

T
664.727
V.A.R.



Escuela Superior Politécnica del Litoral Instituto de Tecnologías

PROGRAMA DE TECNOLOGIA EN ALIMENTOS

INFORME DE PRACTICAS PROFESIONALES

Previa a la Obtención del Título de:
TECNOLOGO EN ALIMENTOS

Realizado en :
PROTAL - ESPOL

A U T O R

Germán Wilfrido Vargas Garófalo

Ing. Angela Naupay

Profesor Guía

Tcnlga. Griselda Lamota

Profesor de Segunda Revisión



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

A ñ o L e c t i v o
1999 . 2000
Guayaquil . Ecuador

2
ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

INSTITUTO DE TECNOLOGIAS

PROGRAMA DE TECNOLOGIA EN ALIMENTOS

INFORME DE PRACTICAS PROFESIONALES

**Previo a la obtención del título de Tecnólogo en
Alimentos**

Realizado en: PROTAL - ESPOL

Autor: Germán Wilfrido Vargas Garófalo

**Ing. Angela Naupay
Profesor guía**

**Tcnlga. Griselda Lamota
Profesor segunda revisión**

*Aprobado:
30.04.99
G. J. B.*

**AÑO LECTIVO
1999 - 2000**

GUAYAQUIL - ECUADOR



**BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS**

Guayaquil, 27 de Julio de 1.999.

Ing. Angela Naupay.

COORDINADORA DEL PROTAL

En su despacho.-



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

De mis consideraciones:

Saludándole cordialmente, me dirijo a Usted respetuosamente para poner a su disposición y conocimiento mi informe de **PRACTICAS PROFESIONALES**, realizadas en el proyecto "*Fortalecimiento y Capacitación de Investigadores de la Red Ripfadi – Ecuador/Área Alimentos*" dirigido por su persona, durante el tiempo comprendido entre septiembre de 1.998 a Julio del presente año.

Esperando que este informe sea de su agrado, me suscribo de Usted.

Atentamente,

Germán Vargas Garófalo



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

"Ciencia, Tecnología y Educación al servicio del País"

CERTIFICADO

Por medio de la presente certifico que el Señor **GERMAN WILFRIDO VARGAS GAROFALO**, ha realizado sus Prácticas Profesionales en el proyecto "*Fortalecimiento y Capacitación de Investigadores de la Red RIPFADI - Ecuador/Area Alimentos*" durante el período de Septiembre de 1998 a Julio de 1999.

Durante su trabajo en el proyecto se ha destacado por su buen desempeño, cumplimiento y responsabilidad en las labores encomendadas.

El señor Germán Vargas, puede dar uso al presente documento cuando estime conveniente.

Atentamente,

Ing. Angela Naupay de Yáñez
DIRECTORA DEL PROYECTO



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, porque desde el cielo es quien rige las vidas de quienes creemos en El.

De manera muy en especial a mi Madre, porque con su amor y esfuerzo me ha apoyado durante toda mi carrera.

A mi familia, quienes siempre estuvieron a mi lado dispuestos a apoyarme en los momentos que más los he necesitado.

A mis profesores y amigos, quienes desinteresadamente me brindaron sus enseñanzas para guiarme al conocimiento de la verdad.

Y a todas aquellas personas que contribuyeron directa o indirectamente en la realización de este proyecto.



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

INDICE

<i>Contenido</i>	<i>Págs.</i>
Introducción	1
Objetivos	2
Resumen	3
Detalle de las labores realizadas	4
Capítulo 1: Generalidades	
1.1. Datos generales sobre el banano	5
1.2 Valor nutritivo y composición química del banano.	5
1.3 El banano como materia prima.	7
1.4 Importancia del estudio.	7
1.5 Industrialización del banano.	8
Capítulo 2: Pardeamiento enzimático y no enzimático	
2.1. Pardeamiento enzimático.	9
2.1.1. Enzimas.	9
2.1.2. Sustratos.	10
2.1.3. Mecanismo de la reacción.	11
2.1.4. Control del pardeamiento enzimático.	13
2.2. Pardeamiento no enzimático.	17
2.2.1. Reacción de Maillard.	18
2.2.2. Oxidación del ácido ascórbico.	20
2.2.3. Control del pardeamiento no enzimático.	21
Capítulo 3: Aspectos generales sobre medida del pardeamiento	
3.1 Métodos directos.	22
3.2 Métodos indirectos.	23
3.2.1. El color como propiedad física.	23
3.2.2. Medida de color por Espectrofotometría.	28
3.2.3. Medida de color por Colorimetría.	31



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

Contenido

Págs

Capítulo 4: Materiales y Métodos.

4.1. Metodología de investigación.	33
4.2. Variables objeto de estudio.	33
4.3. Materiales.	34
4.4. Métodos.	36
4.4.1. Elaboración de harina.	36
4.4.2. Determinación de color.	37
4.4.3. Determinación de azúcares.	38
4.4.4. Establecimiento de parámetros en el proceso.	42

Capítulo 5: Resultados.

5.1. Parámetros establecido en el proceso.	43
5.2. Azúcares.	44
5.3. Color	47
Conclusiones y Recomendaciones.	49
Bibliografía.	51
Anexos.	53

INTRODUCCION

El banano es el principal producto de exportación de Ecuador, representando un 30 % del total de ingresos para el país, siendo la mayoría de este exportado como fruta fresca, lo cual hace que exista un gran porcentaje de desperdicio debido al estricto control de calidad al cual es sometida la fruta. A esto se agrega el hecho de que la sobre oferta mundial de banano ha disminuido los precios por caja del producto y ha aumentado la competitividad razón por la cual los productores se ven obligados a aumentar su calidad, aumentando por lo tanto los excedentes.

Es sorprendente que con el grado de desarrollo de la tecnología actual no se haya puesto la mirada en un proceso mediante el cual estos excedentes puedan ser aprovechados de una u otra forma, dándoles un valor agregado por ejemplo elaborando harina. Aunque si bien es cierto no se ha encontrado un mercado potencial, lo cual no es justificable porque es un producto altamente energético y nutritivo, sería necesario entonces primero hacer tomar conciencia a la gente de la calidad nutritiva de este producto para potencializar el mercado.

En el presente informe se describe brevemente el proceso de producción de harina de banano a nivel de laboratorio, centrando nuestro esfuerzo en el tratamiento antioxidante para evitar el pardeamiento del producto. Esto se debe justamente a que el color del producto juega un rol decisivo al momento de la elección por parte del consumidor por ser el primer factor de calidad percibido, algo que no ocurre por ejemplo con la textura o el sabor. A nivel tecnológico el color está relacionado con algunos factores de calidad como grado de madurez, condiciones de procesamiento, presencia de defectos e incluso nivel de alteración de un producto.



OBJETIVOS



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

OBJETIVOS GENERALES:

- Plantear variables de estudio en el proceso de elaboración de harina de banano y llegar a respuestas experimentales
- Dar una alternativa de utilización de los excedentes del banano.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Establecer parámetros óptimos en el proceso de elaboración de harina de banano como tiempo de escurrido, espesor de rodajas y relación tiempo - temperatura de deshidratación.
- Determinar el mejor tratamiento antioxidante para la prevención del pardeamiento en el procesamiento del banano para harina, combinando parámetros como tipo de antioxidante, concentración y tiempo y temperatura de inmersión
- Conocer la influencia de los diferentes tratamientos antioxidantes en el color y el contenido de azúcares de la harina de banano.

RESUMEN

El presente informe contiene la metodología del trabajo de investigación realizado, en el cual se cuantificó la influencia de los antioxidantes en el pardeamiento de la harina de banano.

Para lograr lo expuesto se trabajó con tres químicos como antioxidantes (Ácido Ascórbico, Ácido Cítrico y Metabisulfito de sodio), dos concentraciones diferentes (1 % y 0,5 %), dos temperaturas de la solución de inmersión (30 y 40 ° C) y dos tiempos de inmersión (5 y 10 minutos); dando por consiguiente 24 pruebas diferentes por réplica ya que las variables se relacionan unas con otras. Los resultados experimentales debían indicar: el mejor tratamiento antioxidante para evitar el pardeamiento de la harina de banano, el tratamiento menos indicado para este fin y el tratamiento que mayor hidrólisis cause al almidón del banano. Los antioxidantes y las concentraciones fueron escogidas en base a la bibliografía existente, mientras que las temperaturas y tiempos de inmersión son datos más prácticos que bibliográficos.

Los resultados obtenidos indican que el mejor antioxidante es el metabisulfito, siendo el ácido ascórbico no recomendando en este caso por su problema de autooxidación. El ácido cítrico por su lado, es el que mayor hidrólisis causa en el almidón del banano: sin embargo, el aumento de azúcares reductores a expensas de éste, no induce a un pardeamiento no enzimático Vía Maillard lo que fue demostrado en las medidas de color

También como parte de este estudio se establecieron algunos parámetros del proceso como espesor de las rodajas, tiempo de escurrido y relación temperatura - tiempo de deshidratación.

Todos los datos exactos de los tratamientos antioxidantes recomendados y del proceso de elaboración de harina se describen en el desarrollo de este informe



DETALLE DE LAS LABORES REALIZADAS

Durante el período de prácticas profesionales me desempeñé como asistente de investigación del proyecto “Fortalecimiento y Capacitación de Investigadores de la Red RIPFADI - Ecuador/Area Alimentos” auspiciado por FUNDACYT con una duración de un año (Agosto 1998 - Julio 1999) y en el cual tuve bajo mi responsabilidad las siguientes funciones:

- Investigación bibliográfica sobre los diferentes temas que abarca el proyecto.
- Elaboración de la harina de banano a nivel piloto siguiendo el diseño experimental planteado.
- Realización de análisis físico químicos (azúcares totales, almidón, pH, etc.) de las muestras de harina de banano en el Laboratorio de Control de Calidad.
- Establecimiento de parámetros en el proceso de producción de harina de banano.
- Investigación, modificación y establecimiento de técnicas de análisis de laboratorio (azúcares, color, etc.).
- Realización de análisis de color de las harinas tratadas con antioxidante.

En cuanto a las condiciones contractuales tuve contrato por un año, con remuneración por 40 horas semanales.

CAPITULO 1

GENERALIDADES



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

1.1. DATOS GENERALES SOBRE EL BANANO

El banano es una planta herbácea con pseudotallo que pertenece a la familia de las Musaceae. Se desarrolla preferentemente en regiones tropicales que son húmedas y cálidas. Crece por lo general hasta los 1 500 m.s.n.m. y a una temperatura de 25 a 30° C (Stover y Simmonds, 1987) con una media de 27° C. no crece a temperaturas por debajo de 15° C ni por arriba de 37,8° C. Requiere una pluviosidad de 2 000 mm anuales y una luminosidad media. Los vientos en los cultivos no deben ser mayores a 30 km. Por hora va que esto daña las hojas.

El banano es el fruto de mayor comercialización en el mundo, superado tan solo por algunos cereales como el trigo y el arroz. Los principales exportadores a nivel mundial son Ecuador, Costa Rica, Panamá, Brasil, India, Colombia, Filipinas, México, Honduras. Los principales importadores en cambio son Estados Unidos, La Comunidad Europea y Japón.

1.2 VALOR NUTRITIVO Y COMPOSICION QUIMICA DEL BANANO.

En cuanto al valor nutritivo el banano es la fruta con el menor contenido de agua, tiene abundantes carbohidratos lo que la convierten en una fruta energética de primera clase. Simmonds (1973) reporta que el banano tiene azúcares de muy fácil digestión. Von Looseck (1950) informa que el banano maduro es de muy fácil digestibilidad y asimilación, razón por la que se usa en la dieta de personas con trastornos intestinales y niños de corta edad.

El sabor y aroma son dos características muy importantes del banano maduro que lo hacen una fruta muy apetecible, según Pantastico (1979) el sabor dulce se debe al elevado contenido de azúcares simples y a la disminución del contenido de ácidos y fenoles que hay en el banano maduro y que dan sabor ácido y astringente, el olor se debe al elevado contenido de sustancias volátiles como alcohol isoamílico y la consistencia suave o licuable es por degradación de las sustancias pépticas.

El elevado valor energético (100 cal por 100g. de la fruta fresca o 300 cal por 100 g. de producto deshidratado) es similar al maíz, pero posee también un bajo contenido de fibra cruda que lo hace apta para el consumo humano (Contreras 1977). Los azúcares de la fruta madura son fácilmente asimilables, los principales son sacarosa 66%, glucosa 20% y fructosa 14 %. También la fruta contiene vitamina C, B1, B2, niacina y hierro. Posee también alto contenido de potasio, moderada de calcio y fósforo y bajo de sodio.

La composición media (en 100 gramos) del banano verde y maduro se presenta en la siguiente tabla:



Disce

	Verde	Maduro
Humedad (%)	68,7	72,9
Calorías (%)	110	96
Proteínas (%)	1,3	1,2
Extracto etéreo (%)	0,1	0,3
Carbohidratos (%)	28,7	24,6
Fibra	0,4	0,3
Ceniza	0,8	0,7
Calcio (mg)	10	13
Fósforo (mg)	45	19
Hierro (mg)	1,6	0,7
Caroteno (mg)	0,56	0,22
Tiamina (mg)	0,04	0,02
Vitamina B2 (mg)	0,02	0,02
Niacina (mg)	0,64	0,80
Ácido Ascórbico (mg)	22	28

FUENTE: Tabla de Composición Química de los Alimentos Ecuatorianos. Otra tabla se observa en el ANEXO 1

Además de lo expuesto, los bajos niveles de sodio y grasa hacen que pueda ser utilizado por personas con problemas de corazón, riñones e hipertensión arterial (Soto, 1985). También por el elevado contenido de potasio es recomendado para personas con deficiencias de este mineral. Se recomienda a niños y personas con úlceras, alergias y problemas digestivos. El contenido de proteínas es muy bajo.

El banano verde durante la maduración experimenta múltiples cambios debido al proceso de respiración, algunos de ellos han sido valorados y sirven en muchos casos para determinar con exactitud el grado de madurez, por ejemplo, el aumento de humedad de la pulpa a expensas de la humedad de la cáscara hace que cambie la relación del peso pulpa - cáscara. También los azúcares simples (reductores y no reductores) aumentan a expensas del almidón del banano verde, este incremento es proporcional 66 % de sacarosa, 20 % de glucosa y 14 % de fructosa (Palmer 1979). La hemicelulosa disminuye de 7 - 8 % en la fruta verde a 1% en la madura, la celulosa en cambio permanece constante de 1 a 2% y las pectinas solubles se elevan muy poco. Algunos cambios ocurridos se dan en la siguiente tabla:

Cambios Químicos Principales en la Maduración del Banano

Constituyente	Parte del Fruto	g / 100 g de peso fresco	
		Verde	Maduro
Azúcares Reductores	Pulpa	0,24	15,34
Azúcares no Reductores	Pulpa	0,62	2,60
Almidón	Pulpa	20,45	1,21
Acidez (Málico)	Pulpa	0,40	0,50
Ácido Ascórbico	Pulpa	0,0053	0,0111
Protopectina	Pulpa	0,53	0,22
Pectina Soluble	Pulpa	0,27	0,40
Clorofila	Cáscara	0,0103	---
Carotenos	Cáscara	0,0002	0,0003

FUENTE: Soto, 1986 (6). Otros parámetros que sirven para determinar el grado de madurez con mayor exactitud del banano se dan en el ANEXO # 2

10

En cuanto a los ácidos orgánicos, el oxálico se encuentra en mayor concentración en la fruta verde y el ácido málico en la fruta madura (Palmer 1979). El pH disminuye de 5,0 - 5,8 del fruto verde a 4,2 - 4,8 en el fruto maduro (Simmonds 1973). El Acido ascórbico aumenta de 10 a 12 mg % hasta la madurez y permanece constante hasta la pudrición.

Los cambios de color en el banano verde durante la maduración se deben a la pérdida de la clorofila por la clorofilasa, lo cual hace que los carotenoides y xantófilas que siempre han estado presentes, se noten.

El banano verde posee además sustancia fenólicas responsables de la astringencia y los taninos son los principales. Este compuesto es el causante del pardeamiento del látex del banano, sin embargo los taninos durante la maduración se secan junto con el látex, se endurecen y tienden a separarse del fruto (pulpa). Por esta razón disminuye la concentración de taninos en 20% con respecto a la concentración original y es de 3 a 5 veces más abundantes en la cáscara que en la pulpa lo que libra al fruto del sabor astringente (Palmer 1979).

1.3 EL BANANO COMO MATERIA PRIMA.

El banano utilizado en este proyecto para la elaboración de harina es de la especie *Musa cavendish* que es la variedad más ampliamente cultivada para exportación en todo el mundo (Soto 1985). El estado fisiológico en el que debe encontrarse para el proceso de elaboración de harina es con un grado de madurez de 1 en la escala Von Looseck, es decir completamente verde. En algunos casos se indica que el banano para harina no debe tener más de 24 horas de haber sido cortado (CENDES 1979) sin embargo se ha visto que no existe mayor influencia de este particular en la calidad de la harina. Un aspecto que también se recomienda al momento de seleccionar la materia prima es que estos deben ser de tamaño medio o grande, no pequeños debido a que estos tienen una coloración diferente (más amarillenta) que los bananos del resto del racimo, dando como resultado una desigualdad en la coloración del producto final (Soto 1985).

INFORME 1.4 IMPORTANCIA DEL ESTUDIO.

La importancia de este estudio radica en el hecho de que se estudia la influencia de los antioxidantes sobre una característica sensorial tan importante como es el color, considerado como el primer factor de calidad debido a que se percibe en primera instancia: o sea, mucho antes que otras características como el sabor, el olor, la textura, etc. Esta primera percepción es la que tiene el comprador al momento que va al supermercado y tiene en cuenta principalmente su aspecto y el color.

El color tiene relación con otros factores de calidad importantes desde el punto de vista tecnológico; ya que, puede indicar el grado de madurez de un alimento, la textura su sabor, el valor nutritivo, las condiciones de procesamiento, la presencia de defectos e incluso el grado de alteración de un producto. Por todo esto el color es fundamental entre las características sensoriales, pudiendo ser utilizado como un indicador de las transformaciones ocurridas en el procesamiento de alimentos.

- En la harina de banano el color indica el grado de oscurecimiento u oxidación sufrida en la fruta durante el procesamiento. Dicha oxidación ocurre debido a fenómenos de pardeamiento enzimático y tal vez a uno no enzimático, lo cual será detallado ampliamente en el capítulo 2.
- El problema de pardeamiento en el banano durante la elaboración de harina es justamente el cambio hacia un color desagradable, lo cual afecta las características sensoriales del producto, haciendo que este tenga menor preferencia en el mercado e incluso un costo más bajo. En cuanto a las alteraciones en composición química y valor nutritivo, el primero puede darse por vía enzimática y no enzimática, el segundo en cambio ocurre principalmente por vía no enzimática, por ejemplo Vía Maillard disminuye la biodisponibilidad de algunos aminoácidos como Lys (2); sin embargo, ninguna de estas alteraciones son de relevancia si se compara con el cambio de color desagradable en la harina.

1.5 INDUSTRIALIZACIÓN DEL BANANO.

Durante mucho tiempo el banano ha sido la fruta con mayor volumen de venta a nivel mundial consumiéndose principalmente en forma fresca y tan solo una pequeña parte ha sido destinada para la industrialización a través de diferentes productos. Esto se debe, principalmente, al hecho de que la fruta está disponible en el mercado prácticamente todo el año, gracias a las nuevas y cada vez mejores técnicas de mercadeo (3); por lo tanto, no existe la necesidad de conservar la fruta a través de algún proceso, como ocurre con frutas estacionales que abundan en ciertas épocas y hay escasez en otras, por ejemplo los tomates. (En nuestro país existe la necesidad de industrializar el banano debido al alto porcentaje de rechazo que se genera producto de los estrictos controles que hay en la fruta para exportación, dicho excedente se estima alrededor del 30%.)

Según P. Solé (1996) el comercio de bananos procesados a nivel mundial fue estimado entre 50.000 y 60.000 toneladas métricas en 1993 y de esto la mitad corresponde a EE.UU. El mismo autor presenta un cuadro de la cantidad de productos de banano procesado importados por EE.UU. en diferentes años (ANEXO 3). Estas cifras demuestran la insignificancia que representan los productos de banano tanto en volumen de venta como en ingresos si se compara con la fruta fresca, la cual fue estimada en una producción de 50 millones de toneladas métricas para 1994 (4).

Son numerosas las alternativas de industrialización del banano, sin embargo en el mercado local solo se pueden encontrar algunos productos, por ejemplo la harina de banano para consumo animal y humano. Esta última se está utilizando actualmente en la elaboración de galletas y pan sustituyendo a la harina de trigo en cierto porcentaje, y tan solo una pequeña parte se destina al consumo humano directo como harina. Otro producto comercializado es "Chips" de banano. En todo caso la calidad de estos productos no dejan una buena impresión y es quizá la causa principal del bajo volumen de venta. También algunas empresas como Tropifrutas y Trobana elaboran productos de banano como puré, flake, harina, destinados a exportación.

Algunos productos industrializados de banano se pueden encontrar en las referencias 3, 5, 6, 7 y 8.

CAPITULO # 2

PARDEAMIENTO ENZIMATICO Y NO ENZIMATICO

En el procesamiento de los alimentos existen de manera general dos tipos de oscurecimiento que afectan en forma positiva o negativa a la calidad de los productos. El primer tipo es un pardeamiento en el cual intervienen enzimas y el segundo tipo son reacciones netamente químicas. En ambos casos se requieren condiciones especiales que se describen a continuación.

2.1. PARDEAMIENTO ENZIMATICO.

Este tipo de pardeamiento ocurre en frutas y vegetales como manzanas, bananos, duraznos, peras, melones, papas, té; etc.; cuando sus tejidos son expuestos al oxígeno del aire como ocurre en el pelado, corte, trituración y por diversas condiciones desfavorables como golpes y daños mecánicos; esto da como resultado una coloración café indeseable en la mayoría de los casos, excepto en otros como en la fermentación del té y del cacao.

Para que se lleve a cabo la reacción se requieren tres condiciones básicas.

- 1) Presencia de la enzima (fenolasa).
- 2) Presencia de un sustrato polifenólico adecuado.
- 3) Oxígeno.

Si no está presente cualquiera de estos elementos, la reacción no se lleva a cabo.

2.1.1. ENZIMAS.

La enzima que cataliza la reacción se llama fenolasa o polifenoloxidasas (o-difenol: oxígeno oxidoreductasa, EC. 1.10.3.1.); sin embargo, este es un término genérico que abarca un grupo amplio de enzimas como son: fenoloxidasas, cresolasas, dopaoxidasas, catecolasas, tirosinasas, oxidasas de las papas, oxidasas de las camotes, complejo de la fenolasa, etc.

En el caso del banano la enzima responsable de la reacción es la dopaoxidasas la cual se encuentra en estado insoluble y está activa de esta forma, tiene actividad solo sobre los o-difenoles y no sobre los monofenoles hidroxilados (9).

La fenolasa tiene un peso molecular de 128.000 y posee cobre en su estructura en un 0,2%, cantidad que corresponde a 4 moléculas de cobre por molécula de enzima. En preparaciones frescas de la enzima, el cobre está en su forma cuprosa, pero durante el envejecimiento gradualmente cambia a su forma cúprica, sin que pierda su actividad. Es justamente por la presencia de cobre en la enzima, que este metal actúa como catalizador de la reacción; por lo cual, debe evitarse materiales de cobre en el procesamiento de alimentos susceptibles al pardeamiento.

De igual manera, sustancias que secuestren el cobre, evitan el pardeamiento ya que, la apoenzima; o sea, la enzima libre del metal es inactiva, sin embargo puede reestablecerse añadiendo cobre en forma cúprica.

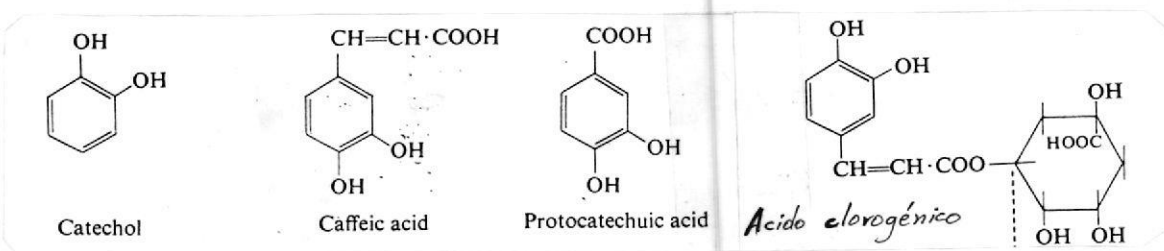
La fenolasa está ampliamente distribuida en plantas y animales. Entre las plantas, tanto frutas como vegetales, tenemos al banano, mango, col, cítricos, ciruelas, duraznos, peras, manzanas, aguacates, camotes, papas, melón, berenjenas, té, zanahoria y otros. Su pH óptimo es cercano a la neutralidad; (de 6 a 7) y no actúa a pH por debajo de 3. La temperatura óptima es 43°C y es muy sensible al calor como la mayoría de las enzimas, 60°C por un corto periodo la inactiva irreversiblemente. La agitación vigorosa también inactiva la enzima. En general las soluciones concentradas son más estables que las diluidas.

La función de la enzima en el pardeamiento de frutas y vegetales es la de oxidar los sustratos polifenólicos, actuando en forma casi simultánea, la cresolasa como oxígeno transferasa cataliza la transferencia de oxígeno al sustrato (monofenol); mientras que como fenolasa o catecolasa, siendo una deshidrogenasa, elimina el hidrógeno del sustrato (difenol). Por otro lado, en los tejidos vivos su función no es muy bien conocida; pero hay evidencias que sugieren que participa como una oxidorreductasa terminal de la respiración (James 1953), ya que se ha encontrado en las mitocondrias de ciertas plantas.

2.1.2. SUSTRATOS.

Los sustratos de la fenolasa son los compuestos orto-difenoles y los monofenoles, ya que la enzima puede actuar como polifenoloxidasas oxidando los o-difenoles y como cresolasa hidroxilando los monofenoles a dihidroxifenoles. Sin embargo la enzima no cataliza ambos tipos de reacciones en todos los alimentos; ya que por ejemplo, la hidroxilación de los monofenoles se ha demostrado en papas y hongos pero no en el té y tabaco. En todo caso, la oxidación de los o-difenoles está más ampliamente distribuida y ocurre a una mayor velocidad que la hidroxilación de los monofenoles, debido a que al parecer su configuración química es la más adecuada (10).

De manera específica los sustratos fenólicos incluyen: el ácido clorogénico, el 3,4 dihidroxifenilalanina (DOPA), 3,4 dihidroxifeniletilamina, adrenalina, fenilalanina, ácido cafeico, ácido gálico, catecol, etc. Algunos son mostrados a continuación.

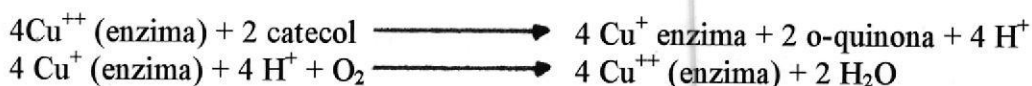


El ácido clorogénico y sus derivados son sustancias ampliamente distribuidos en las verduras y frutas; y son los principales sustratos para el pardeamiento de frutas que pasaron su punto óptimo de maduración (14).

También hay pigmentos que son fenoles muy comunes en los alimentos como los flavonoides y los taninos (catequinas y leucoantocianinas). Estos últimos son pigmentos del banano y son los responsables de su astringencia en la fruta verde. Los taninos en general son polifenoles con un peso molecular de 500 a 3000 y su principal componente es la leucoantocianina. En todo caso, el principal sustrato del banano es el 3,4-dihidroxifeniletilamina que es un fenol nitrogenado. Además el banano contiene un sustrato fenólico que es la dopamina o DOPA, un derivado del aminoácido tirosina, Weaver y Charley (1974) estudiaron el contenido de ácido ascórbico y dopamina en relación con el pardeamiento del banano maduro, y encontraron que no hay un cambio significativo en la actividad de la fenolasa durante la maduración(16). Lo que si se ha demostrado es que las etapas de madurez influyen en la velocidad de pardeamiento del banano, así, cuando la fruta esta amarilla, con puntas verdes en los extremos, es menos susceptible al oscurecimiento porque hay un elevado contenido de ácido ascórbico y contrarresta la oxidación de la dopamina que también está elevada(15). Otros fenoles del banano son la serotonina, norepinefrina y la irina, todas ellas aminas, de las cuales no existe referencia de que participen como sustratos en el pardeamiento (6).

2.1.3. MECANISMOS DE LA REACCIÓN.

OXIDACION DE LOS POLIFENOLES A O-QUINONAS.- El mecanismo de acción de la fenolasa es complicado. Dado que el producto prostético de la enzima es el cobre, se ha postulado que la actividad catalítica se basa en cambio de valencia de cúprico a cuproso. Estos cambios se resumen a continuación (11):



Se observa que el sustrato se oxida perdiendo dos electrones y dos protones. Los electrones son fijados por el cobre de la enzima que pasa al estado cuproso. Luego, la enzima cuprosa transfiere rápidamente los dos electrones al oxígeno que forma agua cuando dos protones que se liberan y la enzima regresa al estado cúprico, lista para volver a empezar el ciclo catalítico .

OXIDACION DE LOS MONOFENOLES.- El segundo tipo de reacción catalizada por la fenolasa es la hidroxilación de los monofenoles a o dihidroxifenoles. El mecanismo de la reacción tiene características inusuales, pero no hay duda de que es la misma enzima responsable de la oxidación de los o-difenoles.

La oxidación de los monofenoles está precedida por un período de inducción relativamente largo y aumenta con el grado de purificación de la enzima. Por lo general este período de inducción en una reacción enzimática dura una fracción de segundo, pero en este caso puede tardar varios minutos. Dicho período de inducción puede reducirse o eliminarse agregando una pequeña cantidad de o-dihidroxifenol (como activador) y la velocidad de oxidación se aumenta linealmente.

La fenolasa oxida a los o-dihidroxifenoles mucho más rápido que a los monohidroxifenoles correspondientes, sin embargo, siempre está presente una pequeña cantidad de o-difenol durante la oxidación de los monofenoles.



Para explicar estas características bastante raras de la reacción se han propuesto dos hipótesis: la primera se llama hipótesis directa o enzimática y plantea que la enzima, luego de la eliminación del período de inducción, es la responsable de la hidroxilación del monofenol. La segunda es la hipótesis indirecta o no enzimática y sostiene que la o-quinona producida en la oxidación de los o-difenoles, es la responsable de la reacción de hidroxilación. La forma exacta como ocurre la reacción real no es conocida y aún es objeto de estudio. Pero, los monofenoles se oxidan a los o-difenoles correspondientes que pueden ser oxidados y dar color pardo.

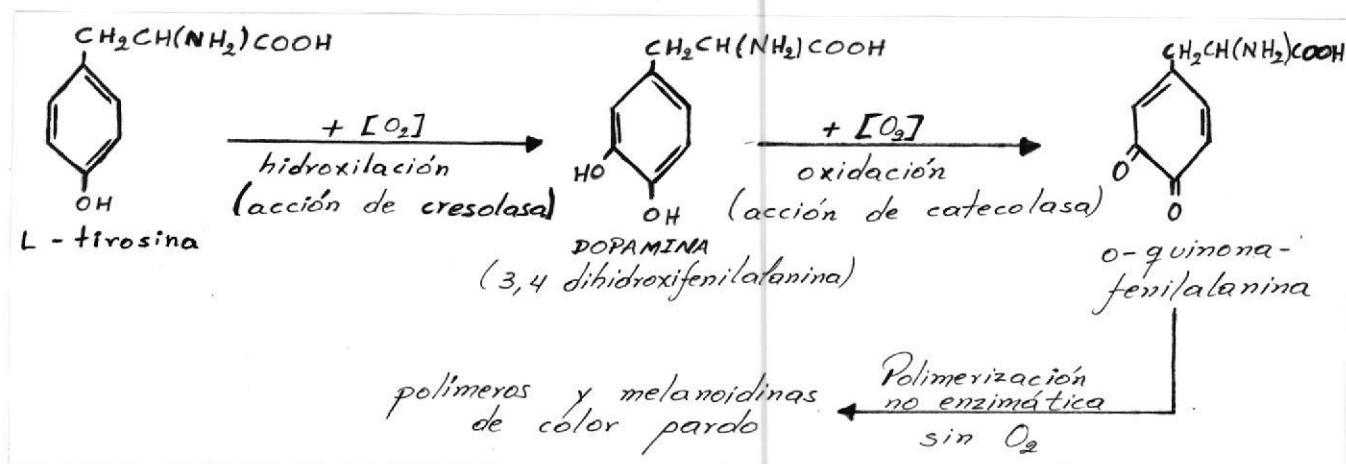
REACCIÓN DE LAS O-QUINONAS.- Hasta la formación de las o-quinonas la reacción de oscurecimiento es oxígeno y enzima dependientes; pero, en adelante estos compuestos reaccionarán espontáneamente y sin presencia de oxígeno hasta dar colores pardos. Las o-quinonas solas poseen poco color, incluso son incoloras; sin embargo, estos compuestos son altamente reactivos y al reaccionar entre sí pueden generar colores oscuros.

La reacción principal de las o-quinonas en el pardeamiento es la que da lugar a la formación de la hidroxiquinona inestable, éstas se polimerizan rápidamente y se oxidan con facilidad hasta formar un polímero de color café oscuro ligeramente soluble aunque algunos autores sugieren que es completamente insoluble.

Las quinonas también pueden reaccionar con las aminas simples como la anilina y con aminoácidos como la glicina. Esta última reacción es la responsable de la desaminación de la glicina con la consecuente formación de pigmentos de color intenso. También algunos compuestos sulfhidrilos reaccionan rápidamente con las o-quinonas formadas a partir de los o-difenoles y forman pigmentos característicos.

Como las proteínas tienen grupos amino y sulfhidrilos, éstas pueden reaccionar con rapidez con las o-quinonas y formar pigmentos insolubles de color oscuro. Esta reacción es la causa de la dificultad del aislamiento de la fenolasa de los alimentos, además es probable que también sea responsable de la reacción de inactivación de la fenolasa.

A continuación se presenta la reacción completa de pardeamiento enzimático, siendo el sustrato la tirosina:



2.1.4. CONTROL DEL PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO.

Debido a que generalmente esta reacción de descomposición afecta negativamente a la calidad de los alimentos, por el desarrollo de color desagradable, especialmente en frutas y vegetales como el banano, se han planteado varias formas de control de este fenómeno. La selección de cualquiera de ellos depende de las condiciones de proceso, tipo de alimento, si se forman sabores y olores indeseables, toxicidad y costo.

Sabiendo que la reacción ocurre solo en presencia de enzima, sustrato y oxígeno, es de esperarse que al eliminar o aislar cualquiera de estos elementos, la reacción no prosiga y se evite el oscurecimiento. Todos los métodos de control se basan en aislar dichos factores.

De manera general los métodos de control del pardeamiento se pueden agrupar de la siguiente forma:

- 1) Inactivación de la enzima por calor.
- 2) Minimizar el contacto con oxígeno.
- 3) Empleo de antioxidantes y otros químicos.
- 4) Modificación de sustratos.

INACTIVACIÓN DE LA ENZIMA POR CALOR.- Como toda enzima es una proteína, al ser sometidas al calor se desnaturalizan, la fenolasa al ser calentada pierde su configuración estructural y por lo tanto su actividad fisiológica.

Esta inactivación se puede realizar mediante un blanqueo o blanching, o sea un tratamiento térmico a una alta temperatura por corto tiempo. Este proceso es ampliamente usado en vegetales ya que éstos se consumen cocidos y no hay problemas de palatabilidad, sin embargo en las frutas puede traer efectos negativos como el sabor o cocido, olores indeseables y un reblandecimiento de la textura; de ahí nace la importancia de establecer una relación tiempo temperatura óptimo. La enzima es muy lábil frente al calor, ya que un calentamiento a 85°C o más por pocos segundos puede inactivarla de manera irreversible, en general mientras más elevada la temperatura menor es el tiempo del tratamiento, no siendo necesario alcanzar temperaturas de 100°C para lograr una inactivación completa. Hay que considerar también la utilización del producto final, ya que se puede usar el escaldado si las frutas se usan en la elaboración de purés y jugos.

El método más empleado para realizar el escaldado es por vapor ya que es más efectivo por el corto tiempo de exposición del alimento; de igual manera se usa una inmersión en agua caliente. Cabe mencionar que el blanqueo debe inactivar por completo las enzimas, caso contrario, puede acelerarse el pardeamiento ya que el calor destruye las células y aumenta el contacto entre la enzima y el sustrato. Además debido a la baja conductividad térmica de los alimentos, que hace que el calentamiento sea lento, se ha sugerido el uso de microondas para suministrar calor con mayor rapidez.

MINIMIZAR EL CONTACTO CON OXIGENO.- Este método por lo general es usado en combinación con otros métodos, ya que como la enzima está presente, apenas exista oxígeno en el medio, la reacción se llevará a cabo; además las frutas contienen oxígeno en el interior de sus tejidos que no puede ser eliminado fácilmente y ayudan a la reacción.

En el caso del banano, durante el procesamiento para la obtención de harina, se evita el contacto con el oxígeno del aire, al sumergirse las rebanadas en una tina de agua natural, antes del tratamiento antioxidante. Este método también es usado en el caso del procesamiento de papas para fritura.

Una de las desventajas de este método es que al eliminar el oxígeno del interior de algunas frutas, las condiciones de anaerobiosis causan producción de metabolitos anormales y la descomposición eventual de los tejidos.

EMPLEO DE ANTIOXIDANTES Y OTROS QUIMICOS.- Dentro del grupo de los antioxidantes tenemos el ácido ascórbico y el dióxido de azufre y sus derivados. Además existen químicos como el ácido cítrico que crea condiciones desfavorables para la enzima; y algunos inhibidores.

ÁCIDO ASCÓRBICO.- El ácido ascórbico y su isómero el ácido isoascórbico debido a su alto poder reductor, evitan el pardeamiento reduciendo las o-quinonas formadas por acción de la fenolasa a sus respectivos o-difenoles, evitando de esta manera que se polimericen y den colores pardos. Esta reacción ocurre mientras exista ácido ascórbico residual, pero una vez agotado el mismo, las quinonas se polimerizan, con el subsecuente pardeamiento. Además disminuye el pH por debajo del valor óptimo para la reacción, lo que también retarda el pardeamiento.

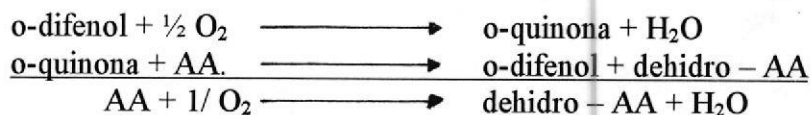
El uso del ácido ascórbico tiene algunas ventajas, entre ellas:

- Se puede usar libremente (sin restricciones) en frutas y vegetales ya que es una vitamina.
- No da problemas de malos olores o sabores a los productos.
- No es corrosivo con los metales.

Sin embargo su uso posee ciertas desventajas como:

- Se descompone rápidamente en presencia del oxígeno.
- Se puede oxidar por altas temperaturas (mayores a 60°C).
- Su costo es elevado.

La forma de acción del ácido ascórbico puede ser esquematizado de la siguiente forma (Kertezs y Zito 1962).



El ácido ascórbico debe ser añadido antes de que ocurre el pardeamiento, o sea la polimerización de las quinonas, ya que a este nivel es completamente inefectivo.

El alimento debe ser tratado con una adecuada cantidad de ácido ascórbico para retardar el pardeamiento, así una gran cantidad de este debe ser agregado; sin embargo, la posibilidad de que con la autooxidación de como resultado una coloración oscura desagradable es el factor limitante en su uso. Además el alimento no debe contener grandes cantidades de oxígeno en sus tejidos ya que también acelera la autooxidación del ácido ascórbico.

Por lo tanto se debe tener en cuenta que algunas frutas y vegetales tienen actividad de la enzima polifenol oxidasa que también contribuye a la oxidación del ácido ascórbico. (1961) encontró que el ácido ascórbico adicionado en una cantidad de 300 mg de fruta evita el pardeamiento en manzanas.

Para efectos de este estudio se utilizaron concentraciones de ácido ascórbico de 0,5% y 1%, en ambos casos se desarrolló una coloración rosada indeseable en el banano durante la deshidratación, la explicación sobre este fenómeno se aborda más adelante.

DIOXIDO DE AZUFRE Y SULFITOS.- Existen varios compuestos como el SO_2 , sulfato de sodio, metabisulfito de sodio, bisulfito de sodio; todos ellos son potentes inhibidores de la polifenol oxidasa. Se usan ampliamente en la industria por ejemplo en el secado de frutas, en la elaboración de papas pre-peladas y fritas, en el procesamiento de banano, manzanas y duraznos. Su uso tiene ciertas ventajas como:

- Es un potente inhibidor de la fenolasa, la cual no se regenera luego de que se elimina el exceso de SO_2 .
- Es muy barato.
- Tiene propiedades antisépticas.
- Evita la pérdida de vitamina C.
- Puede ser usado cuando el calor no se puede aplicar por cambios en la textura y flavor indeseables.

Pero también tiene sus desventajas:

- Afecta negativamente a las características organolépticas del producto: olor y sabor desagradables si se utiliza concentraciones elevadas.
- Puede ser tóxico en altas concentraciones.
- Puede dañar el color natural del alimento, ya que destruye algunos pigmentos.
- Es corrosivo con las latas.
- Destruye la vitamina B1.

Su efectividad y bajo costo hacen que siga siendo ampliamente usado en la industria alimenticia.

Se puede utilizar el SO_2 en forma gaseosa o una solución de algún sulfito. En forma gaseosa penetra rápidamente en los tejidos, pero en solución es más manipulable. En el caso de este proyecto se utilizó metabisulfito de sodio en solución justamente por su fácil manejo. Se ha encontrado que el SO_2 inhibe la fenolasa a concentraciones tan bajas como 1 ppm de SO_2 libre y que a 10 ppm inhibe completamente la enzima (Ponting 1960).

La forma de actuar de estos compuestos azufrados es de 3 formas. La primera es que puede inhibir el sistema enzimático de la fenolasa, respecto a esto Muneta (1966) presenta evidencia que sugiere, que el SO_2 inhibe la hidroxilación oxidativa de los monofenoles (L-tirosina) a difenoles (dopamina). La segunda es que inhibe el pardeamiento al interactuar con las o-quinonas previniendo así su polimerización (Embs y Markakis, 1965); y la tercera es que por ser fuertes agentes reductores los sulfitos y el SO_2 reducen las o-quinonas a o-difenoles de igual forma como actúa el ácido ascórbico.

16

El dióxido de azufre y los sulfitos deben ser aplicadas antes de que se formen las o-quinonas y los pigmentos oscuros, ya que los primeros oxidan dichos compuestos azufrados haciéndoles ineficaces; y por otro lado no tienen acción sobre los compuestos melanoides.

La cantidad a ser añadida del SO₂ y otros compuestos azufrados debe ser tal, que se evite la aparición del flavor desagradable y que siempre exista SO₂ libre, ya que solo de esta forma evita el pardeamiento. Esto último es de extrema importancia ya que el SO₂ y los sulfitos reaccionan con grupos carbonilos libres de aldehidos y cetonas para formar compuestos de adición, por ejemplo con la glucosa el metabisulfito de sodio forma un α -hidroxisulfonato.

Para evitar el pardeamiento en banano se utiliza el metabisulfito de potasio a una concentración de 1000 ppm (5). También en rodajas de manzana se usa por ejemplo una solución de SO₂ al 2 – 3 % con cloruro de sodio (11). En este estudio se utilizó concentraciones de 1% y 0,5% de metabisulfito de sodio, los resultados serán dados más adelante. En todo caso, la concentración del químico está limitada por la aparición de un favor desagradable por lo general a concentraciones mayores de 30 –50 ppm (14) y además las restricciones de las leyes de algunos países como EE.UU. que permiten un máximo de 10 ppm de SO₂ libre en productos deshidratados de banano y harina de banano (3).

ÁCIDO CÍTRICO.- Su acción se debe a que baja el pH por debajo del valor óptimo y por lo tanto disminuye la velocidad de la reacción, incluso la elimina ya que se ha observado que aún restablecido el pH la enzima ya no actúa. La fenolasa actúa a un pH de 5 a 7 y no presenta actividad por debajo de 3 (17). Además el ácido cítrico tiene capacidad quelante; es decir, secuestra metales como el cobre de la enzima, con lo cual inhibe su actividad. El ácido cítrico es ampliamente usado para evitar el pardeamiento en frutas y sus procesos, pero no en vegetales porque afecta su sabor. La forma en que se usa es sumergiendo la fruta o el vegetal en soluciones diluidas del ácido, o agregando directamente a purés, jarabes, jugos, etc.

En algunos casos este ácido se utiliza junto con el ácido ascórbico o el metabisulfito ya que tiene acción sinérgica y es mucho más efectivo que solo. En todo caso se ha demostrado que para evitar el pardeamiento disminuyendo el pH es mejor utilizar el ácido predominante propio de la fruta, por ejemplo en cítricos el cítrico; en la uva el tartárico; en banano y manzana el málico, etc.

En este proyecto el banano en rodajas se sumerge en una solución de ácido cítrico. Las concentraciones usadas bajan el pH del medio por debajo de 3 y son al 1% y 0,5%.

CLORURO DE SODIO.- El tratamiento con este químico ha sido usado durante mucho tiempo para evitar el pardeamiento principalmente en hortalizas, ya que en frutas se presenta el problema de que el sabor no es apetecible, especialmente a concentraciones altas.

La forma de acción se cree que es debido a la inactivación de la enzima, puede retardar la actividad enzimática a bajas concentraciones, pero para inactivarla completamente se requiere una concentración relativamente alta.

17

En sistemas modelos se ha observado que 0,1 % de cloruro de sodio inhibió significativamente el pardeamiento (10). Parece ser que el NaCl inhibe significativamente la actividad cresolasa de la enzima, pero parece activar su actividad catecolasa. Existen otros compuestos que evitan el oscurecimiento como el ATP, boratos, SH₂, etc. que por múltiples razones no se usan en la industria.

MODIFICACION DE SUSTRATOS.- La modificación consiste en la metilación de los sustratos; de esta forma con una metil-o-transferasa y en donador de grupos metilos como el s-adenosilmetionina, los difenoles como: el catecol se transformará en guayacol; el ácido cafeico en ácido ferúlico; y el ácido clorogénico en ácido 3-feruloilquínico. Todos estos compuestos resultantes no son sustratos de la fenolasa y por lo tanto no podrían continuar el curso normal de la reacción (10). Las ventajas que parece tener hasta aquí es que las frutas y vegetales resisten al pardeamiento sin verse afectados en el color, flavor, olor y textura original.

2.2. PARDEAMIENTO NO ENZIMATICO.

Existen una serie de reacciones químicas que también conllevan a la aparición de colores cafés o pardos en los alimentos. Algunos de estos cambios son deseables, ya que constituyen una característica esencial de ciertos productos como el mangar, los productos horneados, los caramelos, el café tostado, etc.; debido a que les proporciona el color y flavor propio de las reacciones de oscurecimiento. Sin embargo, de manera general se considera a dicho pardeamiento como un fenómeno de descomposición que está ligado a cambios indeseables en el flavor, color y valor nutritivos de los alimentos durante el procesamiento y almacenamiento, tales alteraciones ocurren en productos como el huevo deshidratado, verduras deshidratadas, frutas enlatadas, jugos y concentrados de frutas, etc. Por esta razón que en el procesamiento de los alimentos se busca evitar o controlar dichas reacciones de oscurecimiento ya que aún siendo favorables, los cambios pueden ser tan severos que conviertan al producto en indeseable, con más razón entonces, en alimentos donde se considera desfavorable.

En los alimentos, los componentes que más participan en las reacciones de pardeamiento son los carbohidratos y sus derivados (azúcares simples, ácido ascórbico, carbohidratos ácidos) los cuales pueden dar lugar a la aparición de colores oscuros estando solos o combinados con sustancias nitrogenadas; estas últimas, son el segundo tipo de compuesto más importante en el oscurecimiento no enzimático y entre ellos tenemos: aminoácidos libres y grupos amino libres de proteínas y péptidos.

A pesar de la gran cantidad de estudios realizados en el presente siglo para elucidar los mecanismos químicos y cinéticos a través de los cuales se forman los pigmentos pardos, solo las etapas iniciales son bien conocidas en sistemas modelos y en algunos alimentos, siendo las instancias finales muy poco comprendidas. A esto se agrega el hecho de que dichos estudios han sido realizados en sistemas modelos donde solo unas pocas de las tantas reacciones ocurren, lo cual están muy lejos de un sistema real como los alimentos, en donde todas las reacciones de oscurecimiento pueden ocurrir al mismo tiempo.

De manera general se han catalogado 3 tipos de reacciones como las más importantes, siendo también las más estudiadas dentro del pardeamiento no enzimático, estas son:

1. La reacción Maillard.
2. La oxidación del ácido ascórbico.
3. La caramelización.

Dado que las características del proceso de elaboración de harina de banano solo podría brindar condiciones para que ocurran las dos primeras reacciones, en el presente informe solo se describen éstas.

2.2.1. REACCIÓN DE MAILLARD.

Se debe a una interacción entre el grupo carbonilo de los azúcares simples con el grupo amino de aminoácidos libres y de proteínas y péptidos. Es considerado como la reacción de pardeamiento no enzimática más importante en los alimentos.

Esta reacción parece ser la mayor causa del desarrollo de colores oscuros durante el calentamiento o almacenamiento prolongado de los alimentos (10). Esto probablemente se debe a la baja energía de activación que requiere la reacción lo cual hace que ocurra a mayor velocidad y a temperaturas más bajas que otras reacciones como la caramelización (12).

Durante los estados finales de la reacción se producen compuestos melanoides y olores y sabores característicos que de igual forma son diferentes a los generados en otras reacciones.

CARACTERÍSTICAS DE LA REACCIÓN.- Para una mejor comprensión la reacción se divide en 3 etapas (9):

1. **Estado inicial.-** Aquí la reacción aún no produce color y no hay absorción en el ultravioleta cercano. Ocurre una condensación entre los azúcares y los grupos amino y el rearreglo de Amadori. La unión entre aminoácidos y azúcares reductores guardan una relación 1 a 1. Aumenta el poder reductor en solución alcalina.
2. **Estado intermedio.-** En esta etapa puede ser que la reacción no genera color o produzca un color amarillo; además existe una fuerte absorción en el ultravioleta cercano. Las reacciones que ocurren son la deshidratación de los azúcares, la fragmentación de azúcares y la degradación de aminoácidos. La adición de sulfitos durante esta etapa lo decolora, se desarrolla poder reductor en solución ácida, el pH del medio disminuye y los azúcares se degradan a mayor velocidad que los aminoácidos. Además ya se forman los aminoazúcares.
3. **Estado final.-** El medio se ha coloreado intensamente (pardo rojizo o café). Las reacciones que se llevan cabo son la condensación aldólica; la polimerización de compuestos aldeído-amina y la formación de compuestos nitrogenados heterocíclicos. Existe acidez, desarrollo de aromas parecidos al caramelo, formación de sustancias melanoides coloidales e insolubles, fluorescencia y reductonas de poder reductor en medio ácido. Aquí la adición de sulfito ya no decolora el medio.



19

CONDICIONES PARA LA REACCIÓN.- Existen algunas características físico-químicas del medio que afectan a la velocidad de la reacción y el curso normal de la misma, así tenemos:

1. **pH.-** Su efecto es complejo y poco comprendido. La reacción de Maillard puede ocurrir tanto en condiciones ácidas como de alcalinidad media, en todo caso se ve favorecida en condiciones neutras o ligeramente alcalinas, y es muy poco frecuente en medios con elevada acidez. Esta es la razón por la que la reacción ocurre más en alimentos de pH alto (6 a 8) como huevos, leche y vegetales; no siendo así en alimentos ácidos como los cítricos y sus productos, que tienen un pH de 2,5 a 3,5 en donde la principal causa de pardeamiento es la oxidación del ácido ascórbico. Se han encontrado que cada reacción del fenómeno Maillard tiene su propio pH óptimo, además durante la reacción el pH del medio cambia constantemente.
2. **Temperatura.-** De manera general al aumentar la temperatura se incrementa la velocidad de pardeamiento y viceversa. Según Shallenberg (1974) cuando la concentración de reactantes es elevada y la temperatura aumenta la reacción es auto catalítica; y aunque dependiendo de otros factores la velocidad puede aumentar de 3 a 5 veces por cada 10°C de aumento. Otro efecto observado es el hecho de que la reacciones son distintas a diferentes temperaturas (12).
3. **Contenido de humedad.-** Se ha observado que al aumentar la concentración de solutos y disminuir la humedad, la velocidad de pardeamiento aumenta. Así, los concentrados de frutas se pardean más rápido que los jugos naturales. En todo caso, por debajo de ciertos contenidos de humedad la reacción disminuye su velocidad al disminuir el contenido de agua. En general se ha visto que la concentración óptima para el oscurecimiento de los alimentos es 30%, esta quizás sea la causa principal por la que la reacción de Maillard tiene una alta incidencia en productos deshidratados y concentrados. Existe además una relación entre el contenido de humedad y la temperatura, a bajas temperaturas el oscurecimiento requiere agua. A temperaturas altas la deshidratación de los azúcares suministrará la humedad requerida para la reacción (12).
4. **Azúcares.-** Los azúcares reductores son esenciales para esta reacción, ya que el grupo carbonilo libre es el que reacciona con los grupos α -amino libres, estos azúcares pueden ser monosacáridos (glucosa y fructosa) y disacáridos como maltosa y lactosa. Los azúcares no reductores como la sacarosa no reaccionan porque su grupo carbonilo no está libre, pero si hay hidrólisis en algún proceso, puede reaccionar. Se han encontrado un orden de reactividad de los azúcares reductores, así las pentosas son más reactivas que las hexosas. Los disacáridos son menos reactivos; y dentro de los monosacáridos las aldosas son más reactivas que las cetosas (Spark, 1969).

También influyen los ácidos tricarbónicos como el ácido cítrico, tartárico, málico; acelerando la reacción de pardeamiento.

20

MECANISMO DE LA REACCIÓN.- La forma de cómo se producen las reacciones es bastante compleja y se las puede agrupar en las siguientes etapas (14):

- Condensación entre azúcar y grupo amino.
- Reordenamiento de los productos de condensación.
- Deshidratación de los productos del reordenamiento.
- Rotura subsiguiente (o paralela) y degradación.
- Polimerización con formación de pigmentos oscuros.

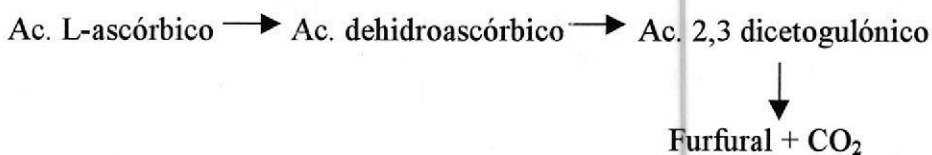
Los productos finales de la reacción son las melanoidinas pardas que son pigmentos complejos de alto peso molecular y estructura desconocida, que en sus primera etapas de polimerización son hidrosolubles. Estos compuestos tienen un espectro de absorción sin características especiales en la zona visible, su absorbancia aumenta al disminuir la longitud de onda en forma continua y sin picos. Parece que existe una relación logarítmica entre la longitud de onda y la absorción (14). Es probable que esto haya ocurrido en las múltiples pruebas realizadas para evaluar el pardeamiento del banano por espectrofotometría, lo cual será detallado más adelante.

Quizás en el banano ocurra esta reacción de Maillard, ya que presenta 1% de azúcares reductores y una cantidad similar de proteínas que pueden dar lugar a la aparición de colores oscuros durante la deshidratación, esto será discutido en los resultados de este informe. En el ANEXO 4 se da un resumen de estas reacciones.

2.2.2. OXIDACION DEL ÁCIDO ASCÓRBICO.

Esta reacción es la responsable de pardeamiento de los jugos y concentrados cítricos. El mecanismo de la reacción no se conoce con exactitud pero se sabe que es el ácido ascórbico el responsable y no hay mayor participación de los aminoácidos. Se han identificados 17 compuestos entre ellos el ácido dehidroascórbico, el 2,3 dicetogulónico, ácido oxálico, el furfural y el CO₂ (10). Estos compuestos son formados en presencia de aire o condiciones oxidativas.

Una posible vía para la formación de CO₂ y furfural, en consecuencia para dar colores pardos es la siguiente:



Al respecto Lalikainen y colaboradores (10) observaron que la cantidad de CO₂ producido bajo condiciones aeróbicas puede ser cuantificada por la cantidad de ácido ascórbico presente. Este mismo autor encontró que la reacción es diferente a distintas temperaturas. La reacción de oxidación del ácido ascórbico es muy dependiente del pH y la concentración.

21

En el banano, las condiciones de oxidación del ácido ascórbico no toman la vía descrita anteriormente, ya que en las pruebas realizadas en la elaboración de harina del banano tratadas con ácido ascórbico, se produce una coloración rosada muy marcada (visible) y su intensidad aumenta con la concentración de la solución utilizada en el tratamiento químico. Así el banano sumergido en soluciones de 1% son más rosadas que las sumergidas en soluciones de punto 0,5% de ácido ascórbico. Este fenómeno ocurrido en la práctica se explica de la siguiente manera: como los vegetales tienen un pH mucho más alto que los cítricos, variando entre 5,3 a 6,5, el cual es desfavorable para la formación de CO₂ y furfural; otra vía es utilizada en estos casos. Ranganna y Setty (1968) al realizar un estudio en col deshidratada, relacionaron la degradación Strecker con una interacción ácido ascórbico - aminoácido. Se observó que ocurría a bajo contenido de humedad. La formación del ácido dehidroascórbico y el ácido dicetogulónico a partir del ácido ascórbico ocurre en los estados finales del proceso de deshidratación, según estos autores pueden ser capaces de interaccionar con aminoácidos libres no enzimáticamente, produciendo una coloración roja o parda. El pH de la col 5,2 se reportó como óptimo para la reacción y no ocurre a pH menor que 3,5. Se puede deducir que esto ocurre en el banano porque su pH es de 5,6.

2.2.3. CONTROL DEL PARDEAMIENTO NO ENZIMÁTICO.

1. **Temperatura.-** Como en general las reacciones requieren altas temperaturas, al disminuir la temperatura durante el almacenamiento de los productos susceptibles por ejemplo con una refrigeración se puede retardar este fenómeno.
2. **Contenido de humedad.-** Se puede inhibir el pardeamiento por procedimientos de deshidratación, siempre que se tenga en cuenta que el producto no gana humedad durante el almacenamiento.
3. **pH.-** Se puede bajar el pH con un acidulante como el ácido cítrico siempre y cuando el producto se lo pueda acidificar sin afectar sus características organolépticas. En el caso del banano se han utilizado concentraciones del 0,25; 0,5 y 1% y se ha visto que en estas dos últimas una acidez un poco indeseable al elaborar coladas.
4. **Enzimático.-** Este método es usado cuando ocurre la reacción de Maillard y los alimentos que sufren el oscurecimiento tienen una pequeña cantidad de los reactantes iniciales por ejemplo los azúcares reductores. Esto se utiliza en la elaboración del huevo deshidratado por medio de una enzima que es la glucosa oxidasa.
5. **Empleo de inhibidores.-** Existen algunos químicos inhibidores del pardeamiento que son muy utilizados en la industria alimenticia como los sulfitos, bisulfitos y sales de calcio.

Los sulfitos y el SO₂ son excelentes inhibidores del pardeamiento en el proceso y el almacenamiento de los alimentos. Los bisulfitos inhiben la conversión de glucosa a HMF, así como también la conversión de ácido ascórbico a furfural al unirse al grupo reductor del ácido. De esta manera evita la formación de furfural y por lo tanto de pigmentos colorados, tanto en la reacción de Maillard como en la oxidación del ácido ascórbico.

También el SO₂ y los sulfitos pueden reaccionar con el grupo carbonilo libre de los azúcares reductores y formar hidroxisulfonatos, con lo cual disminuyen la cantidad de azúcares reductores capaces de reaccionar en la reacción de Maillard.

En el caso de este estudio se utilizó metabisulfito de sodio como inhibidor a una concentración de 1% y 0,5%, los resultados se detallan más adelante.

CAPITULO 3

ASPECTOS GENERALES SOBRE MEDIDA DEL PARDEAMIENTO

Durante mucho tiempo se ha intentado medir e incluso predecir la influencia de diferentes fenómenos deseables o indeseables en la calidad de los alimentos. Uno de estos fenómenos que afectan a la calidad es justamente el pardeamiento enzimático y no enzimático, especialmente en frutas y vegetales donde su efecto es desfavorable sobre el color de sus productos.

En este trabajo, se han agrupado en dos, los métodos para medir el pardeamiento:

1. Métodos directos, que se basan en la medida directa de las reacciones químicas ocurrida en el proceso; y
2. Métodos indirectos, fundamentados en una medida del color desarrollado en el producto.

A continuación se describen cada uno de los métodos, dando un tratamiento más extenso a los métodos indirectos, ya que la metodología desarrollada en este estudio está orientada a la medida de la Influencia de los Antioxidantes en el Color de la Harina de Banano.

3.1. METODOS DIRECTOS.

Estos métodos tratan de cuantificar o determinar los reactivos o los productos de las reacciones ocurridas durante los fenómenos de oscurecimiento, midiendo entonces de manera directa el curso de la reacción e incluso pueden predecir la probabilidad de que se presente el pardeamiento. Algunos de estos son:

1. **Medida de la cantidad de oxígeno consumido.-** Es utilizado para determinar el pardeamiento enzimático, ya que ahí se consume oxígeno durante las reacciones de oxidación. Se ha usado para valorar la oxidación del catecol en sistemas modelos. Tiene la ventaja de ser el más directo y eficiente siempre que se use con cuidado, sin embargo posee la desventaja de que la enzima se inactiva durante la reacción y que la actividad enzimática no es constante de una preparación a otra. Además es poco práctica por las condiciones que requiere.
2. **Medida cronométrica de la pérdida del ácido ascórbico por oxidación.-** Se basa en la pérdida del ácido ascórbico con el tiempo debido a su oxidación por las o-quinonas formadas a partir del catecol por ejemplo. Tiene la desventaja de que no se distingue entre la oxidación del ácido ascórbico por la o-quinonas formadas por la fenolasa y la ocurrida por la ácido ascórbico oxidasa que tienen los tejidos vegetales. Se mide el pardeamiento enzimático.

- 23
3. **Determinación de HMF.**- La determinación del hidroximetilfurfural es muy utilizada en el control de jugos y concentrados de frutas, así como en productos de hortalizas. Sirve para determinar el pardeamiento no enzimático. Basado en la cuantificación del HMF que es un intermediario tanto en la reacción de Maillard como de la oxidación del ácido ascórbico, ya que este se acumula en los productos poco tiempo antes de que aparezca el oscurecimiento (14) y por lo tanto puede servir incluso para predecir si los productos son susceptibles al oscurecimiento durante el almacenamiento.
 4. **Medida de la cantidad de CO₂.**- Se determina el pardeamiento no enzimático y se ha visto que la cantidad de CO₂ producido es paralelo al desarrollo del color.

3.2. METODOS INDIRECTOS.

Son todos aquellos métodos que determinan el pardeamiento en forma indirecta, principalmente a través de la medida del color en los alimentos.

Esta propiedad física (color) ha sido intensamente estudiada en los alimentos, con la finalidad de desarrollar una metodología que sirva como una prueba de control de calidad tanto en las materias primas como en los productos terminados. La ventaja es que dichos métodos de control a través del color son no destructivos al igual que otros basados en las propiedades físicas.

Antes de proceder a explicar sobre los métodos utilizados en la medida de color, se detallan algunos puntos importantes sobre el color como propiedades físicas que son necesarios para comprender las bases de su determinación.

3.2.1. EL COLOR COMO PROPIEDAD FÍSICA.

Según Kramer el color es una propiedad de la apariencia atribuible a la distribución espectral de la luz. Físicamente, es color es una característica de la luz medible en términos de intensidad (energía radiante) y longitud de onda (18).

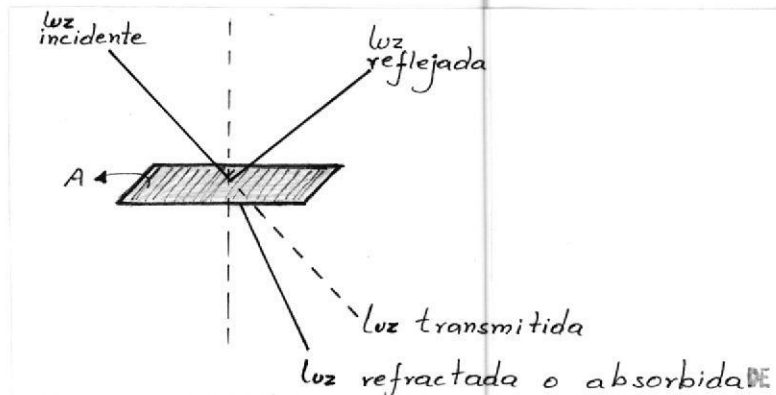
La importancia del color como propiedad física radica en el hecho de que el consumidor al comprar o ingerir un alimento percibe primeramente su aspecto visual y de manera especial su color. La decisión de este puede ser aceptarlo o rechazarlo sin considerar otras bondades del producto como su sabor, textura o valor nutritivo (1). De ahí nace la necesidad de evaluar el color de manera objetiva y utilizarlo como parámetro de control en los alimentos, tratando de correlacionar siempre entre el criterio de los consumidores a través de paneles de degustación por ejemplo y las medidas objetivas por medio de instrumentos de medición, pudiendo entonces establecer un verdadero factor de calidad que sirvan para estandarizar el producto.

En cuanto al aspecto visual de los alimentos, está conformado por varias características inherentes a los mismos como: la transparencia y la opacidad que se refiere a la cantidad de luz que el material deja pasar a través de sí o que se refleja en él; la turbiedad que está relacionado con el fenómeno de difusión de la luz en el seno del material, el color y el brillo. De todas estas, la más importante es el color (1).

ATRIBUTOS DEL COLOR.- Fisiológicamente el color está limitado a una cierta banda del espectro, siendo este de 380 a 770 nm. (región visible), rango en el cual el ojo humano es perceptible a esta energía radiante, siendo insensible a longitudes de onda mayores o menores. Por esta razón se considera al color como un fenómeno sico-físico.

Además de la longitud de onda, la fuente de luz es también un factor limitante en la medida de color. Así, ningún color puede ser evaluado u observado por un instrumento o por el ojo humano en la ausencia de una fuente de luz. Esta es la razón por la cual un alimento u otro objeto parece tener cierto color al ser observado bajo la luz de una fuente dada, pero parece cambiar de color cuando se cambia la fuente de luz. Debido a esto se ha establecido iluminantes patrones a través de la CIE (Commission Internationale de l'Eclairage), siendo los más importantes los iluminantes A, C y D 65. El iluminante A se usa para evaluar el color a longitudes de ondas altas, donde los objetos aparecen con un color más rojizo o amarillento; el iluminante C se utiliza cuando se quiere imitar a la luz blanca (región visible) y se llama así a la luz de un día nublado, es el más utilizado para la especificación y medida de parámetros de color; y el iluminante D 65 es más próxima a la luz natural del día y en general se usa para la medida de color de productos que van a estar expuestos a luz del sol, ya que se evalúa el color en base a la región visible y a la ultravioleta cercano. En este estudio se utilizó el iluminante C.

Otro factor a considerar es la trayectoria de la luz al tomar contacto o chocar con un objeto como el alimento. La luz puede ser reflejada y se refiere a la parte de la energía radiante emitida por la fuente de luz que se refleja de la superficie del objeto iluminado; la luz transmitida es aquella energía que pasa a través del objeto sin sufrir cambios en su trayectoria; y la luz refractada que también es una energía transmitida, pero en un ángulo diferente del ángulo incidente. A continuación se presenta un esquema de estas trayectorias:



BIBLIOTECA DE ESCUELAS TECNOLOGICAS

Los objetos en general tienden a reflejar, absorber o refractar la luz incidente, así cuando un cuerpo refleja toda la energía radiante aparece como blanco, cuando la absorción es parcial puede apreciarse de un color gris y si el objeto absorbe toda la energía entonces se aprecia un color negro. Esta relación entre la reflexión y absorción de la luz en un cuerpo sin considerar la longitud de onda es llamada psicológicamente claridad (value o lightness).

Los alimentos al igual que otros objetos al estar bajo la energía radiante (luz), absorben ciertas longitudes de onda mientras que otras son reflejadas, el conjunto de estas últimas son las que van a dar el tono (hue) característico de cada cuerpo y es lo que popularmente se conoce como color, el cual es percibido por el ojo humano.

Físicamente esto se refiere a la longitud de onda predominante en la energía reflejada. De esta manera, si las longitudes de onda de 400 a 450 nm. son reflejada en mayor medida que otras, el cuerpo aparecerá como violeta; si la longitud de onda predominante está entre 450 y 500 el cuerpo será azul; entre 500 y 570, será verde; entre 570 y 590, será amarillo; entre 590 y 610 naranja y el rojo si está entre 610 y 700 nm. Un esquema de esto se puede ver en el Anexo 5. Otro atributo del color es la cantidad de reflexión de la luz a una determina longitud de onda, el cual físicamente se conoce como pureza y en términos psicológicos se refiere a la intensidad o saturación (chroma).

Por último, cuando la luz es reflejada en todas las direcciones al atravesar las capas superficiales de un objeto, se produce lo que se conoce como reflectancia difusa. Esta reflexión difusa es diferente a la reflexión especular o reflexión direccional, la cual consiste en la luz reflejada más fuertemente a un ángulo específico (90° con respecto a la luz incidente) sin sufrir ninguna transformación. En términos psicológicos o sensoriales se conoce como brillo y normalmente se trata de evitar en las medidas de color. Este atributo es de especial importancia en al evaluación de color de materiales opacos.

A continuación se presenta un resumen de la relación entre los términos físicos y sensoriales usados para denotar los diferente atributos del color (Kramer and Twigg):

<u>Medida física</u>	<u>Término sensorial equivalente</u>
Energía radiante	Luz
Reflectancia	Claridad (value)
Longitud de onda predominante	Color, tono (hue)
Pureza	Saturación, intensidad (chroma)
Reflexión direccional	Brillo, lustre (gloss)

Para realizar una medida de color en un alimento hay que tomar en cuenta, cual de estos atributos nos es útil y de acuerdo a esto también hay que considerar otras características intrínsecas como la estructura de la superficie (textura, granulometría, suavidad, etc.) y de estructura interna del producto (grano de homogeneización, tamaño de partícula, etc.); ambas conforman lo que se conoce como propiedades geométricas dentro de los atributos de apariencia (28). Además se debe considerar la composición química del alimento ya que ciertos pigmentos dan colores característicos y otros compuestos en cambio absorben energía fuertemente a ciertas longitudes de onda.

Consideraciones generales para las medidas de color.- En la medida de color debe distinguirse 3 conceptos que son: color-radiación, color-objeto y color-sensación. El color-radiación se refiere al haz de radiaciones luminosas con una determinada distribución espectral. Los alimentos y otros cuerpos transforman la luz que les llega de forma que la luz transmita o reflejada tiene distinta distribución espectral, esto es el color-objeto; y cuando la luz de una fuente luminosa o de un objeto iluminado, incide sobre la retina del ojo humano y la impresión recibida se transmite al cerebro por medio de los nervios ópticos, se produce una respuesta al estímulo físico conocido como color-sensación. En la medida de color de los alimentos el que más interesa es el color-sensación ya que representa a la evaluación visual que hace el consumidor (1).

El mecanismo por el cual se percibe el color de los objetos (color-sensación) es a través de los receptores que se encuentran en la retina, los conos y los bastones. Durante la noche cuando hay una luz tenue, la visión depende de los bastones situados en la periferia de la retina, estos bastones no dan una visión de los colores a pesar de ser sensibles a la intensidad luminosa. Cuando hay una intensidad luminosa más fuerte comienzan a funcionar los fotorreceptores (conos) que se encuentran en la parte central de la retina y son los responsables de percepción de los colores. Está demostrado

experimentalmente la existencia de tres tipos de conos que son sensibles al azul, verde y rojo, teniendo una absorción máxima a 445, 535 y 575 nm. respectivamente. La sensibilidad óptica de estos conos se debe a la presencia de rodopsina (pigmento derivado de la vitamina A) y la proteína opsina. Otra teoría que explica la percepción de los colores es la teoría de los colores opuestos, que indica que los colores se perciben por pares, así blanco y el negro; el rojo y verde y el amarillo y azul. La percepción de los colores es similar en la mayoría de los seres humanos, sin embargo no todos poseen una visión cromática más o menos semejante y en algunos las diferencias con la mayoría son tan grandes que se puede concluir que tienen una visión cromática anormal o deficiente por ejemplo los daltónicos (1).

SISTEMAS DE MEDIDA DE COLOR.- Además de la evaluación sensorial se han desarrollado varios sistemas para la medida del color, entre ellas; la comparación visual con patrones, y los sistemas CIE, Hunter y CIELAB.

Medidas de comparación visual con patrones.- Aquí se encuentran varios métodos que integran la visión humana con el uso de estándares de referencia. El hecho de usar la visión humana tiene ciertas ventajas como su gran capacidad para distinguir colores muy similares; y su capacidad para sintetizar obteniendo una idea global del color de varias unidades de productos, además no cae en errores ante el efecto de las sombras o manchas que puede haber en el conjunto. Sin embargo, tiene sus desventajas como: su mala memoria de color, la dificultad para describir un color observado y la percepción se ve afectada por el tamaño, forma, fuente de iluminación y el color del entorno (fondo) de la muestra (Calvo y Duran, 1997).

De ahí surge la necesidad de estandarizar las condiciones de observación y la comparación con patrones de referencia, aumentando la exactitud de las medidas al aprovechar las cualidades de la visión humana y ayudando a superar sus deficiencias.

Los estándares de color se agrupan en dos: 1.- Las placas sueltas específicas para clasificar el color de un alimento en especial; y 2.- Las colecciones de colores agrupados en forma estructurado de acuerdo a determinados criterios o sistemas y que son presentados en un diccionario o atlas de color.

El más conocido y utilizado es el sistema Munsell que ordena los colores reales en el espacio relacionándolos con los 3 parámetros de la percepción humana: el tono H (hue), la claridad V (value) y la saturación C (chroma) ya que el color es una sensación netamente humana. Este sistema ha sido utilizado para normalizar la calidad de ciertos alimentos como la pasta y salsa de tomate en los EE.UU.

Las medidas se realizan acoplando diferentes placas de colores en un colorímetro de discos, el cual al girar rápidamente combina los colores y da uno en especial que es comparado con el producto a evaluar, luego las medidas se cuantifican en base a la cantidad de cada color que se utilizaron en la combinación. Un diagrama de este sistema está en el ANEXO 6.

La ventaja de usar estos sistemas de medida de color con patrones, es que permiten normalizar su medida a un bajo costo en empresas que por diferentes motivos no tienen colorímetros.

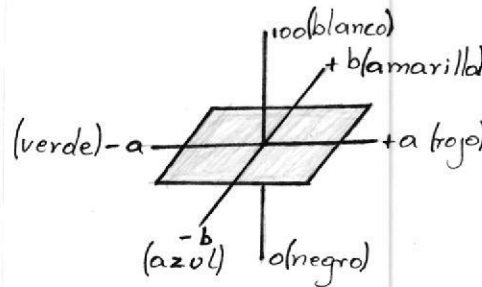
Sistema CIE.- Para normalizar la medida de color, la CIE en 1931 definió un espacio físico de colores basado en la teoría de la percepción tricromática. Dicho espacio se estableció mezclando cantidades apropiadas de los 3 estímulos fundamentales: rojo, verde y azul. Para hacer esto consideraron los siguientes puntos:

1. **Fuentes estándar de iluminación.-** Los iluminantes estándares utilizados se mencionaron anteriormente.
2. **Condiciones de la observación.-** La CIE estableció que para realizar las observaciones, el observador debe situarse a 45.7 cm. de la muestra y ver a través de una rendija de tal manera que el ángulo de visión sea de dos grados, en todo caso el 1964 se redefinió el ángulo de visión a 10° .
3. **Unidades matemáticas adecuadas.-** Según esto la CIE definió tres colores primarios ideales X, Y, Z que son deducidos matemáticamente de los tres colores primarios reales rojo (R), verde (G) y azul (B); ya que mezclando las cantidades apropiadas de los tres estímulos fundamentales se pueden obtener una gran cantidad de colores. La CIE llama desde entonces valores triestímulo a las cantidades de cada primario ideal requerido para igualar a un color problema.
4. **Curvas del observador patrón.-** Es la descripción numérica de la respuesta al color por el ojo humano, dicha respuesta se cuantifica con las curvas del observador patrón que se obtiene cuando dicho observador compara luces monocromáticas del espectro visible con la mezcla de 3 colores primarios.
5. **Coordenadas de cromaticidad.-** Existen algunas desventajas del uso rutinario de los valores triestímulos como: 1.- Difícil de representar gráficamente en un plano y si se consideran solo dos se pierde información; 2.- Los valores X, Y, Z no dan una buena idea del color; y 3.- Sensorialmente es difícil su interpretación.

El parámetro Y fue elegido por la CIE para que se corresponda exactamente con la curva del observador patrón, dando de esta forma la claridad. Se definen además las coordenadas x, y, z, para evaluar la cromaticidad y se obtiene al dividir los valores triestímulo X, Y, Z, para la suma total de los mismos.

SISTEMA HUNTER.- El sistema L, a, b de Hunter se desarrolló al mismo tiempo que los colorímetros triestímulo y está basado en la teoría de los colores opuestos. Las nuevas coordenadas pueden ser graficadas en un plano cartesiano tridimensional en el que L es la claridad y a, b constituyen la cromaticidad. En forma exacta a define el componente rojo-verde; rojo para valores positivos y verde para valores negativos. Mientras que el parámetro b define el componente amarillo-azul; amarillo para valores positivos y azul para valores negativos.

En cuanto a la saturación los colores son más saturados mientras más separados se encuentren del centro del gráfico. Un esquema de este sistema se presenta a continuación:



El bajo costo y la rapidez de respuesta de los colorímetros triestímulos frente a los espectrofotómetros normales contribuyó a que el sistema L, a, b sea conocido rápidamente; además la facilidad de su representación gráfica e interpretación, así como el hecho de que está basado en la teoría de los colores expuestos han ayudado a su difusión. La desventaja que presenta este sistema es que no presenta uniformidad en la región del azul pero es usado en algunos colorímetros (Calvo & Durán 1997).

Sistema CIELAB.- En el año 1971 la CIE propuso un nuevo espacio cromático por transformaciones no lineales del sistema CIE de 1931. El nuevo sistema se denomina CIELAB y define un espacio de coordenadas rectangulares L^* , a^* , b^* junto con otro en coordenadas cilíndricas L^* , H^* , C^* . En este espacio de color L^* indica la claridad y a^* , b^* son las coordenadas de cromaticidad. Las coordenadas a^* , b^* indican las direcciones del color: $+a^*$ es la dirección roja, $-a^*$ es la dirección verde, $+b^*$ es la dirección amarilla y $-b^*$ es la dirección azul. El centro o la intersección de las coordenadas es acromático y conforme las coordenadas a^* y b^* se mueven del centro, la saturación se incrementan.

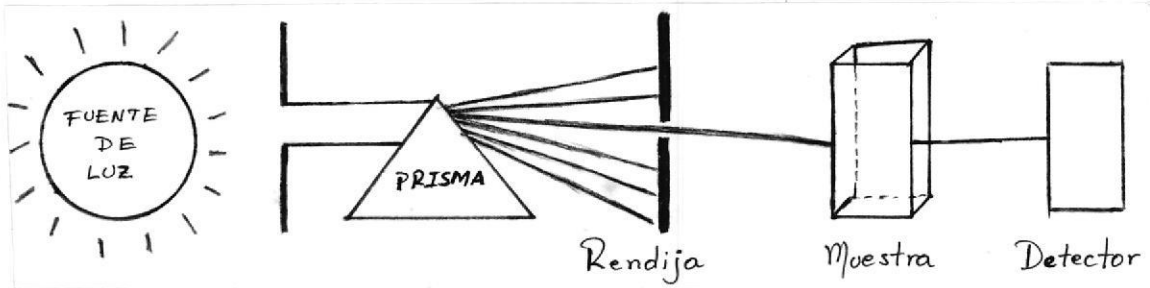
Este sistema de coordenadas L^* , a^* , b^* es actualmente el más utilizado para las medidas de color de objetos a través de colorímetros en todas las áreas por lo que ha ayudado a la difusión de este sistema. En este proyecto para las medidas de color de las harinas de banana se utilizó un colorímetro en este sistema.

3.2.2. MEDIDA DEL COLOR POR ESPECTROFOTOMETRIA.

Los espectrofotómetros son instrumentos que miden la cantidad de luz (energía) transmitida en sustancias líquidas y la reflejada en el caso de sólidos opacos relacionándolos con un blanco patrón. Estos equipos pueden trabajar a cualquier longitud de onda, pero para medir el color se trabaja en el rango visible; aprox. Entre 380 y 770 nm. (400 a 700 nm. para efectos prácticos).

Con estos equipos lo que determina es la capacidad de un cuerpo (alimento por ejemplo) para transformar la luz incidente independientemente de las características del iluminante y de la capacidad de percepción del ojo humano. Pudiendo medir entonces la absorbancia o transmitancia en líquidos y la reflectancia en sólidos.

Generalmente los espectrofotómetros constan de una fuente de luz blanca que al pasar a través de un prisma se difracta (descompone) para producir un espectro de donde se aíslan diferentes porciones de longitudes de onda mediante una rendija. Este haz de luz que atraviesa se conoce como luz monocromática que va a cruzar a través de la muestra del portaobjetos dando lectura de transmitancia o absorbancia; o bien, se reflejan en la muestra dando lecturas de reflectancia. La cantidad de luz transmitida o reflejada es captada por un fotodetector y transformada en lecturas de transmitancia o reflectancia para una longitud de onda dada. El esquema de funcionamiento es el siguiente:



Estos equipos se basan en la Ley de Lambert & Beer o Ley de Beer que postula lo siguiente: “La absorbancia de energía o densidad óptica de una sustancia es directamente proporcional a la concentración de la sustancia y longitud de recorrido, teniendo además una constante de absorción que es propia de cada elemento”. De esto se deriva que: 1.- La radiación incidente es monocromática; 2.- Las especies absorbentes actúan en forma independiente en el proceso de absorción; 3.- La absorción ocurre dentro de un volumen de sección transversal uniforme.

Para la medida de color en el espectrofotómetro uno de los primeros pasos es la selección de la longitud de onda a la cual se va a realizar la medida. Con este fin, se prepara la muestra y se hace una corrida de lecturas de transmitancia o reflectancia a las diferentes longitudes de onda del espacio visible para determinar la longitud de onda pico o de máxima absorbancia. Para obtener mayor precisión en los resultados la corrida debe hacerse máximo cada 5 nm. (18). En la actualidad se dispone de equipos que realizan las lecturas a diferentes longitudes de onda en forma automática y precisa. La selección de la longitud de onda se requiere por las siguientes razones: 1.- Da mayor exactitud y precisión en los resultados, ya que hay mayor sensibilidad; y 2.- La absorción molar es constante y sigue la Ley de Beer (21).

Para evitar las desviaciones de la Ley de Beer, uno de los factores que hay que considerar debido a su influencia, es la concentración de las soluciones, esta debe ser tal, que el porcentaje de transmitancia, sea entre 20 y 65% ya que a valores menores la incertidumbre es grande y por lo tanto se requerirá una mayor dilución. También cuando la concentración de las especies absorbentes es alta, ocurre las desviaciones de la Ley de Beer, para evitar esto, se establece que las concentraciones deben ser inferiores a 10^{-2} M (21).

Se han realizado numerosos estudios en los cuales se hace un seguimiento del desarrollo de color del pardeamiento mediante espectrofotometría. Así Wong y colaboradores (1974) realizaron un estudio del pardeamiento enzimático en melocotones, encontrando que el color rojo-pardo formado por la acción de la polifenoloxidasas tenía una máxima absorción a 470 nm. Weaver y Charley (1974) estudiaron el contenido de dopamina y ácido ascórbico en relación con el pardeamiento enzimático en bananos maduros,

utilizando para ello medidas del cambio del porcentaje de transmitancia del extracto acuoso a 475 nm. cada 30 min a 25°C (16). Ponting (1960) estudió la influencia del SO₂ sobre la actividad de la fenolasa, para ello utilizó un sistema modelado de catecol, buffer, enzima y bisulfito de sodio a diferentes concentraciones y midió su absorbancia a 410 nm. vs. el tiempo (min). Taeufel y Voigt (1964) estudiaron el efecto del cloruro de sodio sobre la oxidación del ácido clorogénico por la fenolasa de la manzana, midiendo el desarrollo de la reacción en un sistema modelo a 420 nm. Vs. el tiempo. Por último, Alvarado (1996) estudió la cinética de pardeamiento de bananos midiendo la absorbancia y el porcentaje de transmitancia de los extractos acuosos a 420 nm. Vs. el tiempo (23). Solo en este último trabajo se describe las condiciones para realizar las medidas, mientras que el resto carece de esta información.

En este trabajo no fue factible la determinación de la longitud de onda óptima para la medida de color de las harinas de banano, ya que esta debía dan dentro del rango visible, pero lo que se obtuvo fue un pico de máxima absorbancia entre 320 y 335 nm. (ultravioleta cercano); por lo tanto, se concluyó que no se estaba midiendo el color desarrollado en el pardeamiento, siendo cualquier otra sustancia la responsable, de esta absorción.

Las causas de este problema se pueden atribuir a lo siguiente:

- 1) La medida de color no se realizó directamente sobre la harina ya que no se disponía de un espectrofotómetro que mida por reflectancia (para sólidos).
- 2) La extracción de los pigmentos formados en el pardeamiento es dificultosa, ya que son casi insolubles y por lo tanto las diluciones preparadas de la harina tenían tan poco color (ligeramente amarillo) que era difícil de diferenciar entre ellas. Esta falta de coloración hizo que el espectrofotómetro no detecte ningún pico de absorbancia en el rango visible. Cabe mencionar que para la extracción de los pigmentos se realizaron pruebas utilizando varios solventes y mezclas de estos (agua-alcohol. Alcohol, acetona, éter, etc.) escogiendo finalmente una relación agua alcohol 1:1 por ser la que mayor coloración tenía y además es un método probado en la determinación de pardeamiento de productos cítricos (22).
- 3) Los pigmentos formadores del color en el pardeamiento no enzimático no tienen bandas de absorción característica. Según Shallenberger (12) la medida de desarrollo de color por espectrofotometría se hace en los estados finales del pardeamiento luego de la extracción de los pigmentos que puede no ser completa y se registras la absorbancia de la solución entre 420 y 490 nm., siendo la selección la selección de la longitud de onda arbitraria.

En los ANEXOS 7 y 8 se presentan algunos espectros obtenidos en un espectrofotómetro Perkin Elmer 5 para diluciones de banano, así como la técnica utilizada. En los espectros nótese que los picos se ubican entre 320 y 335 nm.

Casi al finalizar este proyecto se encontró una técnica para determinar polifenoles totales en zumos de limón (24), en la cual se cuantifica los polifenoles presentes mediante lecturas en el espectrofotómetro entre 323 y 335 nm. donde justamente se encuentra su pico de máxima absorbancia (ver ANEXO 9). Obsérvese en la técnica que las diluciones son alcohólicas y existe una centrifugación, similar a la técnica de extracción utilizada. Por lo tanto, se presume que lo que se media en harina de banano no era color sino polifenoles totales.

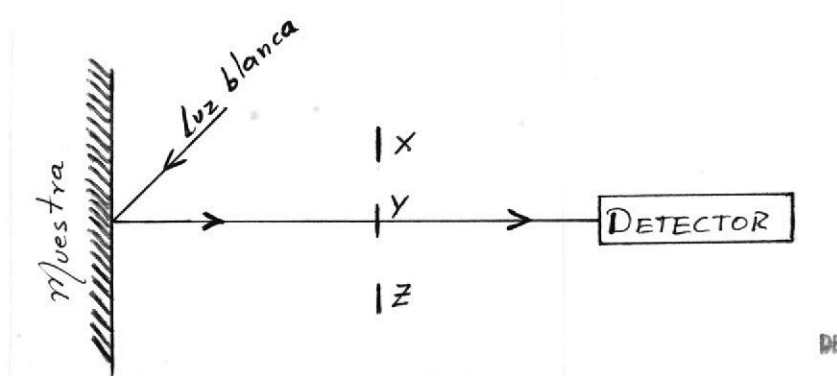
A pesar de que la medida de color mediante este equipo no dio los resultados esperados, no significa que no sean confiables; de hecho, ya se han desarrollado espectrocolorímetros que tienen incorporados programas muy sencillos, útiles y versátiles. Dichos equipos pueden dar las medidas de color en diferentes sistemas como el X, Y, Z; x, y, z; L, a, b; L*, a*, b* incluso se pueden programar tolerancias de color; usar varios iluminantes; almacenar gran cantidad de datos; etc. Sin embargo el factor limitante del uso de estos instrumentos sigue siendo su costo.

3.2.3. MEDIDA DE COLOR POR COLORIMETRIA.

Existen varios tipos de colorímetros que actualmente se utilizan, entre ellos los colorímetros visuales (aditivos y sustractivos) cuyo fundamento se describe en el sistema de comparación visual con patrones; y los colorímetros triestímulo. Por tener relación con el estudio, solo se describirá este último tipo de colorímetro.

COLORIMETRO TRIESTIMULO.

El colorímetro utilizado en este estudio es un colorímetro triestímulo que actualmente es el más usado en la medida de color de los alimentos. En estos equipos las curvas del observador patrón son reemplazadas por el uso de filtros adecuados que simulan su respuesta. El funcionamiento de este colorímetro se presenta en el siguiente esquema (1):



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

El haz de la luz blanca que llega del iluminante, incide sobre la muestra con un ángulo de 45° y es reflejado en forma perpendicular a la superficie de la muestra (luz difusa), este rayo de luz pasa a través de los tres filtros X, Y, Z y es medido por la fotocélula (detector).

El tipo de luz utilizada en estos colorímetros no es de mayor importancia ya que modificando el filtro y u la fotocélula se puede conseguir una respuesta igual a la del ojo humano en condiciones estandarizadas de iluminación. Lo importante es conseguir una relación lámpara - filtro - detector que produzca una respuesta exactamente igual a la del ojo humano. Las fuentes de luz en estos equipos pueden ser: las lámparas incandescentes de wolframio y la lámpara de destello de xenón. El equipo utilizado en las medidas d color tenía este último sistema de iluminación.

La iluminación con lámparas de destello de xenón presenta la ventaja frente a la de wolframio de que no existen tiempos muertos en su uso ya que no requiere calentamiento y por lo tanto solo permanece encendida durante su uso. La única condición es que los destellos deben ser iguales para que las medidas sean comparables.

La medición de color con este colorímetro es sencillo; así para las medidas de color de las harinas de banano se preparaba las soluciones y la lectura se realizaba colocando el aparato (portátil) directamente sobre la muestra, en donde se producía el destello y el aparato registraba la luz reflejada. Si bien es cierto las lecturas podrían realizarse directamente sobre la harina en polvo, debido a la influencia de las propiedades geométricas (tamaño de partícula, forma de partícula, etc.); y también al poco color de las mismas, se prefirió preparar soluciones acuosas de las harinas, ya que de esta manera se desarrollaba cierto color que podía ser detectado por el equipo. En el ANEXO 10 se presenta una copia de la forma como se determina el color con el colorímetro.

En general, los colorímetros triestímulos pueden proporcionar las medidas de color en diferentes sistemas tales como: X, Y, Z; x, y, Z; L*, a*, b*; L*, C*, h; Hunterlab color; incluso en el sistema Munsell. Cada uno de los cuales encuentra su aplicación en determinadas áreas.

Para efectos del estudio se utilizó las medidas en el sistema L*, a*, b* CIELAB (CIE 1971) debido a la facilidad de su interpretación. Dicho sistema fue descrito anteriormente. De los tres parámetros L*, a* y b* solo el L* (lightness o claridad) es el que sirve para determinar la influencia de los antioxidantes en el color de la harina de banano al retardar el pardeamiento. Como L toma valores de 0 (negro) a 100 (blanco), mientras mayor sea el valor de L significa que menos pardeamiento ha sufrido el producto y viceversa. Las otras dos coordenadas a* y b* que indican la cromaticidad no son útiles por el hecho de que con ellas no se puede comparar las muestras, "no es lógico decir, la muestra 1 es más roja que la 2 amarilla". a* toma valores de + 60 (Rojo) y - 60 (Verde) y se encuentra en el eje X y b* toma valores de + 60 (Amarillo) y - 60 (Azul) encontrándose en el eje y. La principal desventaja que presentan estos equipos es que no dan medidas exactas el color, pero son muy útiles para medir diferencias de color entre muestras. Las ventajas del colorímetro triestímulo frente a los espectrofotómetros clásicos son las siguientes (Calvo y Durán, 1997):

- 1) Son más baratos.
- 2) Dan una respuesta más rápida.
- 3) Son fáciles de usar.
- 4) Eliminan el problema del sobrecalentamiento de la muestra por la rapidez de la medida.

Esto hace que dichos equipos sigan siendo muy utilizados en la industria y la investigación, más aún cuando ya existen equipos portátiles como el que se utilizó en este estudio (Minolta, ver ANEXO 11). Finalmente, cabe aclarar que si bien es cierto que las medidas de color se pueden cuantificar con estos equipos (colorímetros y espectrofotómetros) y siendo precisamente ese el propósito (tener medidas objetivas), se debe entonces tener mucho cuidado con los procedimientos antes y durante el análisis para evitar errores de método; tratando de estandarizarlos; no estando por demás comparar con medidas de color sensoriales, ya que el color es una percepción propia del humano y por lo tanto, bajo buenas condiciones de evaluación, los resultados son muy confiables y se pueden cometer menos errores que utilizando instrumentos. Además para las medidas de color los instrumentos deben estar bien calibrados, caso contrario los errores pueden ser grandes. De esta manera, es probable que se pueda llegar a utilizar al color como un parámetro de medida objetivo y cuantificable en la tecnología de alimentos.

CAPITULO # 4

MATERIALES Y METODOS

4.1. METODOLOGIA DE INVESTIGACION.

La forma como se encaminó este trabajo de investigación para obtener los resultados y alcanzar los objetivos establecidos, puede ser resumida de la siguiente manera:

1. Idea preliminar de un tema de investigación.
2. Revisión preliminar de bibliografía y de recursos disponibles.
3. Propuesta de un tema de investigación.
4. Planteamiento de objetivos reales, medibles y concretos.
5. Establecimiento de un cronograma de trabajo.
6. Investigación bibliográfica sobre la temática de investigación.
7. Planteamiento de un diseño experimental de pruebas.
8. Desarrollo de técnicas y metodologías requeridas en la investigación.
9. Ejecución de pruebas experimentales según el diseño planteado.
10. Obtención de resultados.
11. Análisis, interpretación y discusión de los resultados.
12. Elaboración de conclusiones y recomendaciones.
13. Proyección de posibles temas de investigación.

4.2 VARIABLES OBJETO DE ESTUDIO.

Para alcanzar los objetivos establecidos al inicio del proyecto se definieron las siguientes variables:

- 1) Los tres químicos utilizados como antioxidante: Acido Ascórbico, Metabisulfito y Acido Cítrico. Se escogieron estos porque son más citados como efectivos para evitar el pardeamiento en la bibliografía consultada.
- 2) Las dos concentraciones de cada antioxidante: 1 % y 0,5 %. Seleccionadas en base a la bibliografía y al uso que les dan ciertas industrias.
- 3) Las dos temperaturas de las soluciones: 30 y 40° C. La primera, por ser la temperatura normal de trabajo (temperatura ambiente de la costa) y la segunda se utiliza, como referencia por ser próxima a la temperatura óptima de la enzima (43°C).
- 4) Los dos tiempos de inmersión: 5 y 10 minutos. Tomados para conocer su influencia para efectos prácticos de trabajo.

Todas estas variables son consideradas en el Tratamiento Antioxidante para evitar el pardeamiento del banano y se correlacionan unas con otra es decir, ácido cítrico 1% por 5 min. de inmersión a 30°. De tal manera que si se relacionan todas las variables se tiene un total de 24 tratamientos (3x2x2x2) ; o sea, 24 muestras. Si esto se multiplica por dos réplicas (debe ser como mínimo) se tiene un total de 48 pruebas realizadas.

A cada muestra de harina de banano se le realizaron las determinaciones de color, azúcares reductores, no reductores y carbohidratos totales. El color se midió con la finalidad de conocer la influencia de cada tratamiento en el pardeamiento del banano. Las determinaciones de azúcares se realizaron con el propósito de conocer si existe alguna influencia de los azúcares reductores (glucosa y fructosa) en el pardeamiento (Vía Maillard por ejemplo) y si el grado de hidrólisis del almidón que puede causar alguno de estos tratamientos, podría inducir al oscurecimiento del producto por aumento de los azúcares simples reactivos.

También se estudió la ganancia de agua y la pérdida de sólidos solubles del banano durante la inmersión en la solución blanqueadora (Tratamiento Antioxidante) en diferentes tiempos (5 y 10 min.), así como también el porcentaje de agua perdido durante el escurrido de las rodajas de banano (1, 3 y 5 min.)

Además se establecieron ciertos parámetros del proceso como óptimos para el estudio.

4.3. MATERIALES.

Para este estudio se utilizó como materia prima el banano completamente verde (cáscara) y que tenía una pulpa color blanco tiza; variedad *Musa cavendish*. Este fue adquirido en ocasiones en los mercados locales (rechazo de exportación) y en otras en las haciendas bananeras y la empresa TROPIFRUTAS. Se utilizó banano fresco para la mayoría de las pruebas; sin embargo, en algunos casos por la dificultad de conseguir la fruta en este estado fisiológico se realizó las pruebas con banano guardado en refrigeración hasta por una semana a 12 - 14° C, sin observar ningún cambio desfavorable.

Los químicos utilizados: Ácido Ascórbico, Metabisulfito de Sodio y Acido Cítrico, eran de grado alimenticio adquirido a distribuidores locales por su precio razonable y buena calidad.

En cuanto a los equipos y utensilios utilizados en el desarrollo de este proyecto, se los puede agrupar en aquellos usados en la elaboración de harina (Planta) y los utilizados en las determinaciones de laboratorio.

PLANTA

Materiales

- Mesas de acero inoxidable.
- Cuchillas y tablas plásticas.
- Rebanadora manual ajustable.
- Ollas de 2-4 lt. de capacidad.
- Beakers 1000 ml.

Equipos

- Estufa con circulación de aire.
- Molino eléctrico.
- Baño María.
- Balanza digital Sartorius (0,1 g).
- Selladora al vacío

- Cronómetro fisherbrand 1/5 seg.
- Termómetro digital Accu-Tuff 0,1°C.
- Mallas plásticas y bandejas.
- Tamiz mesh 50.
- Fundas de polietileno.
- Bernier o pie de rey.



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

LABORATORIO

Materiales

- Beakers de 100, 250 y 500 ml.
- Pipetas graduadas de 5 y 10 ml.
- Pipetas volumétricas de 5, 20 y 50 ml.
- Embudos.
- Matraces aforados de 100, 200, 250 y 500 ml.
- Peras.
- Refrigerantes de bola y mangueras.
- Fiolas de 100, 125 y 500 ml.
- Agitadores magnéticos y vidrios reloj.
- Buretas de 50 ml.
- Espátulas y varillas de vidrio.
- Telas de lino y papel Wathman No. 1.

Equipos

- Balanza digital Sartorius (0,0001 g).
- Colorímetro Minolta CR-200.
- Planchas calefactoras con y sin agitación magnética.
- Estufa Fisher Scientific I 5°C.
- PH metro digital.

REACTIVOS

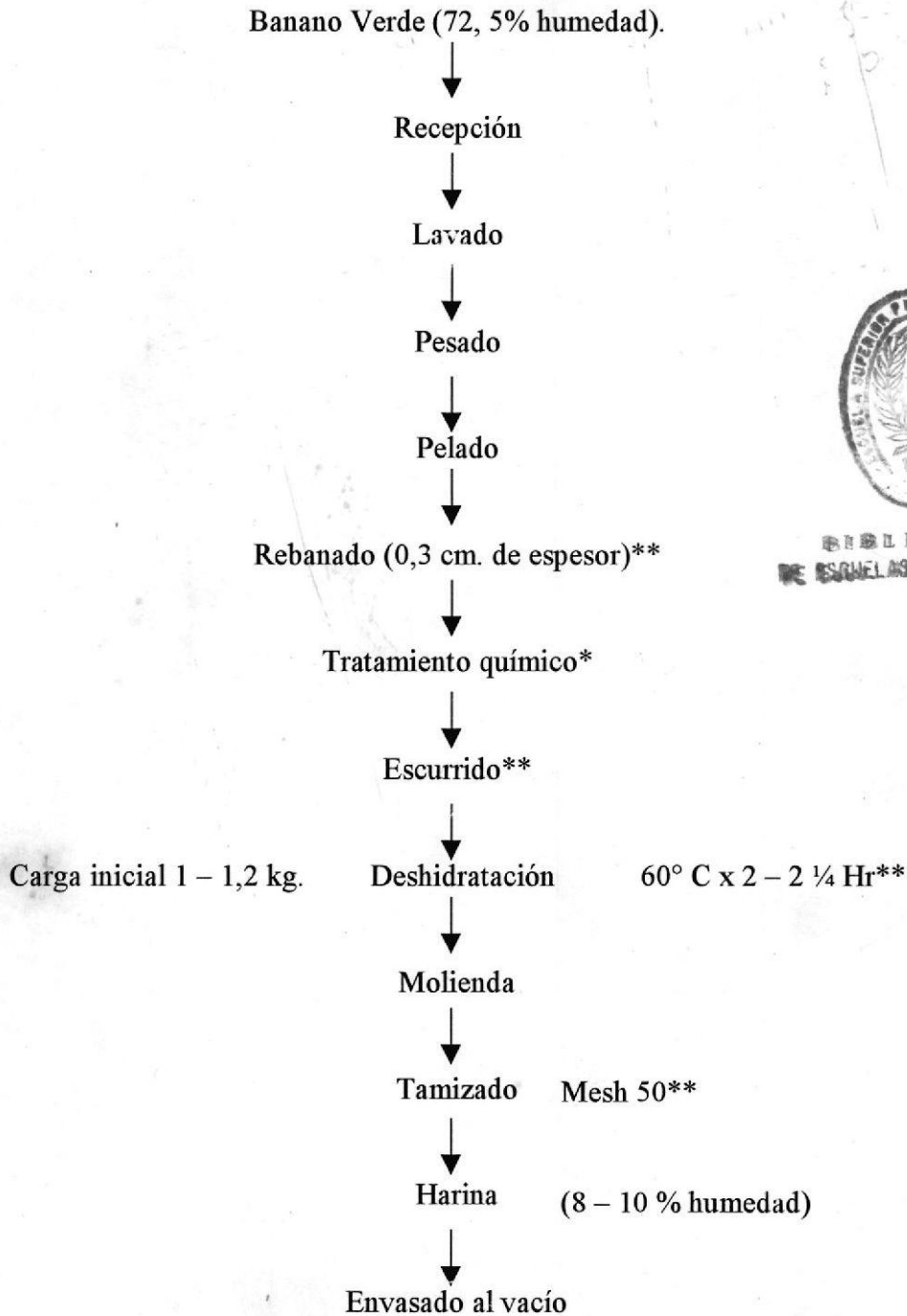
- Ácido clorhídrico concentrado. Grado químico Merk.
- Tartrato de sodio y potasio pentahidratado. Grado químico J.T. Baker.
- Hidróxido de sodio en lentejas. Grado químico Merk.
- Azul de metileno.
- Tirillas indicadoras de pH. J.T. Baker.

27

4.4. METODOS.

4.4.1. ELABORACIÓN DE HARINA DE BANANO.

Para la obtención de las harinas sometidas a los diferentes tratamientos antioxidantes se tomó como base el proceso descrito por Calle (1979) y fue adaptado a las condiciones del estudio. Con las modificaciones realizadas, el proceso se resume en el siguiente diagrama de flujo:



* Etapa objeto de estudio.

** Modificaciones de parámetros.

Descripción.- El Banano verde al llegar se lavaba y luego era pesado para sacar rendimientos. Al realizar las pruebas se pelaba manualmente con un cuchillo e inmediatamente se sumergía en agua mientras se retiraba la cáscara a otras frutas, luego se procedía a rebanar en un rebanadora manual previamente calibrada (rodajas de 0,3 cm.) con un bernier, las rebanadas caían a un recipiente con agua para evitar el oscurecimiento y hacer uniforme el tratamiento químico. Seguidamente las rebanadas eran sometidas al tratamiento antioxidante sumergiéndolas en las soluciones de los químicos; un parámetro que se mantenía constante era la relación pulpa-solución siendo de 360-400 g/lt. de solución (3 bananos grandes o medianos y 4 pequeños cumplían esta condición), mientras que el tipo de químico, la concentración, la temperatura y el tiempo de inmersión eran objeto de estudio. Luego de la inmersión se procedía a colocar las rodajas de banano en mallas plásticas donde se dejaba escurrir por un tiempo determinado. Posterior a esto se colocaba las mallas con banano en la estufa y se procedía a deshidratar a 60°C por 2 - 2 ¼ H. El producto obtenido se molía mediante un molino eléctrico y luego se cernía en un tamiz mesh 50 con el fin de uniformizar su granulometría. La harina así obtenida era envasada en fundas de polietileno, las mismas que se sellaban al vacío para evitar que el oxígeno catalice alguna reacción de oxidación y además para que no gane humedad del ambiente.

Las muestras de harina de cada tratamiento se guardaban en fundas negras y lugares oscuros para evitar cualquier influencia de la luz, hasta el momento de los análisis.

4.4.2. DETERMINACION DE COLOR.

Para la determinación de color de las harinas se utilizó un colorímetro Minolta CR-200. El sistema de medida utilizado es el CIELAB (L*, a*, b*) con el iluminante C ya que el producto debe encontrarse al resguardo de la luz solar. La técnica para medida de color es la siguiente:

DETERMINACION DE COLOR EN HARINAS DE BANANO.

1. Pesar 5 gr. de harina de banano.
2. Mezclar con 45 ml de agua.
3. Disolver hasta formar una suspensión homogénea.
4. Realizar inmediatamente las lecturas de color en un colorímetro Minolta Cr-200* previamente calibrado.
5. Analizar los resultados.

NOTA: * Es preferible ajustar el equipo para que realice 3 destellos que corresponden a 3 lecturas y de el promedio, de esta forma se disminuye la dispersión de los datos.

INTERPRETACION Y ANÁLISIS DE LAS LECTURAS.

El equipo imprime o da tres lecturas L*, a*, b*, las cuales pueden graficarse en un sistema de coordenadas tridimensional, sin embargo es preferible analizarlas por separado L* de a* y b*. L* denota la claridad o luminosidad, indicando con un valor de 100 como máximo al color blanco y de 0 para el color negro, como mínimo; por lo tanto, se puede interpretar que mientras mayor sea L menos oscura o parda será la

harina y viceversa. Por esta razón L^* es el parámetro útil. a^* y b^* constituye la cromaticidad (croma), es decir el color en el cual las harinas se encuentran, por lo general como al hacer la dilución de las harinas en agua la coloración de la suspensión es parda y poco colorida, al graficar las coordenadas caen dentro de un color gris más o menos claro dependiendo del L .

El gráfico en el cual pueden representarse L^* , a^* y b^* es el siguiente:

4.4.3. DETERMINACION DE AZUCARES.

Existen numerosos métodos para cuantificar los carbohidratos en los alimentos, entre ellos los métodos polarimétricos, sacarimétricos, aquellos basados en la reducción del cobre, métodos químicos, cromatográficos y enzimáticos, todos citados en bibliografía especializada (24, 25, 26, 27).

Para la selección o desarrollo de las técnicas hay que tomar en cuenta el tipo de determinación, exactitud, rapidez, costos y sobre todo la composición química del alimento. Es necesario además, considerar el fundamento de los métodos, ya que basado en aquello, los técnicas específicas para cada alimento pueden variar.

En este estudio debido a la disponibilidad de recursos se optó por la determinación de azúcares por la técnica de Lane y Eynon que se ubica dentro de los métodos de reducción del cobre. Sin embargo la técnica de partida fue modificada para cada análisis considerando la composición química de la harina.

Siendo entre los carbohidratos presentes en la harina el principal el almidón, teniendo además azúcares simples reductores (glucosa, fructosa, maltosa) y no reductores (sacarosa), había que transformar las azúcares no reductores como el almidón y la sacarosa a sus monosacáridos reactivos (que tienen propiedades reductoras) para poder cuantificarlos, esto se realizó con ácido clorhídrico en ebullición. En la determinación de azúcares reductores y no reductores hubo que diferenciarlos del almidón por su solubilidad (los azúcares simples se disuelven fácilmente mientras que el almidón nativo no) en un medio acuoso y se determinó antes de la inversión con ácido (reductores) y luego de la inversión (no reductores).

Se comprobó que los métodos desarrollados tenían una exactitud aceptable para los fines de la investigación. Esto se realizó utilizando almidón soluble como estándar. En cuanto a la rapidez de la determinación es muy buena si se compara con la técnica original.

De las tres determinaciones, los azúcares reductores sirven para conocer si éstos pueden contribuir al pardeamiento en forma directa, mientras que las otras dos se utilizan para encontrar por diferencia el almidón y ver el grado de hidrólisis causado por los diferentes tratamientos como se mencionó anteriormente.

Se desarrollaron tres técnicas análisis, la técnica para determinar azúcares totales se basa en la indicada por R. Lees para la determinación de almidón. Las otras dos se fundamentaron en los métodos descritos por Kirk y colaboradores y Fisher, así como en técnicas proporcionadas por un laboratorio particular. Estas técnicas son descritas a continuación.

DETERMINACION DE CARBOHIDRATOS TOTALES EN HARINA DE BANANO

FUNDAMENTO:

Conversión de los azúcares no reductores (almidones, sacarosa) a reductores por hidrólisis con ácido clorhídrico concentrado y altas temperaturas. Luego determinación de los azúcares por reducción del sulfato cúprico (azul) a sulfato cuproso (rojo ladrillo) según el método de Lane y Eynon.

PROCEDIMIENTO:

- Pesar 0,94 g de harina de banano con aproximación de 0,1 mg.
- Llevar a una fiola de 500 ml de cuello esmerilado con ayuda de 100 ml de agua destilada
- Añadir 7 ml de HCl concentrado.
- Llevar a ebullición con reflujo por una hora.
- Enfriar.
- Neutralizar con NaOH 10%
- Filtrar a través de papel filtro a un matraz de 500 ml
- Enrasar con agua destilada
- Determinación de azúcares por el método de Lane & Eynon. En fiolas de 100-125 ml colocar 5 ml de Fehling A y 5 ml de Fehling B más 40 ml de agua destilada.

Cálculos:

$$\text{Azúcar} = \frac{\text{Factor} * \text{mg azúcar/100 ml disolución}}{\text{ml consumidos}}$$

$$\% \text{Azúcar} = \frac{\text{mg azúcar} * 500}{\text{mg peso muestra}}$$



Notas: * El factor se ve en la tabla de Pearson para 10 ml. de solución Fehling. Debido a que este método es empírico, sus pasos deben respetarse con exactitud, ya que fue establecido luego de varias pruebas.

DETERMINACION DE AZUCARES REDUCTORES

FUNDAMENTO:

Determinación de los azúcares reductores (glucosa, fructosa), extraídos por dilución en agua, mediante la reducción del sulfato cúprico (azul) a sulfato cuproso (rojo - naranja) según el método de Lane & Eynon.

PROCEDIMIENTO:

- Pesar 50g de harina en un beacker de 250 ml
- Agregar agua destilada y disolver con ayuda de un agitador hasta eliminar los grumos formados.
- Trasvasar a un matraz aforado de 500 ml
- Enrasar a 500 ml y mezclar el contenido.
- Dejar reposar durante la noche (aproximadamente 18 horas)

Para determinar azúcares reductores tomar aproximadamente de 100-150 ml del sobrenadante y realizar una determinación de azúcares reductores por el método de Lane & Eynon. Para esto proceda de la siguiente forma:

- a. Prepare una solución de 5 ml de Fehling A más 5ml de Fehling B y 40ml de agua destilada en una fiola de 125ml *.
- b. Coloque 50 ml del sobrenadante en una bureta.
- c. Titule desde la bureta en frío con 15ml de la solución azucarada y luego proceda a calentar la fiola con la solución Fehling hasta llegar a ebullición, en ese momento añada de 4-6 gotas de azul de metileno y continúe la titulación en caliente hasta que aparezca una coloración rojo - anaranjado.

Nota.

- Durante la titulación debe mantenerse una agitación constante.
- Durante la ebullición se forma gran cantidad de espuma que puede llegar a rebosar la fiola, para evitarla colocar cera rayada (vela) o perlas de vidrio.

Cálculos:

$$\text{Azúcar} = \frac{\text{Factor} * \times 100}{\text{ml consumidos}} \quad (\text{mg azúcar}/100 \text{ ml disolución})$$

$$\% \text{azúcar reductor} = \frac{\text{mg azúcar (1)} \times 500}{\text{mg peso muestra}}$$

DETERMINACION DE AZUCARES NO REDUCTORES

FUNDAMENTO:

Disolución de los azúcares no reductores de la harina de banano en agua, luego hidrólisis de los mismos con ácido clorhídrico concentrado y altas temperaturas para obtener azúcares reductores, los cuales son determinados por reducción del sulfato cúprico a sulfato cuproso por la técnica de Lane & Eynon.

PROCEDIMIENTO:

- Pesar 50g de harina en un beacker de 250 ml
- Agregar agua destilada y disolver con ayuda de un agitador hasta eliminar los grumos formados.
- Trasvasar a un matraz aforado de 500 ml
- Enrasar a 500 ml y mezclar el contenido.
- Dejar reposar durante la noche (aproximadamente 18 horas)

Para determinar azúcares no reductores tomar una alícuota de 150 ml del sobrenadante y llevar a una fiola de cuello esmerilado de 500 ml.

- a. Agregar 4 ml de HCl conc. y llevar a ebullición por 45 minutos en reflujo
- b. Enfriar y neutralizar con NaOH al 10 o 15% cuidando de no pasar de 200 ml. Puede neutralizarse inicialmente con NaOH 45.45% (Soda Kendal) a fin de consumir menos solución hasta un punto cercano a la neutralidad y luego continuar neutralizando con NaOH 10%
- c. Filtrar a través de papel filtro Watman #1 en un matraz de 200 ml,
- d. Enrasar con agua destilada.
- e. Determinar el contenido de azúcares por el método de Lane & Eynon descrito anteriormente.

Cálculos:

$$\text{Azúcar} = \frac{\text{Factor} * \text{ml consumidos}}{\text{ml consumidos}} \quad (\text{mg azúcar}/100 \text{ ml disolución})$$

$$\% \text{azúcar no reductor} = \frac{\text{mg azúcar} \times 200}{\text{mg peso muestra}} = 2$$

$$\% \text{azúcar no reductor} = \frac{\text{resultado 2} \times 500}{150} - \% \text{azúcar reductor}$$

Nota: * El factor utilizado es el valor dado por la técnica de Lane & Eynon.



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

DETERMINACION DE ALMIDON

Se determina por diferencia entre los carbohidratos totales menos los azúcares reductores y no reductores por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Almidón} = \% \text{carbohidratos totales} - \% \text{azúcares reductores} - \% \text{ azúcares no reductores}$$

4.4.4. ESTABLECIMIENTO DE PARAMETROS DE PROCESO.

Se establecieron varios parámetros en la elaboración de harina de banano como: Tiempo de escurrido de la solución luego del tratamiento autooxidante, espesor de las rodajas de banano y relación tiempo- temperatura de deshidratación.

Para establecer el tiempo de escurrido se consideró que debe ser tal, que permita una eliminación del agua en exceso del banano. Esto se realizó mediante varias pruebas (1, 3 y 5 min. de escurrido) en las que se determinó la humedad del banano fresco, sumergido, escurrido y deshidratado.

En cuanto al espesor este se determinó de tal manera que permita una rápida deshidratación del banano, y como está estrechamente relacionado con el tiempo y la temperatura de deshidratación, se realizaron pruebas de deshidratación a diferentes espesores (0.7; 0.5 y 0.3 cm) de las rodajas en las cuales se hizo un seguimiento del porcentaje de humedad Vs. el tiempo a 60 ° C. Para de esta manera establecer el tiempo exacto en el cual el banano llega a un 8 – 10 % de humedad.

Otras mediciones realizadas son presentadas a continuación con sus respectivos métodos:

- | | |
|----------------------------|--------------------------|
| - Humedad en harinas | INEN 518 (Anexo 12) |
| - Humedad en banana fresco | Método de la estufa |
| - Sólidos solubles | Refractométrico |
| - pH en harina de banano | INEN 526 |
| - pH en banano | pH metro digital (0.01) |



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

CAPITULO 5

RESULTADOS

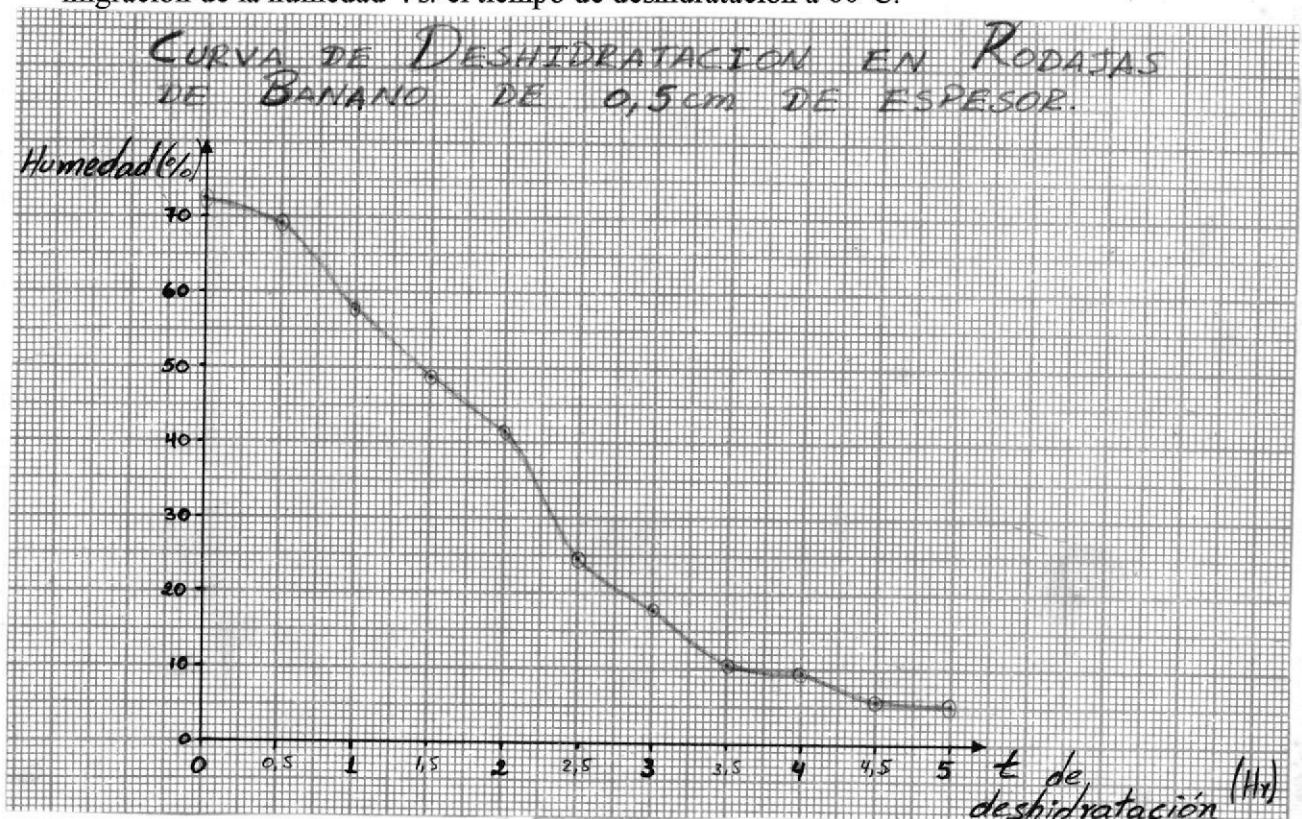
5.1 PARAMETROS ESTABLECIDOS EN EL PROCESO.

Inicialmente se estableció la humedad promedio del banano fresco, luego de varias determinaciones se encontró que era de $72,36 \pm 1,19 \%$ lo que se aproxima a lo indicado por Charley (15) el cual cita para el banano un 73 % de agua.

El tiempo de escurrido quedó establecido en 3 minutos ya que no se observó una diferencia lógica y apreciable entre los tres tiempos considerados 1, 3 y 5 minutos; siendo escogidos los tres minutos por razones de forma de trabajo. En el siguiente cuadro se muestra el porcentaje de humedad en los diferentes tiempos de escurrido.

Tiempo de escurrido (min.)	Porcentaje de humedad
1	74,87
3	73,95
5	74,51

El espesor se estableció en 0,3 cm. con un tiempo de deshidratación de 2-2 ¼ horas a 60°C para alcanzar de 8 a 10% de humedad en la harina. Se presenta una curva de la migración de la humedad Vs. el tiempo de deshidratación a 60°C.



En cuanto a los sólidos solubles perdidos durante la inmersión en la solución del tratamiento antioxidante se determinó que la pérdida es del 0,2%. La ganancia de agua en esta misma etapa corresponde de 1,3 a 2,3%, sin encontrar diferencias significativas entre los diferentes tiempos de inmersión (5,10 y 15 min.). Por lo tanto, para los fines del estudio se escogieron 5 y 10 min. ya que 15 min. se consideró mucho tiempo.

5.2 AZUCARES.

Las medidas de azúcares totales, reductores y no reductores, así como las de almidón en los diferentes tratamientos son las siguientes:

PORCENTAJE DE CARBOHIDRATOS TOTALES, AZUCARES REDUCTORES, NO REDUCTORES Y ALMIDON EN HARINA DE BANANO TRATADA CON DIFERENTES ANTIOXIDANTES

Metabisulfito de sodio

Tratamiento	Concentración (%)	% CHO		% Azúcares Reductores		% Azúcares no Reductores		% Almidón	
30°C x 5 min.	1	81,09	82,99	1.18	3.17	0.37	0.037	79.54	79.78
	0,5	82,35	82,10	1	4.22	0.35		81	
30°C x10 min.	1	81,36	81,48	0.92	2.20	0.45	0.23	79.99	79.05
	0,5	82.37	82.78	0.94	3.62	0.44		80.99	
40°C x 5 min.	1	81.08	87.57	1.22	2.57	0.76	0.22	79.1	84.78
	0,5	83,32	83.58	0.82	1.67	0.65	0.37	81.85	81.54
40°C x10 min.	1	80.72	79.86	0.89	1.83	0.74	0.195	79.09	77.84
	0,5	78.97	83.71	0.41	1.57	0.77	0.21	77.79	81.93

Acido Cítrico

Tratamiento	Concentración (%)	% CHO		% Azúcares Reductores		% Azúcares no Reductores		% Almidón	
30°C x 5 min.	1	83,11	76.4	1,77	4.14	0,155	2.65	81,18	69.61
	0,5	79,94	76.38	1,34	3.48	0,25	2.04	78,35	70.86
30°C x10 min.	1	83,14	76.61	1,97	3.25	0,1	1.89	81,07	71.47
	05	82,78	79.04	1,89	8.19	0,55	1.54	80,34	69.31
40°C x 5 min.	1	86,06	76.22	1,21	6.25	0,45	2.19	84,40	67.78
	0,5	85,04	76.58	1,26	5.44	1,24	2.74	82,54	68.4
40°C x10 min.	1	73,92	81.27	1,54	5.02	0,54	0.71	71,84	75.54
	0,5	76,02	81.47	1,45	3.9	0,72	1.67	73,85	75.9

Ácido Ascórbico

Tratamiento	Concentración (%)	% CHO		% Azúcares Reductores		% Azúcares no Reductores		% Almidón	
30°C x 5 min.	1	79.63	79.02	1.56	1.07	1.99	0.6	76.08	77.35
	0,5	79.73	78.91	0.83	1.37	0.18	0.3	78.72	77.24
30°C x10 min.	1	77.98	82.06	2.55	1.16	0.11	0.57	75.32	80.33
	0,5	80.88	80.87	2.66	1.25	0.27	0.35	77.94	79.27
40°C x 5 min.	1	78.73	79	1.3	1.84	0.92	0.05	76.51	77.11
	0,5	83.58	84.17	1.33	1.97	0.87	0.89	81.38	81.31
40°C x10 min.	1	79.45	82.4	1.97	1.65	0.45		77.03	
	0,5	80.36	84.13	1.3	1.91	0.71	0.11	78.35	82.11

Para el análisis de estos datos se los ha agrupado de la siguiente manera:

Tratamiento Químico

	Metabisulfito	Ácido Cítrico	Ácido Ascórbico
Carbohidratos Totales (%)	82,2	79,62	80,68
Az. Reductores (%)	1,76	3,25	1,6
Az. No Reductores (%)	0,41	1,21	0,56
Almidón (%)	80,3	75,15	78,40

Antioxidante Vs. Concentración.

	Metabisulfito		Ácido Cítrico		Ácido Ascórbico	
	1%	0,5%	1%	0,5%	1%	0,5%
Carbohidratos Totales (%)	82,02	82,40	79,6	79,65	79,78	81,58
Az. Reductores (%)	1,74	1,78	3,14	3,37	1,63	1,57
Az. No Reductores (%)	0,37	0,46	1,08	1,34	0,67	0,46
Almidón (%)	79,9	80,85	75,36	74,94	77,1	79,54

Antioxidante Vs. Temperatura.

	Metabisulfito		Ácido Cítrico		Ácido Ascórbico	
	30°C	40°C	30°C	40°C	30°C	40°C
Carbohidratos Totales (%)	82,6	82,35	79,67	79,57	79,88	81,47
Az. Reductores (%)	2,15	1,37	3,25	3,26	1,55	1,66
Az. No Reductores (%)	0,31	0,49	1,14	1,28	0,54	0,57
Almidón (%)	80,06	80,49	75,31	75,03	77,78	79,11

Antioxidante Vs. Tiempo de Inmersión.

	Metabisulfito		Ácido Cítrico		Ácido Ascórbico	
	5 min.	10 min.	5 min.	10 min.	5 min.	10 min.
Carbohidratos Totales (%)	83,01	81,4	79,96	79,28	80,34	81,01
Az. Reductores (%)	1,98	1,54	3,11	3,4	1,4	1,8
Az. No Reductores (%)	0,39	0,43	1,46	0,96	0,72	0,36
Almidón (%)	81,08	79,51	75,39	74,91	78,21	78,62

Se puede observar que el ácido cítrico es el que ha causado mayor hidrólisis en el almidón de los 3 químicos, ya que en las muestras tratadas con este antioxidante poseen un alto contenido de azúcares reductores y bajo contenido de almidón en comparación con los otros 2 químicos, mientras que su contenido de azúcares totales es similar al resto de las muestras. Entre los otros antioxidantes no se pueden observar una diferencia apreciable. En cuanto a la influencia de la temperatura, concentración y tiempo de inmersión en la solución del antioxidante, no se pudo encontrar diferencias apreciables entre las muestras de los diferentes tratamientos, además si existe, alguna no tiene lógica por lo cual han sido subestimados en este estudio.

Las causas por las que no se logró encontrar una diferencia significativa entre las muestras de los diferentes tratamientos son:

1. La gran variabilidad en la composición química de la materia prima, hace que exista una diferencia apreciable entre muestras de los mismos tratamientos y diferentes réplicas. Esto ocurre a pesar de que la variedad, calidad y grado de madurez del banano es la misma para todas las pruebas; además se sigue estrictamente las condiciones del proceso de elaboración de harina.
2. La sensibilidad de los métodos para determinar azúcares.

De las mediciones realizadas se desprende un dato muy interesante, como el contenido medio de carbohidratos totales en las muestras de harina de banano que es $80,83 \pm 1,06\%$, este resultado no se ve influenciado por los diferentes tratamientos y por lo tanto es útil como promedio. Dicho parámetro es comparable con el citado por Calle (1979) para harina de banano que es $82,2\%$.

5.3. COLOR.

Los resultados de las medidas se resumen en la siguiente tabla.

MEDIDAS DE COLOR EN MUESTRAS DE HARINA DE BANANO TRATADAS CON DIFERENTES ANTIOXIDANTES

Ácido cítrico

			PRIMERA REPLICA			SEGUNDA REPLICA		
Tratamiento			L	a	b	L	a	b
30°C	0,5 %	5 min.	51,21	1,43	7,93	60,27	-0,46	10,20
	1 %	5 min.	53,83	0,67	9,25	56,73	-1,00	10,76
	0,5 %	10 min.	54,20	0,82	9,89	59,20	-0,17	8,64
	1 %	10 min.	47,01	0,74	7,48	56,71	-0,45	9,07
40°C	0,5 %	5 min.	52,11	0,81	8,27	59,26	0,31	7,18
	1%	5 min.	55,95	0,49	10,40	59,08	0,25	7,70
	0,5 %	10 min.	52,45	0,53	9,03	57,36	0,74	8,20
	1%	10 min.	56,85	0,48	8,97	56,99	0,48	9,50

Ácido Ascórbico

			PRIMERA REPLICA			SEGUNDA REPLICA		
Tratamiento			L	a	b	L	a	b
30°C	0,5 %	5 min.	50,29	7,14	12,26	57,52	1,99	11,12
	1 %	5 min.	53,05	6,74	10,42	51,49	4,81	12,89
	0,5 %	10 min.	53,50	6,52	14,15	52,52	3,85	12,27
	1 %	10 min.	52,31	6,72	9,42	52,88	3,37	11,22
40°C	0,5 %	5 min.	52,07	6,25	12,40	54,04	4,38	12,22
	1%	5 min.	36,85	4,04	6,02	52,90	1,90	14,92
	0,5 %	10 min.	52,06	7,47	12,43	53,58	4,11	10,78
	1%	10 min.	51,75	8,95	13,23	52,96	4,15	13,52

Metabisulfito de sodio

			PRIMERA REPLICA			SEGUNDA REPLICA		
Tratamiento			L	a	b	L	a	b
30°C	0,5 %	5 min.	64,55	-1,04	9,24	60,04	-1,38	17,32
	1 %	5 min.	64,41	-1,85	11,10	54,85	-2,30	12,74
	0,5 %	10 min.	64,92	-1,27	9,83	60,76	-1,36	7,82
	1 %	10 min.	59,53	-1,36	5,06	64,14	-1,91	17,05
40°C	0,5 %	5 min.	62,34	-1,89	10,16	59,43	-0,90	4,83
	1%	5 min.	65,20	-2,27	13,45	56,84	-1,07	5,12
	0,5 %	10 min.	62,18	-2,10	13,17	63,82	-0,18	7,19
	1%	10 min.	61,32	-1,32	9,38	65,06	-2,22	13,14

Se analizó los resultados en base de la coordenada L^* y se encontró que en general el químico más efectivo es el metabisulfito con un valor $L^* = 61.83$, seguido del ácido cítrico con $L^* = 55.57$ y finalmente el ácido ascórbico con $L^* = 51.86$ como promedio. Como se observa estos resultados no permiten visualizar una gran diferencia entre los químicos entre los tratamientos, algo que no era muy notorio al apreciar el color sensorialmente, en especial en las muestras tratadas con ácido ascórbico. Sin embargo concuerdan con la bibliografía citada sobre el pardeamiento.

No se pudo apreciar una diferencia significativa entre los tratamientos. Las causas pueden ser:

- Las lecturas de color no son directas sino en una suspensión acuosa de las mismas. Si se deja pasar algunos segundos más que otra muestra, la suspensión como no es homogénea tiende a precipitarse y los gruesos a flotar, esto da la apariencia de que la suspensión es más blanca que lo real y por ende se puede suponer que la harina es menos parda lo que no es correcto.
- Las medidas dependen de la solubilidad de las muestras, ya que deben formarse una suspensión lo más homogénea posible antes de las determinaciones de color. Así, las muestras tratadas con metabisulfito y ácido cítrico presentan serias dificultades para disolverlas y por lo tanto puede afectar su medida.

Los parámetros a^* , b^* no se tomaron en cuenta en el análisis de los resultados, pero con ellos se puede conocer dentro de que rango de color caen las muestras de harina. Al graficar dichas coordenadas se obtienen que las muestras son de color gris o que tienen poca saturación de color tendiendo las del ácido ascórbico al color rojo y las otras dos al amarillo. Esto se puede observar en las harinas debido a que tienen poco color, pero en el rango de cromaticidad en el que cae no es cierto, pues hay que recordar que las mediciones son realizadas en suspensiones acuosas y no en las harinas.

No se encontró ninguna correlación entre la degradación del almidón a azúcares reductores con el pardeamiento. Esto permite concluir que no hay mayor influencia del pardeamiento no enzimático en el procesamiento del banano para harina. Siendo el principal el enzimático, el cual debe evitarse.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Lo que más he aprendido en este proyecto es la forma de trabajo para llevar a cabo una investigación, lo cual es importante si se considera que al nivel industrial hay numerosos problemas que deben ser investigados para resolverlos.
- Es necesario que se incentive la investigación en los estudiantes de esta carrera, porque permite ampliar sus conocimientos y reafirmar los que poseen.
- Creo conveniente estrechar nuestra relación con las empresas del área alimenticia para que nos planteen sus problemas y estos sean temas de investigación de los estudiantes, de tal forma que se daría solución a problemas reales, ayudando al crecimiento del industria alimenticia. Además dichos estudios quedarían como una base de nuevos conocimientos más prácticos, reales y acorde con el medio en el que nos desenvolvemos.
- Se ha confirmado los resultados reportados en la bibliografía respecto a la prevención del pardeamiento, esto es, la mayor efectividad de metabisulfito de sodio en sus diferentes concentraciones, seguido por el ácido cítrico y finalmente el ácido ascórbico.
- Si bien es cierto que no se pudo obtener un tratamiento específico que al combinar todas las variables estudiadas resulte efectivo según la medición de color, se puede recomendar en base a lo observado en las pruebas y a las experiencias adquiridas, los siguientes tratamientos: metabisulfito de sodio al 0,5% por 5 ó 10 min. de inmersión a 30°C (temperatura ambiente) y ácido cítrico al 0,5% por 5 ó 10 min. de inmersión a 30°C. No se recomienda utilizar el ácido ascórbico bajo ninguna condición, porque este se autooxida y causa un pardeamiento rosado indeseable. Tampoco es aconsejable usar el metabisulfito y ácido cítrico a concentraciones del 1% ya que el primero provee un sabor a azufre a la harina y el segundo provoca una elevada acidez indeseable en el producto (efecto observado en coladas).



- Se confirmó en parte que la principal causa del pardeamiento del banano al elaborar harina es el enzimático, y que el no enzimático no contribuye mayormente a la formación de pigmentos oscuros en el producto. Esto resulta obvio si se considera que el banano verde apenas posee azúcares reductores de un 0,1 a 1% y proteínas 1.3%, y siendo la temperatura de proceso 60°C es muy poca la probabilidad de que dicho oscurecimiento afecte en forma significativa al color del producto. Sin embargo hay que destacar que los químicos utilizados interfieren en la valoración independiente de ambos tipos de pardeamiento, así el metabisulfito y el ácido cítrico inhiben tanto el enzimático como el no enzimático, mientras que el ácido ascórbico retarda el enzimático y contribuye al no enzimático, existe entonces la necesidad de cuantificar por separado cada uno, por ejemplo inhibiendo las enzimas por calor. Esto último puede ser tema de investigación futura.
- Otro posible tema de investigación es la influencia de los químicos antioxidantes en la solubilidad de las harinas, sobre todo si el uso de dicho producto requiere de una buena disolución. Esta propuesta surge de la dificultad que hay al preparar las diluciones para la medida de color.
- Las condiciones al proceso aquí definidas son al nivel de pruebas de laboratorio con fines de esta investigación, por lo tanto, solo pueden servir como referencia en procesos productivos reales en los cuales se deben considerar las condiciones imperantes, ya que son más complejas que las aquí descritas. Sin embargo pueden ayudar a dar una idea de los factores que se deben considerar.
- Para el desarrollo de una metodología investigativa y de técnicas de análisis hay que tener bien establecido el objetivo final, ya que es el punto de partida. Por esta razón es importante plantear objetivos realizables, medibles y reales. De este estudio algo importante que queda son las técnicas de análisis y la metodología desarrollada.

BIBLIOGRAFIA

1. Calvo, C. y Durán L. Propiedades Físicas II: Ópticas y Color. En: Temas en Tecnología de Alimentos. (Edit. por Aguilera, J. M.) Vol. I. CYTED. Instituto Politécnico Nacional. México 1.997. Pág. 261 – 268.
2. Tesis de Grado de Ingeniería en Alimentos. Estudios Cinético de una Reacción de Maillard Utilizando 2 Sustratos Nitrogenados y Dextrosa. UTA. Ambato.
3. Solé, P. Bananas (Processed). In Processing Fruit: Science and Technology. Vol. 2. Avi Publishing Company. 1996 Pag. 361 – 385.
4. Almanaque Mundial 1997. Estadística Mundial. Editorial Amércia. México D.F. 1.996.
5. Calle, F. Industrialización del Banano: Evaluación de Alternativas Tecnológicas. CENDES. Guayaquil. 1.979.
6. Soto, M. Bananos: Cultivo y Comercialización. Primera Edición. San José, Costa Rica. 1.985. Pág. varias.
7. Pantastico, Er. B. Postharvest Physiology, Handling and Utilization of Tropical and Subtropical Fruit and Vegetables. Avi Publishing Company. Westport, Connecticut. 1.995. Pág. varias.
8. García, L. Informe de Prácticas Industriales. PROTAL – ESPOL. Guayaquil. 1.997.
9. Lee, F. A. Basic Food Chemistry. Avi Publishing Company. Westport, Connecticut. Second Edition. 1.983. Pág. 283 – 302.
10. Eskin, Henderson and Townsend. Biochemistry of Foods. Academic Press. USA. 1.971. Pág. 69 – 103.
11. Jansen, E. Enzymatic Browning. In: Encyclopedia of Food Technology. (Edit. Johnson, A. and Peterson, M.) Vol. II. AVI. Publising Company. Westport, Connecticut. 1.974. Pág. 130 – 133.
12. Shallenberger, R. S. Nonenzimatic Browning. In: Encyclopedia of Food Technology. (Edit. Johnson, A. and Peterson, M.) Vol. II. AVI. Publising Company. Westport, Connecticut. 1.974. Pág. 133 – 135.
13. Desroiser, N. Elementos de Tecnología de Alimentos. CECSA. México 1.995. Págs. 76 – 87.

14. Braverman, J. y Berk, Z. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Editorial Manuel Moderno. México 1.990. Pág. 267 – 291: 166 – 188.
15. Charley, H. Tecnología de Alimentos. Primera Edición. Editorial Limusa. México D.F. 1.991. Pág. varias.
16. Nelson, P. and Tressler, D. Fruit and Vegetable Juice Processing Technology. AVI. Publishing Company. Westport, Connecticut. Third Edition. 1.980. Pág. 408 – 413; 457 – 458.
17. Schmidt – Hebbel, H. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 1.973. Pág. varias.
18. Kramer and Twigg. Quality Control for the Food Industry. AVI. Publishing Company. Westport, Connecticut. 3rd. Edition. Vol. 2. 1973. Pág. 19 – 41.
19. Reed, G. Enzymes in Food Processing. Academic Press. USA. Second Edition. 1.975. Pág. 236 – 243.
20. Chorma Meter Cr-200. Instruction Manual. Minolta. 1.997.
21. Pecsok, R y Shields, L. Métodos Modernos de Análisis Químicos. Primera Edición. Editorial Linusa. México 1.973. Pág. varias.
22. Meydav, S. et. al. Browning Determination in Citrus Products. J. Agric. Food Chemical. Vol. 25. No. 3. 1.997.
23. Alvarado, J. de D. Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos. OEA. Radio Comunicaciones, División de Artes Gráficas. Quito – Ecuador. Pág. 73 – 83.
24. Hart, F. y H. Fisher. Análisis Moderno de los Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza - España. 1.971. Pág. 88 – 91.
25. Lees, R. Análisis Moderno de los Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza - España. 1.982. Pág. varias.
26. Kirk, R., et. al. Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. Segunda Edición. CECSA. México 1.996. Pág. varias.
27. Pearson, D. Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza – España 1.986. Pág. 71 – 83.
28. Hunter, R. S. Color. In: Encyclopedia of Food Technology. (Edit. Johnson, A. and Peterson, M.) Vol. II. AVI. Publishing Company. Westport, Connecticut. 1.974. Pág. 247 – 253.
29. Banco Central del Ecuador, Estadística Mensual.
30. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN.

ANEXOS

31

ANEXO 1

CUADRO 9.1

VALOR NUTRITIVO DEL BANANO (Maduro)*
(Datos dados para 100 g de pulpa)

Componente	Cantidad
Agua (g)	58-80
Fibra (g)	0,3 - 3,4
Almidón (g)	3,0*
Azúcar (g)	15,1 - 22,4*
Acidez total (meq)	2,9 - 9,1
Cenizas (g)	0,6 - 1,8
Grasas (g)	Trazas - 0,4
Proteínas (g)	1,1 - 2,7
Calorías (kcal)	77 - 116
Acido ascórbico (mg)	0 - 31
Carotenos (mg)	0,04 - 0,66
Tiamina (mg)	0,02 - 0,06
Riboflavina (mg)	0,02 - 0,08
Niacina (mg)	0,04 - 0,08
Acido fólico (µg)	10
Piridoxina (mg)	0,5
Vitamina A (UT, unidades intern.)	190
Calcio (mg)	7 - 22
Hierro (mg)	0,4 - 1,6
Fósforo (mg)	29
Sodio (mg)	1,0
Potasio (mg)	370,0

Fuente: Duckworth, 1968; Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norte América In Compañía Bananera de Costa Rica (1983), e INCAP-IC NND, 1961.



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

ANEXO 2

CARACTERISTICAS DEL BANANO DURANTE LA MADURACION

PARÁMETROS DE MADUREZ	1	2	3	4	5	6	7
Almidón (%)	17,73	13,68	8,76	4,96	2,65	1,73	0,82
Azúcares totales (%)	1,32	3,21	6,57	11,26	16,18	19,50	19,71
Azúcares reductores (%)	0,57	1,5	3,27	5,86	8,6	10,40	10,32
Sólidos solubles (°Brix)	4,96	7,29	12,28	17,78	20,81	22,10	22,61
pH	5,24	5,02	4,87	4,77	4,75	4,78	4,88
Acidez (Ac. Málico)	0,41	0,54	0,63	0,67	0,67	0,62	0,52
Humedad pulpa (%)	72	72,32	72,64	72,97	73,28	73,61	73,92
Razón pulpa-cáscara	1,37	1,45	1,53	1,61	1,69	1,78	1,96

GRADO

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7

COLOR

- Verde
- Verde claro
- Verde claro con trazas de amarillo
- Más amarillo que verde
- Amarillo con puntas verdes
- Totalmente amarillo
- Amarillo con puntos café

TOMADO DEL INFORME DE PRACTICAS DE GARCIA L. (1998)

ANEXO 3



RESUMEN DE LAS REACCIONES DE PERDEMIMIENTO NO ENZIMÁTICO

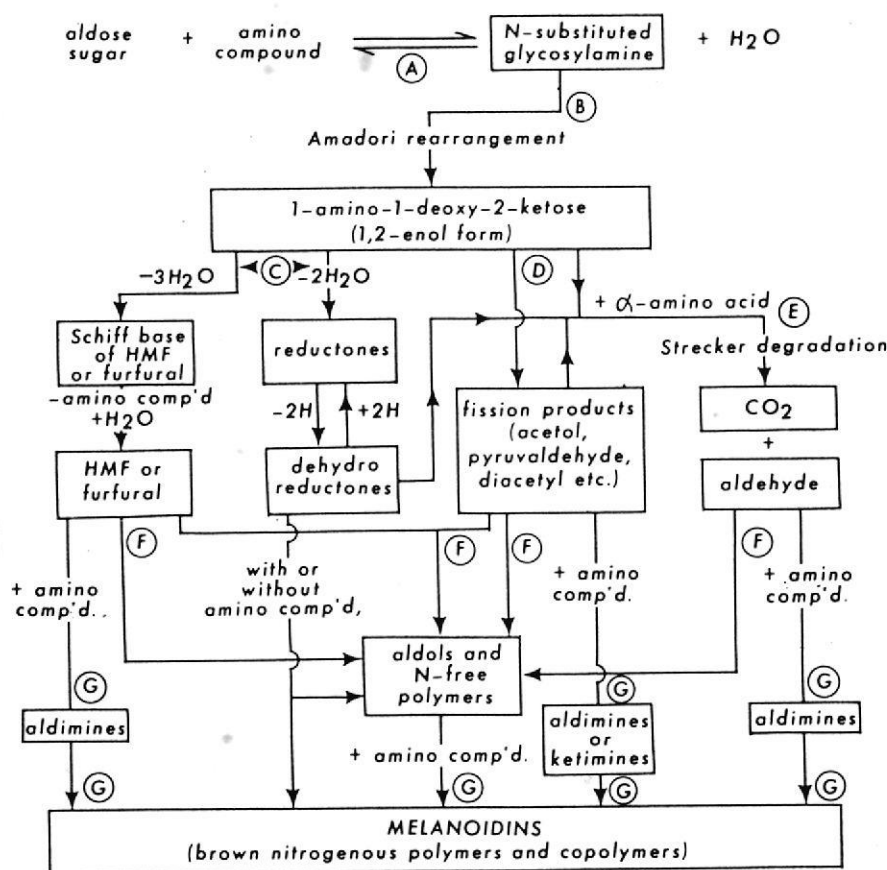


FIG. 12.1. The Hodge scheme. A, Maillard reaction. B, Amadori rearrangement. C, Sugar dehydration. The dehydration of sugar in the sugar-amine browning reaction can take place in two ways. In neutral or acid solutions furfurals are formed. In the dry state or in nonaqueous solvents when amines are present, reductions are formed. D, Fission products of sugar. E, Strecker degradation (to aldehydes containing one less carbon than the amino acid, with the liberation of carbon dioxide). F, Aldol condensation. It is a highly probable reaction in the formation of melanoidins. Nitrogen-free aldols in general are likely to react with amino compounds, aldimines, and ketimines to form nitrogenous melanoidins. G, Aldehyde-amine polymerization and the formation of melanoidins.

From Hodge (1953). Reproduced with permission of the American Chemical Society.

ANEXO 5

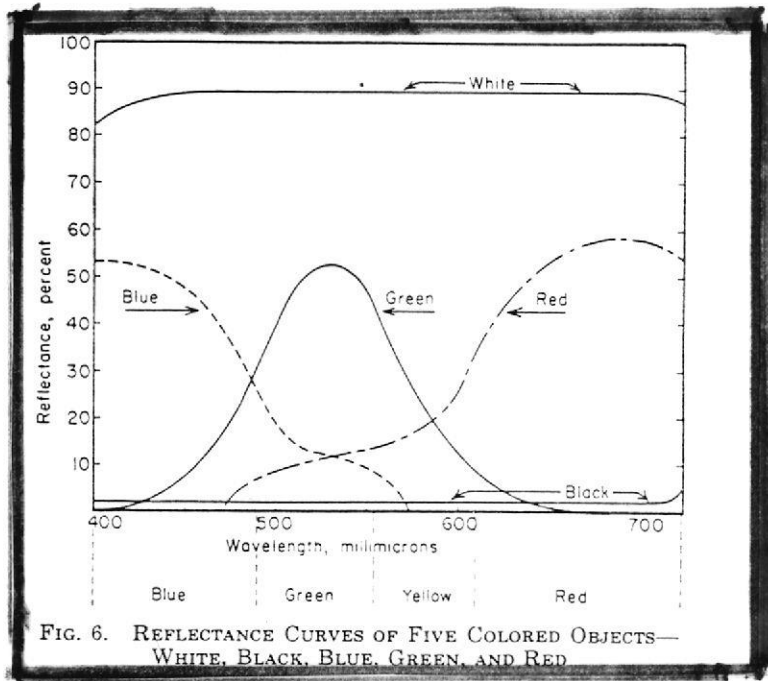


FIG. 6. REFLECTANCE CURVES OF FIVE COLORED OBJECTS—
WHITE, BLACK, BLUE, GREEN, AND RED

ANEXO 6

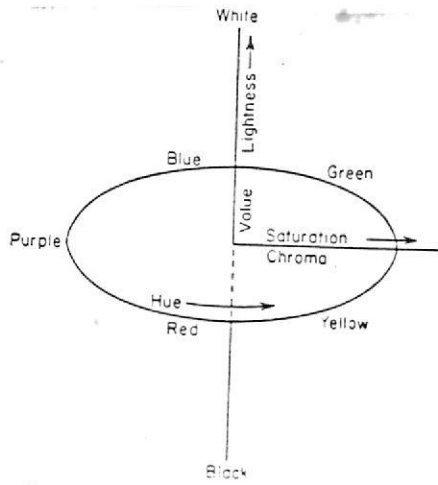


FIG. 10. SPACE DIAGRAM FOR THE DIMENSIONS OF THE PSYCHOLOGICAL SURFACE-COLOR SOLID FOR THE MUNSELL SYSTEM

ANEXO 7

COPIAS DE ESPECTROS

ANEXO 8

DETERMINACION DE COLOR POR ESPECTOFOTOMETRO

- Pesar 5 g de harina de banano en un beaker
- Trasvasar con una solución agua-alcohol (1:1) a una probeta de 100 ml y enrasar
- Dejar en reposo por 15 min.
- Colocar el sobrenadante en tubos de centrifuga
- Centrifugar por 5 minutos a 2000 rpm
- Al sobrenadante determinar color a 320 nm

que puede contener de un 0,3-0,4 % de cenizas, normalmente ClNa . Los cloruros en los zumos puros no sobrepasan los 5-6 mgrs/100 mls.

La titulación de aminoácidos con formol y la determinación de compuestos polifenólicos, desarrolladas por un grupo de los Western Regional Laboratories del USDA, colaboran en la detección de las adulteraciones del zumo de limón. El cociente ácido cítrico/aminoácidos debe valer entre 40 y 50. Una cifra más alta indica la adición de ácido cítrico. En este texto se incluye una modificación de la titulación con formol para la determinación de aminoácidos totales empleada en la Tennessee Division of Food and Drugs ¹⁴.

Método 3-5. Determinación de aminoácidos libres.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Mézclense unos 5-6 grs. de celita, calidad reactivo, con 175 mls. de la muestra (alrededor de 80-100 miliequivalentes de ácido/100 mls. de muestra). Filtrese a vacío; si no quedase completamente claro, filtrese otra vez a través de una nueva capa de celita. Consérvese en un matraz con tapón de vidrio.

DETERMINACIÓN

Depositese, con ayuda de una pipeta, una alícuota de 20 mls. de la muestra preparada, en un vaso de precipitados de 150 mls. Neutralícese parcialmente añadiendo una disolución de NaOH (1 + 1),

gota a gota, hasta alcanzar un pH 6-7 y continúese potenciométricamente la titulación hasta pH 8,4. Ajustese a pH 8,4 una disolución de formaldehído al 37% preparada como máximo una hora antes de su uso.

Añádase 20 mls. de esta disolución a los 20 mls. de muestra y titúlese, como antes, la acidez resultante hasta un pH de 8,4. Calcúlese el índice de formol mediante la ecuación:

$$\text{Ind. de formol} = \frac{\text{mls. de NaOH } 0,1N \times 100}{\text{mls. de muestra}}$$

Los zumos auténticos de limón y de naranja tienen por término medio un índice de formol de 20. Los analistas oficiales de Tennessee consideran cualquier cifra sustancialmente inferior a 20 como sospechosa y la someten a otros análisis confirmatorios.

Smotherman ha proporcionado también los siguientes valores límite por los que se guían los analistas oficiales del estado de Tennessee al juzgar los zumos y bebidas de las frutas incluidas en la tabla ¹⁵ 3-4.

Vandercook y colaboradores de los Western Regional Laboratories del USDA han desarrollado un método para la determinación de los compuestos polifenólicos totales del zumo de limón que ha sido adoptado por la AOAC. Estos autores han demostrado también la existencia de una relación entre el contenido en ácido l-málico, la tasa de ácido cítrico y el índice de formol. Los resultados de los análisis se expresan

TABLA 3-4
«Escala de valores» para la interpretación de los análisis de zumos o bebidas

	Naranja	Limón	Lima	Uva	Arándano
Cenizas, %	0,400	0,290	0,300	0,280	0,190
K ₂ O, mgrs/100 grs.	210	155	150	150	96,8
P ₂ O ₅ , mgrs/100 grs.	38	24,6	27	26,7	9,5
Acidez, en ácido cítrico, %	0,810	6,06	5,60		
Grados Brix	11,8		8,6		10,7
Relación Brix/ácido	10-1				
Índice de formol	20	20			

en absorbancia, puesto que se desconoce la composición cuantitativa exacta de los compuestos polifenólicos ¹⁵.

^{16, 17, 18, 19.}

Método 3-6. Polifenoles totales en el zumo de limón. (Método 20.077 de la AOAC).

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Véase el método 3-1.

$$A' = \frac{a \times \text{molaridad de la disolución de } \text{NO}_3\text{K} (=6,99 \times \text{g } \text{NO}_3\text{K})}{101,11 \times 0,25} = 0,2765 \times \text{grs. } \text{NO}_3\text{K}$$

Divídase el valor medio de A' por la media de las absorbancias determinadas (A) a 302 μms . para obtener el factor de corrección (a).

DETERMINACIÓN

Transfíranse 0,5 mls. de la muestra preparada a un matraz aforado de 10 mls. y enrásese con etanol. Pásese a un tubo de centrifuga, tápese con papel de aluminio para evitar la evaporación y centrifúguese. Midase el espectro ultravioleta del líquido sobrenadante con un espectrofotómetro de registro automático entre 300 a 400 μms . (o con un instrumento manual a intervalos de 2 μms . entre 325 y

APARATO

Espectrofotómetro con registro automático.

CALIBRADO DEL ESPECTROFOTÓMETRO

Pésense con precisión dos fracciones de 1,4-1,5 grs. de NO_3K en dos matraces aforados de 250 mls. Disuélvanse en agua y enrásense. Ajustese a cero el instrumento a 302 μms . y mídase la absorbancia de cada disolución (A) en una cubeta de 1 cm. de paso de luz. Calcúlese la absorbancia patrón de cada disolución:

335 μms .). Multiplíquese la absorbancia del pico situado a 323-335 μms . por el factor de corrección (a) y exprese los resultados como absorbancia de los compuestos polifenólicos totales.

Rolle y Vandercook ¹⁶ han dado las siguientes características del zumo de limón de California-Arizona, recopiladas a partir de los análisis de 61 zumos naturales:

Aminoácidos totales	2,01 meqs/100 mls.
Acido l-málico	3,41 meqs/ml.
Acido cítrico	89,38 meqs/100 mls.
Compuestos polifenólicos	0,645 unidades de absorbancia

BIBLIOGRAFIA CITADA EN EL TEXTO

1. *Federal Register* 33: 8593 (June 12, 1968).
2. Beattie, G. B.: *Perfumery and Essential Oil Record* 47: (N.º 12) 437 (1956).
3. Selected Reference D.
4. Fisher, H. J.: *Conn. Agri. Experiment Station Bull.* 617 (1955), 629 (1959).
5. Levine, M., Toulouse, J. H. and Sharp, J. F.: *Product Uniformity in Bottled Carbonated Beverage Manufacture*. Washington D.C.: National Soft Drink Assn. (rev. 1957).
6. *Code of Federal Regulations, Title 21-Food and Drugs, Parts 1 to 129*. Washington, D.C.: Office of Federal Register, General Services Adm., (1966).
7. Smith, H. R. and Gagan, R. J.: *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 48: 699 (1965).
8. Smith, H. R.: *Ibid.*, 49: 701 (1966).
9. Vessiny, R. E. (Truesdail Laboratories Inc.): Private communication (1967).
10. MacLean, J. S. (Canada Dry Corporation): Private communication (1967).
11. Wilson, J. B.: *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 42, 696 (1959).
12. Fisher, H. J.: Unpublished report (1962).
13. *Quarterly Bull. Assoc. Food and Drug Officials of the U.S.* Proceedings Issue (Oct. 1963).

ANEXO 9

, and
merically.

Colorimeters make quantifying colors simple.

By using a colorimeter, we can obtain results instantly in each color space.

If we measure the color of the apple, we get the following results:

XYZ tristimulus values

001	X	21.21
	Y	13.37
	Z	9.32

001	Y	13.37	
x	.4832	y	.3045

L*a*b* color space

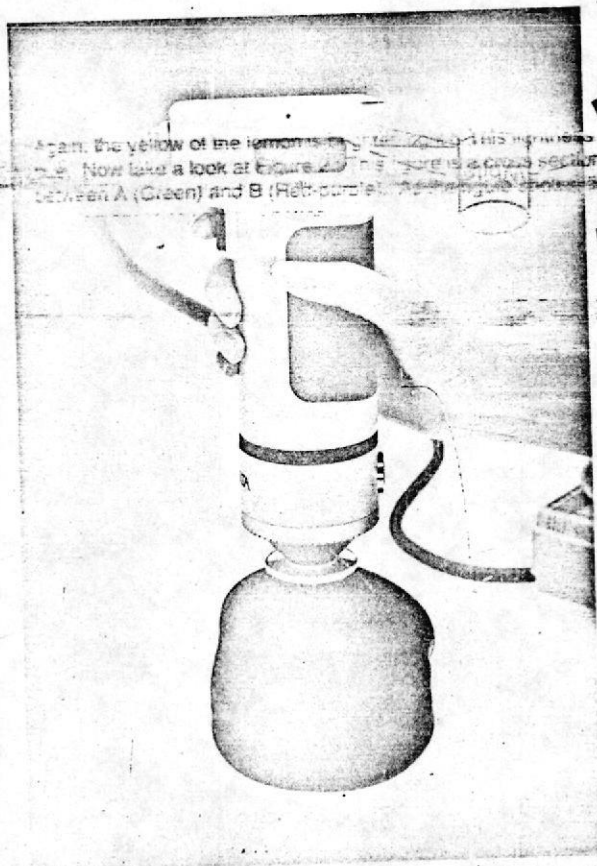
001	L	43.31	
a+	47.63	b+	14.12

L*C*h color space

001 (R)	L	43.31	
C	49.68	h	16.5

Hunter Lab color space

001	HL	36.56	
a+	42.18	b	+8.84



CHROMA METER

CR-200 / CR-210

CR-221 / CR-231

INSTRUCTION MANUAL

BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS



Concepción
B. Logron



Minolta Chroma Meters CR-200, CR-210, CR-221, and CR-231 are compact tristimulus color analyzers for measuring reflective colors of surfaces. Chroma Meter CR-200 has an 8mm-diameter measuring area and uses diffuse illumination and a 0° viewing angle (spectral component included) for accurate measurements of a wide variety of subjects. Chroma Meter CR-210 uses wide-area illumination and a 0° viewing angle (spectral component included), and has a 50mm-diameter measuring area to average the reading over a wide area for measuring cloth or textured surfaces. Chroma Meter CR-221 has a 3mm diameter measuring area and uses a 45° illumination angle and 0° viewing angle for measuring precise areas of printed matter and other glossy surfaces. Chroma Meter CR-231 also uses a 45° illumination angle and 0° viewing angle for measuring glossy surfaces, but has a 25mm-diameter measuring area to average the reading over a wide area to provide a more uniform response. All four units have the following characteristics.

A pulsed xenon arc lamp in a mixing chamber provides diffuse, even illumination over the sample surface. Six high-sensitivity silicon photocells, filtered to match the CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) Standard Observer Response, are used by the meter's double-beam feedback system to measure both incident and reflected light. The meter thus detects any slight deviation in the spectral power distribution of the pulsed xenon arc lamp, and compensates automatically.

Absolute measurements can be taken in Yxy (CIE 1931), L*a*b* (CIE 1976), or L*C*H° coordinates, in the Munsell color system, or of colorimetric densities D_xD_yD_z; color difference can be measured as Δ(Yxy), Δ(L*a*b*), Δ(L*C*H°), ΔE*_{ab}, or density difference Δ(D_xD_yD_z). Data can be converted between color systems or between absolute and difference measurements by the built-in data processor, and each measurement can also be printed out in all color spaces if desired. Either CIE Illuminant C or D₆₅ lighting conditions can be used for measurements. The meter can select from up to 20 different calibration standards stored in memory to choose the one most appropriate for the sample surface. For measuring color difference, up to 20 different target colors may also be memorized.

The built-in data processor offers several different functions for greater convenience and versatility. Up to 300 measurements may be stored in memory and memory can be divided into up to 20 pages; each measurement is automatically stored at the time of measurement as both an absolute measurement and a color-difference measurement. Data can be printed out at the time of measurement, in all color spaces, while it is in the display, or from memory at a later time. Statistical calculations can be performed on all data in memory or on only the data on a selected page of memory. Data can also be output to a separate computer if desired, and the meter can be operated by remote control. The data processor even includes a timer for automatic measurements at user-selected intervals, plus an alarm to indicate when the color difference of a sample is beyond a preset limit.

The meter is powered by six AA-size batteries or by the included AC adapter connected to an AC outlet. Data is kept in memory until cleared or changed by the user, even if the meter's batteries are removed or the AC adapter disconnected.

Please read and study this manual before using the Minolta Chroma Meter CR-200, CR-210, CR-221, or CR-231 for the first time, and keep it for future reference.

Norma
Ecuatoriana

HARINAS DE ORIGEN VEGETAL
DETERMINACION DE LA PERDIDA POR CALENTAMIENTO

INEN 518
1980-12

OBLIGATORIA

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece el método para determinar el contenido de humedad y otras materias volátiles en las harinas de origen vegetal.

2. TERMINOLOGIA

2.1 Pérdida por calentamiento. En las harinas de origen vegetal y para efectos de esta norma, es la pérdida de una determinada cantidad de masa en las condiciones del presente método.

3. RESUMEN

3.1 El método se base en calentar las harinas de origen vegetal a $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y pesar.

4. INSTRUMENTAL

4.1 *Pesafiltro de vidrio*, con tapa esmerilada.

4.2 *Desecador*, con cloruro de calcio u otro deshidratante adecuado.

4.3 *Estufa*, con regulador de temperatura.

4.4 *Balanza analítica*, sensible al 0,1 mg.

5. PREPARACION DE LA MUESTRA

5.1 Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios y secos (vidrio plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

5.2 La cantidad de muestra de las harinas de origen vegetal y extraída dentro de un lote determinado debe ser representativa y no debe exponerse al aire mucho tiempo.

5.3 Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

6.2 Calentar el pesafiltro y tapa durante 30 min en la estufa a $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Enfriar en el desecador hasta temperatura ambiente y pesar.

(Continúa)

6.3 Pesar, con aproximación al 0,1 mg, 2 g de muestra preparada, transferirla al pesafiltro y distribuirla uniformemente en su fondo.

6.4 Calentar el pesafiltro y su contenido durante una hora, en la estufa calentada a $130 \pm 3^\circ\text{C}$, sin la tapa.

6.5 Colocar la tapa con el pesafiltro antes de sacarlo y trasladarlo al desecador; tan pronto haya alcanzado la temperatura ambiente, pesar.

6.6 Repetir las operaciones de calentamiento, enfriamiento y pesaje, hasta que la diferencia de masa entre los resultados de dos operaciones de pesaje sucesivas no exceda de 0,1 mg.

7. CALCULOS

7.1 La pérdida por calentamiento en muestras de harina de origen vegetal se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$P_c = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

Siendo:

P_c = pérdida por calentamiento, en porcentaje de masa.

m_1 = masa del pesafiltro vacío con tapa, en g.

m_2 = masa del pesafiltro y tapa, con la muestra sin secar, en g.

m_3 = masa del pesafiltro y tapa, con la muestra seca, en g.



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

8. ERRORES DE METODO

8.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,19%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

9. INFORME DE RESULTADOS

9.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

9.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

9.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

APENDICE Z

Z.1 NORMAS A CONSULTAR

Esta norma no requiere de otras para su aplicación.

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Método A.O.A.C. de Análisis 14. *Cereal foods. Wheat flour. Air oven Method.* Official Final Action. Association of Official Analytical Chemists. Washington, 1975.

Norma Centroamericana ICAITI 34 086 h 2. *Harinas de origen vegetal. Determinación del contenido de humedad.* Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial. Guatemala, 1974.

Método AACC. 3401. *Flour Specifications. American Association of Cereal Chemists, Inc.* St. Paul Minnesota. U.S.A. 1969.

Norma Colombiana ICONTEC 282. *Métodos de ensayo de la harina de trigo. Determinación de la humedad.* Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Bogotá, 1969.

Norma Española UNE 34 400 h 5. *Métodos de ensayo de la harina de trigo. Determinación de la humedad.* Instituto Nacional de Racionalización del Trabajo. Madrid, 1967.

Norma Venezolana NORVEN 218 P. *Harina de trigo. Métodos de análisis. Humedad.* Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas, 1965.

Norma Chilena INDITECNOR 23-21 Ch. *Harina de trigo para panificación. Métodos de ensayo. Humedad.* Instituto Nacional de Investigaciones Tecnológicas y Normalización. Santiago, 1956.



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS