aceite de canela (AC) y de clavo de olor (ACO) a los 7 días de almacenamiento a 15°C**

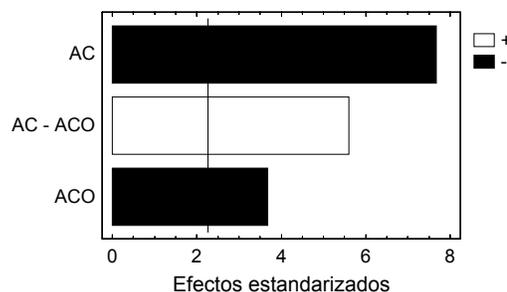


Con relación a *Z. bailii*, se observó que en ausencia de ACO, la presencia de AC redujo significativamente su desarrollo ( $P = 0,00001$ ; Fig. 4.11). En la Figura 4.12 se observa que el agregado de 0,040% m/m de AC produjo la reducción de la población en 4 ciclos log. Por otra parte, cuando sólo estuvo presente el ACO, el crecimiento de *Z. bailii* disminuyó significativamente ( $P = 0,0052$ ; Fig. 4.11). En este caso se observó una reducción de la población en 3 ciclos log debido a la presencia de 0,050% m/m de ACO (Fig. 4.12).

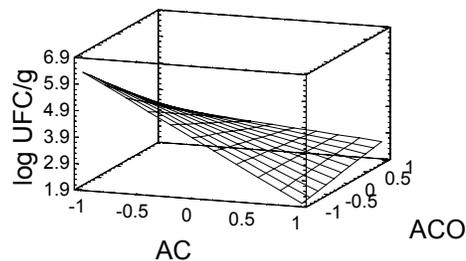
Cuando ambos aceites estuvieron presentes, se observó una interacción negativa sobre la inhibición del desarrollo de *Z. bailii* ( $P = 0,0003$ ; Fig. 4.11). Este efecto puede visualizarse en la Figura 4.12, si se observa que en presencia de 0,040% m/m de AC, la adición de 0,050% m/m de ACO incrementó el crecimiento en 0,6 ciclos log. Sin embargo, en la mermelada que contiene el máximo nivel de ACO estudiado, la adición de 0,040% m/m de AC redujo el crecimiento en 0,7 ciclos log (Fig. 4.12).

Estos resultados indicarían que el AC sería más efectivo que el ACO en inhibir el crecimiento de *Z. bailii* ya que, cuando se los utilizó de manera individual, el AC produjo mayor reducción de la población a menor concentración, mientras que, el efecto inhibitorio de AC se revirtió por el agregado de ACO.

**Figura 4.11. Gráfico de Pareto estandarizado para la evaluación del efecto de los aceites sobre el log UFC de *Z. bailii* /g. AC: aceite de canela; ACO:**



**Figura 4.12. Superficie de respuesta estimada para el log UFC de *Z. bailii* /g en función del contenido de aceite de canela (AC) y de clavo de olor (ACO) a los 6 días de almacenamiento a 15°C**



Hay mucha información acerca del efecto de aceites esenciales sobre el desarrollo de bacterias. En particular, Prabuseenivasan y col. (2006) observaron que las mínimas concentraciones inhibitorias del aceite de canela son menores que las de clavo frente al desarrollo de bacterias Gram positivas y negativas. Esto indicaría que el aceite de canela es un agente antibacterial más efectivo que el de clavo. También se reportó que mezclas de aceites de canela y de clavo pueden actuar de manera sinérgica o antagónica dependiendo de la bacteria (Goñi y col., 2009). Sin embargo, el efecto de los aceites de canela y de clavo de olor sobre el desarrollo de levaduras está poco ensayado. Conner y Beuchat (1984), en un estudio sobre la acción de diversos aceites esenciales sobre levaduras deteriorativas de alimentos, observaron que los aceites de canela y de clavo inhibieron el desarrollo de varias levaduras, entre ellas, *Saccharomyces cerevisiae*. Para esta levadura, el aceite de canela mostró mayor efectividad que el de clavo. Por otra parte, el desarrollo de *Z. rouxii* tuvo una reducción de 50 días debido a la presencia de la fase volátil generada por 2 ml de una mezcla 1:1 de AC y ACO (Matan y col., 2006).

En general, la acción antimicrobiana de los aceites esenciales se atribuye a sus componentes principales. El componente principal del aceite de canela es el cinnamaldehído, mientras que el de clavo es el eugenol (Ceylan y Fung, 2004).

El Código Alimentario Argentino (2007) establece un máximo de hongos y levaduras de  $10^4$  UFC/g para alimentos dietéticos listos para consumir. Si se

aplican las ecuaciones de regresión de los modelos (Tabla 4.12) se pueden recalcular las concentraciones de aceites necesarias para alcanzar esa población con cada una de las levaduras estudiadas. Para *Z. rouxii*, esa población se lograría en una mermelada formulada con 0,021% m/m de AC y 0,026% m/m de ACO, luego de 7 días de almacenamiento a 15°C. En el caso de *Z. bailii*, una mermelada conteniendo 0,011% m/m de AC y 0,027% m/m de ACO, alcanzaría una población de  $10^4$  UFC/g luego de 6 días de almacenamiento a 15°C.

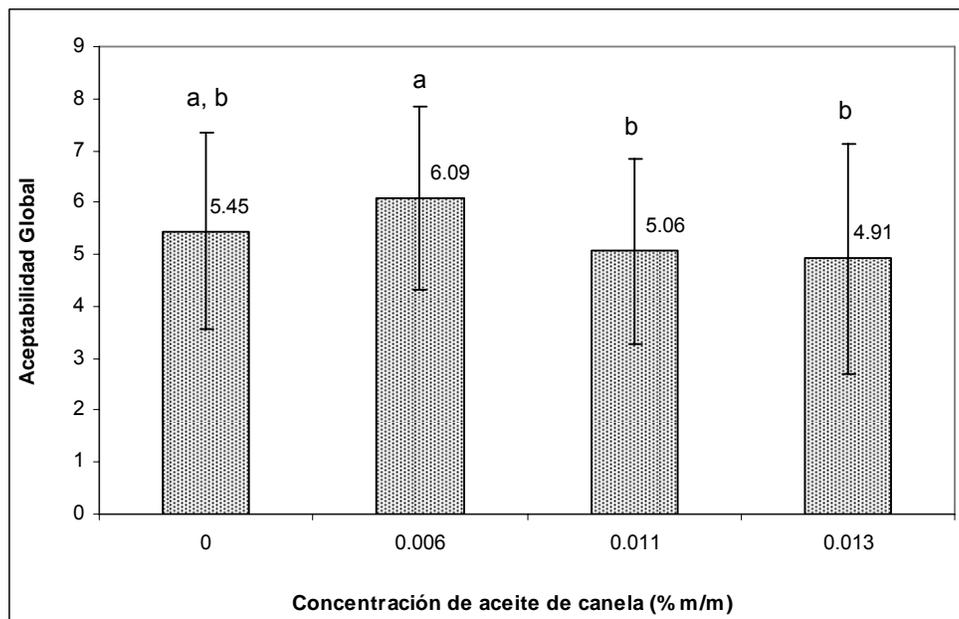
Sin embargo, estudios preliminares, no mostrados en este trabajo, indicaron que ese nivel de ACO alteraba el gusto a tomate del alimento y excedía los umbrales de aceptabilidad. Por ello, y considerando que el AC tuvo mayor influencia sobre el desarrollo de la levadura que el ACO, se recalcularon los niveles de AC necesarios para alcanzar una población de  $10^4$  UFC/g de cada levadura, en ausencia de ACO. Como resultado, se obtuvo que, para *Z. rouxii*, el nivel de AC necesario sería 0,024% m/m, mientras que para *Z. bailii*, sería 0,021% m/m. La combinación de sendos resultados conduce a que si se elabora una mermelada con 0,024% m/m de AC se obtendría una formulación con una vida útil de, al menos, 7 días, almacenada a 15°C.

#### **4.4. Optimización sensorial de la formulación seleccionada: ensayos de aceptabilidad**

Como primer paso, se elaboraron mermeladas conteniendo los niveles de aceites que resultaron óptimos desde el punto de vista del análisis microbiológico (ver sección anterior). Se realizó una degustación preliminar de las mermeladas por 6 miembros del laboratorio. Se observó que esos niveles alteraban el sabor natural a tomate de las mermeladas, haciéndolas inaceptables, siendo el aceite de clavo, el principal causante del rechazo. Estos resultados, junto con los comentados en el análisis microbiológico, hicieron que se descartara la presencia del aceite de clavo en las mermeladas. También se observó que 0,024% m/m de AC causaba un efecto negativo sobre la aceptabilidad de la mermelada, por lo tanto se seleccionaron concentraciones menores dando como resultado formulaciones conteniendo 0,000 - 0,006 - 0,011 - 0,013% m/m de AC.

El análisis de varianza mostró la existencia de diferencias significativas entre las muestras ( $p = 0,0178$ ). Se consideró como “aceptable” aquellas mermeladas con valores de aceptabilidad global superiores a 5 ya que la calificación de “No me gusta ni me disgusta” corresponde a una puntuación de 4,5. En base a este parámetro, resultaron aceptables todas las mermeladas excepto la que contenía 0,013% m/m de AC (Figura 4.13). La formulación con 0,006% m/m fue la que recibió la mayor puntuación de aceptabilidad global y no mostró diferencias significativas con la muestra sin aceite de canela (Figura 4.13).

**Figura 4.13. Aceptabilidad global promedio de las formulaciones conteniendo aceite de canela. Las barras seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes (test LSD).**



## 5. CONCLUSIONES

- Los parámetros físico-químicos (pH, °Brix y  $a_w$ ) evaluados para las distintas formulaciones mostraron valores aproximadamente constantes lo que posibilita efectuar comparaciones entre ellas.
- La evaluación de la flora nativa presente en las mermeladas luego del proceso de elaboración arrojó recuentos menores a 2 UFC/g, lo que indica la óptima calidad microbiológica del producto elaborado.
- Los resultados obtenidos en los ensayos de entrenamiento del panel mostraron que la mayor parte de los integrantes del mismo fueron capaces de discriminar los distintos atributos de las muestras a evaluar.
- Se pudieron optimizar los niveles de EE y GX, desde el punto de vista de las propiedades sensoriales, mediante la aplicación de un diseño experimental. A tal efecto podemos comentar que:
  - La untabilidad fue el atributo que más dificultades presentó para los evaluadores.
  - La adición de EE y de GX incrementó significativamente la aceptabilidad global y se pudo apreciar que la presencia conjunta de los aditivos produce una interacción que la favorece, resultando óptima la formulación que contiene los máximos niveles de EE (0,250% m/m) y de GX (0,450% m/m).
  - En cuanto a la dureza, se pudo observar que, a mayor concentración de EE, mayor dureza; y, a mayor cantidad de GX, la dureza disminuye.
  - En el caso de la untabilidad, el agregado de GX la aumentó significativamente y la adición de EE no produjo efectos significativos.
  - El agregado de la EE aumenta significativamente el dulzor y la GX lo disminuye significativamente. Esta tendencia confirma que

los hidrocoloides por su estructura y sus propiedades de fractura al masticar, disminuyen la intensidad del dulzor.

- Los aceites esenciales de clavo y de canela fueron efectivos para inhibir el crecimiento de *Z. bailii* y *Z. rouxii*, siendo el efecto del aceite de canela significativamente mayor.
- En cuanto al aceite de clavo, *Z. bailii* y *Z. rouxii* mostraron igual sensibilidad. Sin embargo, *Z. rouxii* fue más sensible al aceite de canela que *Z. bailii*.
- La aplicación de un diseño factorial mostró que sería necesario un nivel de 0,024% m/m de AC para que las levaduras alcancen  $10^4$  UFC/g luego de, al menos, 7 días de almacenamiento a 15°C. Ese nivel de población corresponde al máximo recuento de hongos y levaduras permitido por el Código Alimentario Argentino para alimentos dietéticos listos para consumir.
- El análisis sensorial de las mermeladas conteniendo aceites de canela y de clavo arrojó los siguientes resultados:
  - Los niveles de aceites microbiológicamente óptimos fueron inaceptables desde el punto de vista sensorial. El aceite de clavo de olor fue el más rechazado.
  - Las mermeladas conteniendo aceite de canela fueron aceptadas hasta un nivel de 0,011% m/m.
  - La mayor aceptabilidad la mostró una formulación con 0,006% m/m de aceite de canela.
- Cabe destacar que, en una siguiente etapa, estos resultados se validarán con el modelo de regresión de los retos microbianos. De ser necesario, se aplicarán barreras de preservación adicionales a fin de asegurar que las mermeladas sean microbiológicamente estables además de ser sensorialmente aceptables.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Abdullah, A., Cheng, T. 2001. Optimization of reduced calorie tropical mixed fruits jam. *Food Quality and Preference*, 12 (1):63-68.

Acosta, O., Viquez, F., Cubero, E. 2008. Optimization of low calorie mixed fruit jelly by response surface methodology. *Food Quality and Preference*, 19:79-85.

Alonso, J.R. 1998. *Tratado de Fitomedicina, Bases Clínicas y Farmacológicas*. Ediciones ISIS, Buenos Aires, Argentina.

Alshatwi, A.A., Al-Obaid, M.A., Al-Sedairy, S., Al-Assaf, A.H., Zhang, J.J., Lei, K.Y. 2010. Tomato powder is more protective than lycopene supplement against lipid peroxidation in rats. *Nutrition Research*, 30:66–73.

Anzaldúa-Morales, A. 1994. *Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y en la Práctica*, Editorial Acribia.

Astiasarán, I., Martínez, J.A. 2000. *Alimentos, Composición y Propiedades*. McGraw-Hill Interamericana, España.

Bedui-Dergal, S. 2006. *Química de los Alimentos*. 4ta. edición, Pearson Addison Wesley, Mejiro.

Belitz, H.D., Grosch, W. 1992. *Química de los Alimentos*. 2da Edición, Editorial Acribia, Zaragoza, España.

Be Miller, J.N., Whistler, R.L. 1996. Carbohydrates. En: *Food Chemistry* (3ª ed.). Fennema, O.R, Ed. Marcel Dekker, Nueva York. 157-223

Bullerman, L.B., Lieu, F.Y., Sally, A.S. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamaldehyde and eugenol. *Journal of Food Science*, 42:1107-1108.

Cadelas-Candillo, M.G., Alaníz-Guzmán, M.G.J., Bautista-Justo, M., Del Río-Olague, F., García Díaz, C. 2005. Contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersión. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Vol 4, 299-307.

Campos-Gutiérrez, W., Mendel Bernal, B., Hernández-Moreno, E., Ramírez-Baca, P., Chew-Madinaveitia. 2008. Evaluación de color, textura y nivel de agrado de la mermelada de guayaba baja en calorías. X Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, R G Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango. Méjico.

Ceylan, E., Fung, D.Y.C. 2004. Antimicrobial activity of spices, *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 12: 1-55.

Chang, S.S., Cook, J.M. 1983. Stability Studies of Stevioside and Rebaudioside A in Carbonated Beverages. *J. Agric. Food Chem.* 3(1):409-412.

- Clos, J.F., Dubois, G.E., Prakash, I. 2008. Photostability of Rebaudioside A and Stevioside in Beverages. *J. Agric. Food Chem.* 56:8507-8513.
- Código Alimentario Argentino. (2007). Buenos Aires, Argentina: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos.
- Conner, D. E.; Beuchat, L. R. 1984. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of Food Science*, 49:429-434.
- Contardi, C.A.; Gascon, A.D. 1999. Guía teórico-práctica de elaboración artesanal de confituras. EE A Mendoza INTA.
- CRFSFS. 2006. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol. 5.
- Dewanto, V.; Wu, X.; Adom, K.K.; Liu, R.H. 2002. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal Agric Food Chem*, 50 (10): 3010–3014.
- Diario Oficial de la Unión Europea. 2004. Directiva 2004/77/Ce de la Comisión "Productos alimenticios que contienen ácido glicirricico y su sal amónica" L 162/76
- FAO/OMS. Conferencia Regional sobre Inocuidad de los Alimentos para las Américas y el Caribe San José, Costa Rica, 6-9 de diciembre de 2005.
- FAO/OMS. 2005. Tema 9 del programa Documento de sala 18 "ESTEVIOSIDO".
- Ferri, L.A., Alves Do Prado, W., Yamada, S.S., Gazola, S., Batista, M.R., Bazzotta, R.B. 2006. Investigation of the antihypertensive effect of oral crude stevioside in patients with mild essential hypertension. *Phytother. Res.* 20(9):732-6.
- Food Lex. 2008. [www.foodlex.tranpalitu.com/tag/miraculina](http://www.foodlex.tranpalitu.com/tag/miraculina).
- Foodqualitynews.com. 2008.<http://www.foodqualitynews.com/Innovation/Stevia-sweetener-gets-US-FDA-go-ahead>.
- Gabaldón, M.J.; Montesinos, E. 2006. Dietoterapia en la diabetes tipo 1 y tipo 2. *Generalidades Av Diabetol.* 22: 255-61.
- Gajar, A.M.; Badrie, N. 2002. Processing and quality evaluation of a low calorie Christophene jam (*Sechium edule* (Jacq)) Swartz. *J of Food Science.* 67:341-346.
- Gliemmo, M.F. 2005. Estudio de las interacciones entre edulcorantes, preservadores e hidrocoloides: incidencia sobre la calidad de alimentos dietéticos Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

Gliemmo, M.F.; Campos, C.A. y Gerschenson, L.N. 2001. Interaction between potassium sorbate and aspartame in aqueous model sugar systems. *Journal of Food Science*, 66(3):428-431.

Gliemmo, M.F.; Campos, C.A.; Gerschenson, L.N. 2006. Effect of several humectants and potassium sorbate on the growth of *Zygosaccharomyces bailii* in model aqueous systems resembling low sugar products, *Journal of Food Engineering*, 77:761-770.

Gliemmo MF, Calvino AM, Tamasi O, Gerschenson L.N, Campos C.A. 2008. Interactions between aspartame, glucose and xylitol in aqueous systems containing potassium sorbate. *Food Science and Technology*, 41 (4):611-619.

Goñi, P., P. López, C. Sánchez, R. Gómez-Lus, R. Becerril, C. Nerín. 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamom and clove essential oils, *Food Chemistry*. 116:982-989.

Gregersen, S., Jeppesen, P.B., Holst, J.J., Hermansen, K. 2004. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 53(1):73-76.

Homler BE. 1984. Properties and stability of aspartame. *Food Technol*. 38(7):50.

Hutchinson, S.A., Ho, G. S., Chi, T.H. 1999. Stability and degradation of high intensity sweeteners: aspartame, alitame and sucralose. *Food Reviews International*, 15 (2), 249-261.

Hyvönen L, Koivistoinen P, Voirol F. 1982. Food technological evaluation of xylitol. Department of Food Chemistry and Technology, University of Helsinki, Finland. *Advances in food research* Vol 28, Academic Press INC USA. (ELSEVIER). ([Books.google.com.ar/books?hl=es&lr=&id=zcbIhoDyOoMC&oi=fnd&pg=PA373&dq=xylitol+food+application&ots=yL1H1mFIhh&sig=fSUMsubria9LLfdmbz1vu8](http://books.google.com.ar/books?hl=es&lr=&id=zcbIhoDyOoMC&oi=fnd&pg=PA373&dq=xylitol+food+application&ots=yL1H1mFIhh&sig=fSUMsubria9LLfdmbz1vu8)).

Internacional Sweeteners Asociation, 2011. [Http://www.sweeteners.org](http://www.sweeteners.org).

JECFA. 2008. Revisado por Wallin H para la 69ª reunión.

Kong, K.-W.; Khoo, H.-E.; Prasad, K.N.; Ismail, A.; Tan, C.-P.; Rajab, N.F. Revealing the Power of the Natural Red Pigment Lycopene. *Molecules* 2010, 15, 959-987.

Krzysztof N, Blasco G. 2010. Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Salud pública México*, vol.52, n.3, pp. 254-265. ISSN 0036-3634.

Kuc, A., Sgroppo, S.C., Avanza, J.R. 2005. Tomates triturados. Cambios físico-químicos durante el almacenamiento. *FACENA*, 21: 85-91.

Lee M. T., Chen B H. 2002. Stability of lycopene during heating and illumination in a model system. *Food Chemistry* Volume. 78(4): 425-432.

- Lewinsohn E, Sitrit Y, Bar E, Azulay Y, Ibdah M, Meir A, Yosef E, Zamir D, Tadmor Y. 2005. Not just colors, carotenoid degradation as a link between pigmentation and aroma in tomato and watermelon fruit. *Trends in Food Science & Technology*. 16:407–415.
- Lindsay R C. 1999. Food additives. Owen Fennema editor. En *Food Chemistry*. 3ª Edición, marcel Dekker, Nueva York, USA
- Longo E; Navarro ET. 1998. *Técnica Dietoterápica*. Editorial El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.
- Lovrić T, Sablek Z and Bosllonc M. 1970. Cis-trans isomerization of lycopene and clour stability of foam-mat dried tomato powder during storage. *J Sci. Food Agric*. 21: 641-647.
- Mahan L K, Escott-Stump S. 1998. *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. 9a Edición, McGraw-Hill Interamericana.
- Mandrile E L, Bongiorno De Pfirter G M y Cortella A. 1988. Endulzantes de Origen Vegetal: Taumatina, Monellina, Miraculina, Glicirricina, Estevióside y Hernandulcina. *Acta Parm. Iltiaerense*. 7(2): 117-29
- Markovic K, Hruskar M, Vahcic N. 2006. Lycopene content of tomato products and their contribution to the lycopene intake of Croatians. *Nutrition Research*. 26: 556– 560.
- Martín-Moreno JM, Gorgojo L. 2002. Licopeno y salud: a propósito del tomate y de algunas de las virtudes del gazpacho. *Journal Alimentación, Nutrición y Salud*, ISSN 1136-4815, Vol N°.1 p. 17-26, España.
- Matan, N.; Rimkeeree, H.; Mawson, A. J.; Chompreeda, P.; Haruthaithanasan, V. Parker, M. 2006. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 107:180-185
- Meilgaard, M.; Civille, G. V.; Carr, B. T. 1987. *Sensory evaluation techniques*. CRC Pres, Inc. Florida.
- Melendez-Martinez A J., Vicario I M. Y Heredia F J. 2004. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *ALAN*. 54(2):209-215.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2011. [www.alimentosargentinos.gov.ar](http://www.alimentosargentinos.gov.ar)
- Moreno-Alvarez M J, Giran N, Serrano K. Garcia D, Douglas R, Camacho B. 2003. Evaluación microbiológica y fisicoquímica de néctares pasteurizados elaborados con pulpa de tomate de árbol. *ALAN*. 53(3):282-286.
- Morón, P., Kleiman, E., Moreno, C. 2005. *Guia de rotulado para alimentos envasados*. [www.sagpya.gov.ar/alimentos](http://www.sagpya.gov.ar/alimentos).

- Nguyen, M L, Schwartz. 1998. Lycopene stability during food processing. *Proceedings of the Society for Experimental Biology*. 218(2): 101-5
- Norma Iram, 20005-1. 1996. Análisis sensorial. Guía para la selección, entrenamiento y seguimiento de los evaluadores. Parte 1 - Evaluadores seleccionados. Instituto Argentino de Normalización.
- Norma Iram 20014. 1998. Análisis sensorial. Metodología. Evaluación de productos alimenticios mediante métodos que emplean escalas. Instituto Argentino de Normalización.
- Nuez Viñals, F. 1995. El cultivo de tomate. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- O'bryan, C.A., P.G. Crandall, V.I. Chalova, S.C. Ricke. 2008. Orange Essential Oils Antimicrobial Activities against *Salmonella spp.* *Journal of Food Science*. 73(6): M264–M267.
- Ooi B.G.; Le T T B, Markuszewski B M. 2002. The effects of glucose on the yeast conversion of xylose into xylitol by *C. Guilliermondii* and *C. Tropicalis*. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 1 (3).
- Pasquel A. 2001. Gomas: Una aproximación a la industria alimentaria. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias UNAP, Iquitos-Perú v.1, nº 1, p. 1 - 8*
- Pattanaargson, S., Chuapradit, C., Srisukphonraruk, S. 2001. Aspartamo degradation in solutions at various pH conditions. *Journal of Food Science*, 66 (6), 808-809.
- Pérez-Conesa, D.; García-Alonso, J.; García-Valverde, V.; Iniesta, M.D.; Jacob, K.; Sánchez-Siles, L.M; Ros, G.; Periago, M.J. 2009. Changes in bioactive compounds and antioxidant activity during homogenization and thermal processing of tomato puree. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2):179-188.
- Periago MJ, Martínez-Valverde I, Ros G, Martínez C, López G. 2001. Propiedades químicas, biológicas y valor nutritivo del licopeno. *Anales de Veterinaria*, 17: 51-66. Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria, España.
- Plant Cell Walls. Rhamnogalacturonan II. [www.crc.uga.edu](http://www.crc.uga.edu).
- Porto-Cardoso J M, André-Bolini H M. 2008. Descriptive profile of peach nectar sweetened with sucrose and different sweeteners. *Journal of Sensory Studies* 23, 804-806.
- Prabuseenivasan, S., M. Jayakumar, S. Ignacimuthu. 2006. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. Vol. 6, doi: 10.1186/1472-6882-6-39.

- Ramirez L. 2003. Neotame. El endulzante de la nueva generación. *Enfasis Alimentaria*, 6:66-72 .
- Roa, V. y Tapia de Daza, M. S. 1991. Evaluation of water activity measurement with a dew point electronic humidity meter. *Lebensm -Wiss Technol*, **24**(3):208-213.
- Sancho J, Bota E, de Castro JJ .1999. Introducción al análisis sensorial de alimentos. Edicions Universitat, Barcelona, España.
- Sandrou, D. K., Arvanitoyannis, S. 2000. Low-fat calorie foods: Current State and perspectives. *Critical reviews in Food Science and Nutrition*, 40(5):427-447.
- Shi J, Kakuda Y, Jiang Y, Mittal GS. 2007. Stability of lycopene during food processing. *Functional Food Ingredients and Nutraceuticals*, 15:353-371.
- Studer, A., Ulrich, D. H., Suter, E. 1996. Conservación casera de frutas y hortalizas. Ed. Acribia, S. A., España.
- Takeoka G R, Dao L, Flessa S, Gillespie D M, Nguyen M L; Schwartz S J J. 2001. Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 49 (8): 3713–3717
- Torresani M E, Somoza M I. 2000. Lineamientos para el cuidado nutricional. EUDEBA, Bs. As, Argentina.
- Torres-Sepúlveda M R, Martínez de Villareal L E, Esmer C, González-Alanís R Ruiz-Herrera C, Sánchez-Peña A, Mendoza-Cruz J A, Jesús Z. Villarreal Pérez J Z. 2008. Tamiz Metabólico Neonatal por Espectrometría de Masas en Tándem. *Salud Pública Mex*, 50:3:200.
- Venegas-Córdoba I A, Yepes-Pérez MS, Ruiz Villadiego OS. 2004. Producción de xilitol a partir de Levaduras Nativas Colombianas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, VI, (3), 31-36.
- Vitale AA, Bernatene ES, Pomilio AB. 2010. Carotenoides en la quimioprevención: Licopeno. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 44 (2)195-238.
- Waliszewski KN, Blasco G, MSc. 2010. Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Salud pública de México*. 52, (3): 254-265.
- Wang R., Schroeder SA. 2000. The effect of caramel coloring on the multiple degradation pathways of aspartame. *J of Food Sci.*, 65 (7):1100-1106.
- Wilson A C. 1999. The book of marmalade. University of Pennsylvania Press, Philadelphia, Usa.
- WHO/FAO. 2003. World Health Organization Technical Report, Series 916. Report of a joint Expert Consultation: Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases.