

Evolución de la firmeza y el contenido de sólidos solubles durante la maduración natural y artificial de banano

El conocimiento de las modificaciones que sufre el banano luego de la cosecha es de gran importancia para el

desarrollo de alternativas de transformación industrial, dirigidas ...

(ver pág. 7)

CARACTERIZACION DE LA INTERCONVERSION DE LA SACAROSA POR MEDIO DE ENZIMAS INMOVILIZADAS DEL BANANO

Perfil físico - químico de manzana var. Ana no comercializable en Costa Rica

Se planteó una investigación para determinar el perfil físico-químico de la manzana variedad Ana, y usarlo como punto de partida en el desarrollo

de productos que puedan ser una alternativa de comercialización para la fruta que no se podrá ...

(ver pág. 12)

Aspectos de la elaboración de queso blanco en Costa Rica

El Consumo de "queso blanco", el mas popular en Costa Rica, se estima en 14.076 toneladas métricas/al año, lo que representa el 70% del consumo total de queso

en el país . Como queso blanco se conocen principalmente tres tipos de ese producto...

(ver pág. 17)



(ver pág. 1)

Revista Semestral publicada por el Centro de
Investigación en Tecnología de Alimentos

Director del CITA
Luis Fernando Arias M.

Editor
Ricardo Quirós C.

Consejo Editorial
Ing. Luis Fernando Arias Molina.
Ing. Fernando Aguilar Villarreal.
Ana Ruth Bonilla Leiva, M. Sc.
Víctor Lobo Di Palma, M. Sc.
Juan Manuel Esquivel Kruse, M. Sc.

Diagramación
Jeanina García U.

La responsabilidad de los trabajos firmados es de
sus autores y no del CITA, excepto cuando se
indique expresamente lo contrario.

La mención de cualquier empresa o
procedimiento patentado no supone su
aprobación por parte del CITA.

Los artículos incluidos en REVITECA pueden
reproducirse libremente siempre y cuando se
haga mención expresa de su procedencia y se
envíe copia al Consejo Editorial.

Correspondencia para canje y suscripciones
Universidad de Costa Rica - Centro de
Investigaciones en Tecnología de Alimentos
REVITECA
San José - Costa Rica
Telex UNICORI 2544
Tels. 25-98-85, 24-8027
25-55-55 ext. 701-212
Fax (506) 533762

La presente edición de REVITECA es
patrocinada por la Fundación para la
Investigación Agroindustrial Alimentaria
(FIAA).

**Caracterización de la interconversión de la sacarosa
por medio de enzimas inmovilizadas del banano.**
ANA R. BONILLA-LEIVA,
ARTHUR G. RAND. 1

**Evolución de la firmeza y el contenido de sólidos
solubles durante la maduración natural y artificial
de banano.**
TANNY LINDO-DELL,
MARTA BUSTAMANTE-MORA. 7

**Perfil físico - químico de manzana var. Ana no
comercializable en Costa Rica.**
ANA C. VELAZQUEZ-CARRILLO,
JORGE SOLANO ROSALES. 12

**Aspectos de la elaboración de queso blanco
en Costa Rica.**
RANDALL MAYORGA-JIMENEZ. 17

**Método de determinación de residuos de captafol
en plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y suelo
por cromatografía de gases.**
JAIME E. GARCIA-GONZALEZ. 28

**Actividad proteolítica en látex de jatropha
oconitofolia.**
HERBERTH MADRIGAL-VILLA,
HUMBERTO TRIMIÑO-V.,
JOSE E. CARBALLO-A. 34

**Evaluación de la calidad del cacao seco en grano a
nivel nacional (cosecha 89-90).**
LUIS A. JIMENEZ-SILVA. 41



Centro de Investigaciones
en Tecnología de Alimentos
UCR — MAG

editorial

Para que un organismo o una comunidad dedicado a las labores de investigación y desarrollo consigan el crecimiento necesario, su mayor eficacia y el máximo aprovechamiento de su labor, se requiere una relación permanente con la sociedad en general y específicamente con el sector técnico-empresarial al cual se dirige. La publicación organizada y periódica de los resultados, constituye entonces una medida de la seriedad y la efectividad alcanzadas en la producción de esos resultados y del grado de vinculación de estos con las necesidades reales.

Ninguna de las dos acciones es fácil y ello queda demostrado cuando las estadísticas indican que, en la actualidad, más de un 80% de las publicaciones científicas, clasificables y recuperables, son producidas en solo diez países del mundo desarrollado. Sin embargo, también existe consenso en que tales números sobre todo insinúan la existencia de un enorme cúmulo de información tecnológica y de investigación aplicada que permanece oculto o con un alcance muy limitado, debido a la ausencia de facilidades y estímulos adecuados que permitan su efectiva difusión.

La aparición de REVITECA marca un hito importante del proceso de maduración tecnológica agroalimentaria costarricense y regional, al abrir una oportunidad seria y estimulante a toda la comunidad científica y tecnológica de nuestro campo, de compartir internacionalmente los importantes resultados de su actividad. Destaca también que en tal empresa, se conjuguen los esfuerzos de la importante infraestructura lograda, representada por el Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos (CITA) y la Fundación para la Investigación Agroindustrial Alimentaria (FIAA), patrocinadores de REVITECA, y con la colaboración de la Asociación Costarricense de Tecnología Alimentaria (ASCOTA), la Cámara Costarricense de la Industria Alimentaria (CACIA) y la Carrera Interdisciplinaria en Tecnología de Alimentos (CIETA).

*Ing. Luis Fernando Arias M.
Director General
Centro de Investigaciones en
Tecnología de Alimentos*

CARACTERIZACION DE LA INTERCONVERSION DE LA SACAROSA POR MEDIO DE ENZIMAS INMOVILIZADAS DEL BANANO

Ana R. BONILLA-LEIVA*, Arthur G. RAND**

ABSTRACT

Immobilized banana beads for characterization of the enzyme involved in the sucrose interconversion

The purpose of this research was to study the enzyme mechanism involved in the sucrose interconversion by using a banana enzyme system immobilized in a calcium alginate bead. A previously designed banana bead system was improved by increasing the amount of pulp incorporated into algin solution. The banana beads were characterized by studying the effects of pH, time, and UDFG, on sucrose hydrolysis. The ability of the beads to synthesize sucrose was evaluated by using various substrates at pH 4.8 y pH 6.5. The invertase activity increased 2.3X with the improved banana system and produced a linear reaction, with a production of 50 mg % per hour of glucose. It was observed that in the presence of banana beads and the sucrose substrate, reactions which were different from the expected hydrolysis took place. The formation of glucose and fructose was not directly proportional to the loss of sucrose, as expected. Also, it was observed that fructose levels obtained were higher than the glucose levels. An increase in glucose production was observed at different pHs when UDFG was added to the sucrose solution.

* Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.

** Food Science & Nutrition Research Center.
University of Rhode Island.
530 Liberty Lane.
West Kingston, R. I. 02892.
USA

RESUMEN

El propósito de este estudio fue examinar la hidrólisis y biosíntesis de las reacciones de sacarosa, por medio de un sistema en el que las enzimas del banano fueron atrapadas en una matriz de gel de alginato de calcio en forma de perlas. Se mejoró un sistema diseñado previamente aumentando la cantidad de pulpa en la solución de alginato.

Las perlas de banano se caracterizaron estudiando el efecto de pH, tiempo y UDFG en la hidrólisis de sacarosa.

La posibilidad de las perlas de sintetizar sacarosa fue evaluada utilizando varios sustratos a pH 4.8 y 6.5.

El nuevo sistema aumentó la actividad de la invertasa 2.3X y produjo una reacción lineal, con una producción de 50 mg % por hora de glucosa.

La formación de glucosa y fructosa no fue directamente proporcional a la pérdida de sacarosa. También se observó que los niveles de fructosa fueron más altos que los niveles de glucosa.

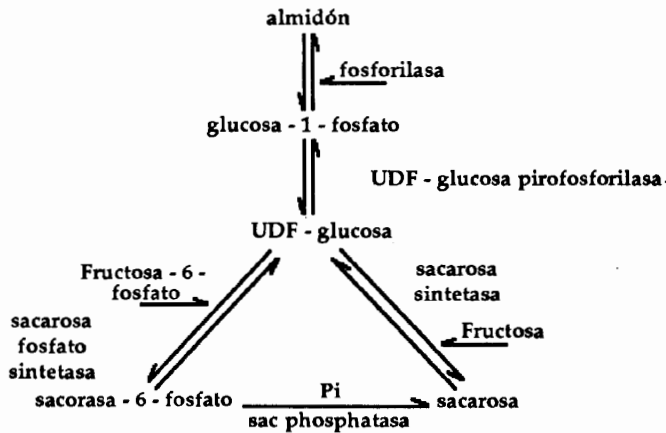
Se produjo un incremento en la producción de glucosa debido a la adición de UDFG.

INTRODUCCION

La hidrólisis de almidón y la acumulación de azúcares durante el proceso de maduración del banano son dos procesos bioquímicos extraordinarios (Gómez, et al, 1981, Palmer, 1971). El banano verde contiene entre 20-25% de almidón que se hidroliza casi completamente a azúcares. Como resultado los azúcares en la pulpa aumentan del 1-2% en el banano verde a 15-20% en la pulpa madura (Palmer, 1971, Yang, 1981). La mayor cantidad de azúcares en la pulpa madura son sacarosa, 66%, fructosa, 14%; y glucosa, 20% (Palmer, 1971).

El papel que juega el sistema enzimático en la síntesis e hidrólisis de la sacarosa ha sido discutida por diversos autores (Butler et al, 1976; Cardini et al, 1955; Glass y Rand, 1982, Bajjal et al, 1972, Sukla et al, 1973, Terra et al, 1983).

Davis, D. R. 1974 describió dos posibles rutas para la síntesis de sacarosa a partir de glucosa -1- fosfato.



Para evitar estos factores, Glass y Rand (1982) diseñaron un sistema enzimático de banano inmovilizado. Las enzimas del banano se atraparon en una matriz de alginato de calcio.

El objetivo de este estudio fue examinar la síntesis e hidrólisis de sacarosa utilizando pulpa de banano inmovilizada como fuente enzimática. Se incorporaron dos modificaciones al sistema de Glass y Rand (1982): cantidad de pulpa de banano por perla y la concentración del agente tensoactivo. Se estudiaron diferentes condiciones experimentales; sustratos, pH y tiempos de incubación.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de las enzimas de banano inmovilizadas

Se utilizó el método diseñado por Glass y Rand (1982), variando la cantidad de pulpa incorporada al alginato y la concentración del agente tenso activo.

Se calentaron 250 mL de la solución buffer 0.25 M tris-HCl pH 7.5 hasta ebullición. Lentamente se agregaron 5g de alginato de sodio (Kelco Gel HV) y se agitó hasta que se disolvió el alginato. Se agregaron 5g de Tween 80 como agente tensoactivo. Se colocó en un baño a 37°C.

El banano maduro color amarillo a nivel 4 de maduración, según lo descrito por Von Loescke (1950) se cortó en rodajas de 5mm de espesor. Una porción de 250 g se agregó a 250 mL de la solución de alginato a 37°C y se mantuvo con agitación por 30 minutos. Esta mezcla se homogenizó en una licuadora por 2 minutos. La mezcla se goteó lentamente sobre la solución de $CaCl_2$ al 10% preparada en una solución buffer Tris-HCl 0.05 M pH 7.5 utilizando una bomba peristáltica con una manguera de 1/16" DI). Una vez que se formaron las perlas estas se colocaron en la solución de $CaCl_2$ donde se dejaron endurecer.

Para eliminar los azúcares presentes en la pulpa de banano, las perlas se pusieron en una solución buffer Tris-HCl 0.05 M pH 7.5 y se dejaron dializar por 48 horas. Durante el período de diálisis la solución buffer se cambió cada cuatro horas. Para determinar que las perlas no tenían azúcares se analizó el líquido de diálisis con un analizador de glucosa, YSI Modelo 23A, Yellow Spring Instrumental Co.

De la misma manera se prepararon perlas control, excepto que no se utilizó pulpa de banano.

Cromatografía Gas-líquida

Se tomó una alícuota de 0.5 mL de la solución de azúcar por analizar y se evaporó hasta sequedad en un horno al vacío por 45 minutos a 60°C y 20 pulgadas de vacío. Una vez que la muestra se secó, se agregó 1.0 mL de "STOX" (solución de piridina conteniendo

Uridina - glucosa piro fosforilasa es la primera enzima envuelta en ambos mecanismos de reacción.

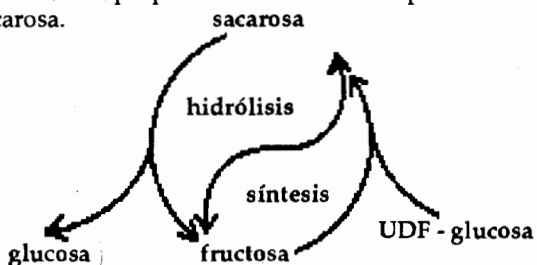
El primer mecanismo sugiere la acción de la enzima sacarosa fosfato sintetasa (UDF -D- glucosa: D -fructosa 6-fosfato 2-glucosil transferasa y sacarosa fosfatasa) (sacarosa -6-fosfato fosfohidrolasa). Uridina difosfato glucosa (UDFG) actúa como agente glucosilante transfiriendo el residuo de glucosa a la fructosa 6 fosfato (F-6-P) y formando sucrosa fosfato (G-F6F), bajo la acción de la enzima, sacarosa fosfato sintetasa.

La sacarosa fosfato es entonces hidrolizada por medio de una fosfatasa a sacarosa y fosfato inorgánico.

El segundo mecanismo propuesto, el que actualmente es aceptado como la mejor ruta, requiere de la enzima sacarosa sintetasa (UDF -glucosa: D fructosa 2 -glucosil tranferasa).

La hidrólisis de sacarosa a través de cualquiera de los dos mecanismos parece que se debe a dos enzimas: la invertasa que hidroliza la sacarosa en glucosa y fructosa, y la sacarosa sintetasa.

Glass y Rand (1982) propusieron una ruta cíclica para el metabolismo de la sacarosa.



Dicha hipótesis propone que por medio de regulación alostérica una sola enzima tiene tanto actividad sintética como hidrolítica en la pulpa del banano maduro.

La conversión rápida y eficiente del almidón a sacarosa, glucosa y fructosa hacen del banano un modelo ideal para el estudio de la interconversión de almidón-sacarosa. Ahora bien, existen diversos factores que interfieren tales como taninos, sustancias pécticas, polifenoloxidasas (Dong y Su, 1972).

25 mg/mL de hidroxilamina hidrocloreto y 6 mg/mL de fenil -B-D- glucopiranosido como patrón interno).

La solución se mezcló vigorosamente en un baño de agua ultrasónico por dos minutos, se calentó a 37°C en un baño por 15 minutos. Se agitó de nuevo por 20 minutos. Se calentó a 37°C por otros 15 minutos. Las oximas resultantes se enfriaron a temperatura ambiente y se agregó 1.0 mL de N- trimetilsilimidazole para convertirlo en éter trimetilsililo (TMS).

Los viales fueron agitados en un "vortex" por 30 segundos y se mantuvieron a temperatura ambiente por 30 minutos.

Una alícuota de 2µL de supernatante se analizó por medio de cromatografía de gas (GC) usando un cromatógrafo de Gas Tracor MT- 220 equipado con un detector de llama ionización y una computadora HP - 2 IMX. Se utilizó una columna de vidrio de 6' x 1/4" empacada con 1.5 % Sp 2250/1.95 % Sp 2401 en 100/120 Supelcon A W - DMCS. La temperatura del horno se programó al momento de inyección de 175 a 250 °C a 10°/min con 5 minutos de "retención final". Otros parámetros fueron: puerto de inyección 260 °C, flujo del nitrógeno transportador 60 mL/min, hidrógeno 40 mL/min y aire 400 mL/min.

Los picos de los azúcares se identificaron de acuerdo a los tiempos de retención y las áreas fueron medidas electrónicamente por medio de la computadora. La concentración de los azúcares se determinaron comparando el área con el patrón interno, fenil -B-D -glucopiranosido el cual había sido introducido en el reactivo "STOX".

Una alícuota de 0.5 mL de una mezcla patrón de azúcares se trató de igual forma a la descrita y se determinaron los factores de respuesta. La solución patrón contenía 5 mg de fructosa, glucosa y sacarosa por 0.5 mL de una solución buffer de acetato. Los mismos resultados se obtuvieron utilizando una Mezcla de azúcares Patrón para Calibración Grupo 1. (Pierce Chemical Co).

Se llevaron a cabo dos análisis por muestra y el resultado promedio se usó para los cálculos.

Caracterización de las perlas de banano

Todos los análisis enzimáticos se hicieron bajo las mismas condiciones. Las muestras se incubaron en un baño a 37°C con agitación constante. Para evitar crecimiento bacteriano se agregó Thymol. El pH se midió al final del período de incubación. La reacción se detuvo extrayendo las perlas de la solución.

La solución se analizó usando el Analizador de Glucosa. Paralelamente se analizaron muestras control utilizando perlas de alginato en lugar de perlas de banano.

Se consideró como la cantidad de azúcar producida por la acción de

las enzimas del banano la diferencia entre las lecturas obtenidas de las muestras experimentales y las control.

Se llevaron a cabo dos análisis por muestra y se utilizó el valor promedio para los cálculos.

a.- Actividad de la invertasa.

Se incubaron tubos que contenían 2.00 mL de solución de sacarosa (1%) en solución buffer de acetato de sodio 0.4 M, pH 4.8 y 0.50 g de perlas de banano. Se analizaron de la forma descrita previamente. Cada 2 h se tomó una muestra y se analizó la concentración de glucosa.

b.- Efecto de pH en la hidrólisis de sacarosa.

Se preparó un grupo de tubos de ensayo de la siguiente manera: 0.50 mL de la solución madre de sacarosa (4%), 0.5 mL de agua destilada y 1.0 mL de solución buffer acetato de sodio a 0.5 M pH 4.5, 5.0, 5.5 o 6.0 y solución buffer de Tris- HCl a pH 6.5.

De la misma forma se preparó un segundo grupo de tubos excepto que se utilizó una solución de Uridina Disfosfato Glucosa (UDFG) al 12% en sustitución del agua.

Ambos sets se incubaron por 7 h. a 37°C. Simultáneamente corrieron controles.

Los niveles de glucosa se determinaron por medio del Analizador de Glucosa.

La identificación de glucosa, fructosa y sacarosa se llevó a cabo por medio de cromatografía de gas.

c.- Efecto del tiempo en la hidrólisis de la sacarosa a diferentes valores de pH para alcanzar un valor teórico de 40% de conversión.

El análisis se llevó a cabo de la siguiente manera: 0.50 mL de solución de sacarosa (4%), 0.50g de perlas de banano y 1.50 mL de solución que contenía solución buffer de acetato de sodio 0.4 M pH 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 o 6.0 solución buffer de Tris -HCl 0.5 M pH 6.5 . Se incubaron por 5, 7, 15, 29 y 72 horas. Simultáneamente se corrieron controles. El supernatante se analizó por cromatografía de gas.

d.- Actividad enzimática en las perlas de banano pH 4.8 y 6.5 utilizando diferentes sustratos.

El efecto de las perlas de banano en diferentes sustratos se determinó a pH 4.8 usando 0.50 g de perlas en soluciones de 2 mL por 7 h. Esta solución contenía 0.5 mL. de solución buffer de acetato (0.4M pH 4.8) y 0.5 mL uno, dos o tres de las siguientes soluciones de azúcares: fructosa, 2%; glucosa, 2%; sacarosa, 4%; UDFG, 12 % y F-6-F, 6%. Se

utilizó agua destilada para llevar el volumen final a 2.0 mL. Simultáneamente se corrieron blancos.

El efecto de las perlas también fue analizado a pH 6.5 usando 0.5 mL de solución buffer Tris-HCl 0.5M pH 6.5. El supernante se analizó por cromatografía de gas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Al hidrolizarse completamente una solución de sacarosa al 1% se producirá 0.5% de glucosa. En el estudio de Glass y Rand (1982) la hidrólisis completa de la sacarosa en una mezcla de reacción de 0.22g de perlas por mL de solución de sacarosa ocurrió en 23 h. Al utilizar 0.25g de las perlas mejoradas por mL de sacarosa, la hidrólisis completa se logró en las 10 h (Fig. 1). Ahora bien la actividad de la enzima no aumentó en proporción directa a la cantidad de pulpa de banano utilizada. A pesar de que la cantidad de pulpa incorporada en la solución de alginato se aumentó tres veces, las nuevas perlas fueron solo 2.3 veces más activas. Esto podría deberse a las diferencias en métodos de análisis, al grado de maduración del banano o la difusión, el cual es un factor limitante. Debido a que la transferencia de masa difusional es un proceso de primer orden con respecto a la concentración del sustrato, la cinética resultante de la reacción de la enzima es el producto de la velocidad de reacción de la enzima y la velocidad de difusión (Bowers, 1982; Chibata, 1978).

La Figura 1 muestra también que la invertasa de la pulpa de banano inmovilizada produce una reacción lineal; con una producción de 50 mg % por hora de glucosa.

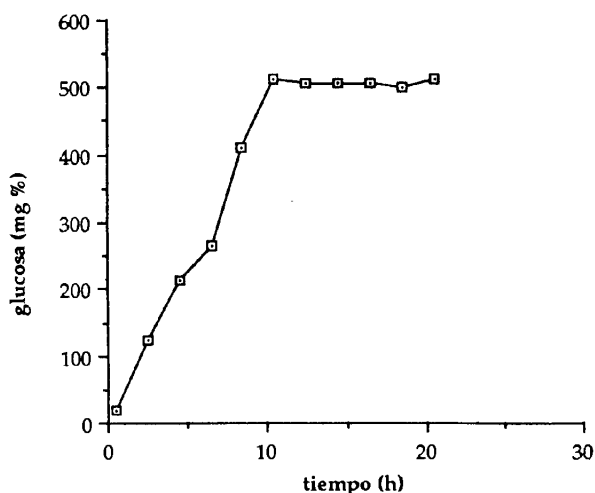


Figura 1. Hidrólisis de la solución de sacarosa al 1% por medio de enzimas inmovilizadas del banano (37 C, pH 4.8)

La Figura 2 ilustra que la actividad de la invertasa en la pulpa de banano decrece al aumentarse el pH. Esto puede deberse a la presencia de grupos ionizables presentes cerca o en la superficie de la molécula de la enzima. Al aumentarse el pH hay una desprotonación de estos grupos (Ferdinand, 1976).

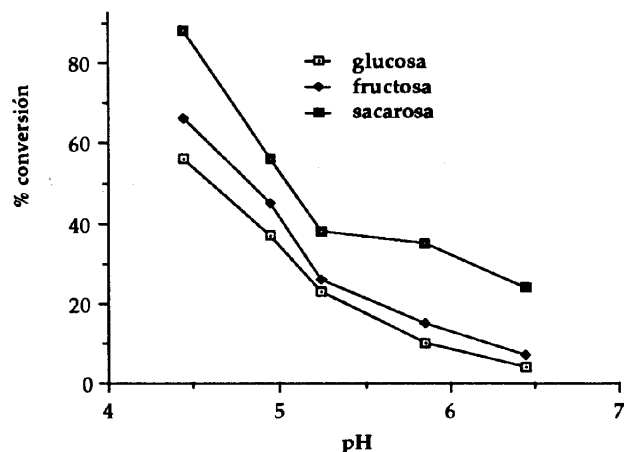


Figura 2. Efecto del pH en la hidrólisis de la solución de sacarosa al 1% (7hr, 37 C)

Como se puede ver en el cuadro 1, aunque la actividad de la enzima decrece al aumentar el pH, la enzima no se desnaturalizó, cuando se permitió que la reacción continuara por períodos más largos se lograron mayores niveles de hidrólisis. Parece que la enzima seguía activa pero con una velocidad de reacción menor.

CUADRO 1

Efecto del pH y tiempo en la hidrólisis de sacarosa por perlas de banano a 37°C

pH Final	Tiempo h	Sacarosa Original (mg %)	Glucosa Obtenida (mg %)	Fructosa Obtenida (mg %)	Sacarosa Final (mg %)
3.75	5	850	300	412	77
4.20	5	850	287	403	57
4.80	7	850	333	435	92
5.30	15	850	335	404	36
6.00	29	850	281	311	73
6.60	72	850	329	374	72

El cuadro 1 muestra además que la concentración de fructosa es mayor que la glucosa a pH bajos. Esta diferencia disminuye al aumentar el pH.

También el cuadro 1 muestra que cierta cantidad de sacarosa hidrolizada no aparece ni como fructosa ni como glucosa. Si toda la sacarosa se hubiera hidrolizado en glucosa y fructosa, las cantidades de estos azúcares serían mayores, pero el valor promedio de fructosa fue de 78% y el de glucosa de 74% del valor esperado. Estos valores sugieren que otra reacción puede haber ocurrido. Se ha establecido la presencia de fructosil-sacarosa en el banano maduro (Dilley, 1970). Debido a que la invertasa no es específica para la hidrólisis de sacarosa y que puede catalizar reacciones de condensación con la resultante de trisacáridos de niveles de energía más bajos que la sacarosa (Dilley, 1970).

La Figura 3 presenta los resultados de la acción de las perlas de banano en la producción de glucosa al adicionarse 12 % de UDFG a una solución de sacarosa al 1% a diferentes valores de pH. Se observó que la adición de UDFG resultó en un aumento en la producción de glucosa. Resultados similares fueron obtenidos por Glass y Rand (1982). Esto sugiere que además de la hidrólisis de la sacarosa ocurrió otra reacción.

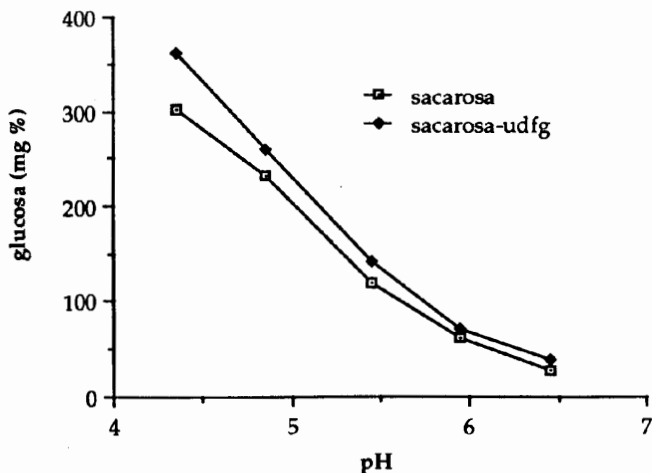


Figura 3. Efecto de la adición de UDFG a la solución de sacarosa al 1% (7hr. 37 °C)

Debido a que el pH del banano varía de 5.4 cuando está verde a 4.5 cuando está maduro (Dilley, 1970), se estudió el efecto de diferentes sustratos a pH 4.8, cuyos resultados aparecen en el cuadro 2.

CUADRO 2

Actividad enzimática de las perlas de banano a pH 4.8 con diferentes sustratos (37°C, 7 h)

Sustrato Agregado (mg %)					Concentración de azúcares después de la incubación (mg %)		
fruc	gluc	sac	UDF6	F6F	fruc	gluc	sac
-	400	-	-	-	-	337	-
-	-	800	-	-	340	270	110
-	-	-	2400	-	-	-	-
400	400	-	-	-	400	298	-
-	-	-	2400	1200	-	-	-
400	-	-	2400	-	179	-	-
-	800	-	2400	-	213	182	273
400	400	-	2400	-	336	289	-

Como se esperaba, a pH 4.8 se llevó a cabo la hidrólisis de la sacarosa. Al igual que anteriormente se obtuvieron mayores cantidades de fructosa que de glucosa; 78% fructosa y 62% glucosa. La hidrólisis de la sacarosa a partir de la cantidad de sustrato consumido indicó que ocurrió un 87% de conversión.

En presencia de UDFG, la hidrólisis de sacarosa se redujo. La conversión del análisis de fructosa indicó 47% hidrólisis, mientras que el de glucosa indicó 40% de conversión. Esto se reflejó en una mayor concentración de sacarosa sin reaccionar, aunque 70% del sustrato fue consumido.

La técnica de cromatografía de gas que se utilizó no identificaba la presencia de los ésteres fosfatados de carbohidratos, por lo que no se pudo identificar ningún cambio en F-6-F y UDFG después de la acción enzimática.

El pH óptimo reportado para la sacarosa sintetizada es de 6.0 - 6.6, (Yang y Su, 1980) por lo que se evaluó el efecto de varios sustratos sobre las perlas de banano a pH 6.5 (cuadro 3).

CUADRO 3

Actividad enzimática de las perlas de banano a pH 6.5 con diferentes sustratos (37°C 7 h)

Sustratos agregados				Azúcares después de la incubación (mg %)		
fruc	glu	F6F	UDFG	fruc	gluc	sac
400	400	-	-	388	365	-
400	400	-	2400	374	343	-
-	-	1200	2400	-	-	-
-	400	400	-	400	-	-

De los resultados presentados en el cuadro 3, se pueden ver que no ocurrió ninguna reacción a este pH. Aún en presencia de UDFG y F - 6 - F a pH 6.5 no hubo indicación de la formación de sacarosa. Esto puede ser debido al hecho de que la enzima sacarosa fosfatasa que cataliza la hidrólisis de sacarosa 6 - fosfato (producto intermedio en la síntesis de sacarosa) a sacarosa y fosfato inorgánico haya sido inhibida. Se ha encontrado que esta enzima requiere Mg+2, pero se inhibe por el Ca+2, Mn+2, fosfatos, pirofosfato. Debido a que las pulpa fue inmovilizada en una matriz de alginato de Ca+2, es posible que exista cierta inhibición.

CONCLUSIONES

El objetivo de este estudio fue examinar las reacciones de biosíntesis e hidrólisis de la sacarosa. La actividad enzimática en las perlas de banano se mejoró al aumentar la cantidad de pulpa en la solución de alginato. Se pudo observar que en presencia de las perlas de banano y sacarosa como sustrato, ocurrió algún tipo de reacción diferente a la esperada hidrólisis. La formación de glucosa y fructosa no fue directamente proporcional a la pérdida de sacarosa. Los niveles de fructosa fueron mayores que los de glucosa. Si solo hubiera ocurrido la hidrólisis de la sacarosa, se hubieran producido iguales cantidades de glucosa y fructosa.

Cuando a diferentes pHs se agregó UDFG a la solución de sacarosa se produjo un aumento en la producción de glucosa. Esta es otra indicación de que ocurrió una reacción que no se pudo identificar. No fue posible observar la biosíntesis de la sacarosa bajo las condiciones establecidas del estudio. Esto puede ser debido a la posible producción de productos intermedios, productos que no se pudieron identificar con las técnicas utilizadas.

REFERENCIAS

- BAIJAL, M., SINGH, S., SHUKLA, R. N.; SANDWAL, G. G. 1972. Enzymes of the banana plant: optimum conditions for extraction. *Phytochem* 11:929.
- BOWERS, L.D. 1982. Immobilized enzymes in chemical analyse. *Trends in analytical chemistry*. 1(8):191.
- BUTLER, L. G., SIQUIRRES, R. G.; KELLY, S. Y. 1976. The enzyme catalyzed synthesis of sucrose from starch. *Enzyme technology and renewable resources*. SRA Information Resources National Science Foundation, p. 119.
- CARDINI, C. E., LELOIR L. F.; CHIRIBOGA, J. 1955. The biosynthesis of sucrose. *J. Biol. Chem.* 214: 249.
- CHIBATA, I. 1978. *Immobilized enzymes*. New York; Hollsted Press.
- DAVIS, D.R. 1974. Some aspects of sucrose metabolism. *In: "Plant Carbohydrate Biochemistry."* New York: Academic Press.
- DILLEY, D. R. 1970. *Enzymes. In: The Biochemistry of Fruits and Their Products*. New York: Academic Press. Vol. 1, p. 179.
- DONG, B. Y.; SU, J. C. 1972. Purification and characterization of sucrose synthetase from banana fruits. *J. Chin. Bioch. Soc.* 1(1):37.
- FERDINAND, W. 1976. *The enzyme molecule*, p. 159. Bristol, John Wiley Sons.
- GLASS, R. W.; RAND, A. G. 1982. Alginate immobilization of banana pulp enzymes for sucrose interconversion. *J. Food Sci.* 47(6): 1836.
- GOMES, AREAS, J. A.; LAJOLO, F. M. 1981. Starch transformation during the banana ripening. I. The phosphorylase and phosphatase behavior in *Musa acuminata*. *J. Food Bioch.* 5: 19.
- JARAMILLO, R. 1985. Banano y plátano. *In 2ª Mesa Redonda de Red Latinoamericana de Agroindustria de Frutas Tropicales, Manizales, Colombia, Febrero 10-15*, p. 241.
- LELOIR, L. F.; CARDINI, C. F. 1954. The biosynthesis of sucrose phosphate. *J. Biol. Chem.* 214:157.
- PALMER, J. K. 1971. The banana. *In: "The biochemistry of fruits and their products."* Vol. 2, p. 65. New York. Academic Press.
- SHUKLA, R. N., SINGH, S., DAS, N.; SAWAL, G. G. 1973. Carbohydrate metabolism in *Musa paradisiaca*. *Phytochem* 12:972.
- TERRA, N. N., GARCIA, E.; LAJOLO, F. M. 1983. Starch-sugar transformation during banana ripening; the behavior of UDP glucose pyrophosphorylase, sucrose synthetase and invertase. *J. Food Sci.* 48:1097
- VON LOESECKE, N. W. 1950. *Bananas*. New York. Interscience Publishers.
- YANG, CH. L.; SU, J. Ch. 1980. Quaternary structure of sucrose synthetase from banana fruits. *J. Chin. Bioch. Soc.* 9(2):100.
- _____; Ho, H. K. 1981. Biochemical studies on post-ripening of banana. *J. Chin. Chem. Soc.* 5(37):1031.

EVOLUCION DE LA FIRMEZA Y EL CONTENIDO DE SOLIDOS SOLUBLES DURANTE LA MADURACION NATURAL Y ARTIFICIAL DE BANANO

Tanny LINDO-DELL*, Marta BUSTAMANTE-MORA**

ABSTRACT

Behavior of the firmness and soluble solids content during natural and artificial ripening

Knowledge about modifications that banana go through after the harvest, is of great importance in the development of options for industrial purposes, in the production of food for human consumption.

In this study, texture and the content of soluble solids in non-exportable banana (Musa Cavendish, clons Valery (Robusta) and Gran enano (Giant Cavendish)) were determined, during the processes of natural and artificial ripening. In each case reference was made to the color of the peel in the fruit's different maturity stages.

Natural ripening was a long and non-uniform process in which significative changes occurred between days 18 and 28, after the harvest. The content of soluble solids increased greatly during this time and also, there was a significative decrease in firmness.

Artificial ripening allowed attainment of greater uniformity and resulted in a shorter process in which only one day was required to move from a determined degree of maturity to the next. A degree of 7 (yellow with a few freckles) was reached in 7 days. Changes in firmness and soluble solids content were accelerated between days 2 and 4, after the application of the ripening treatment.

It was also determined that for artificial ripening, the content of soluble solids constitutes a better indicator of the fruit's maturity degree regarding firmness.

RESUMEN

El conocimiento de las modificaciones que sufre el banano luego de la cosecha es de gran importancia para el desarrollo de alternativas de transformación industrial, dirigidas a la elaboración de productos para el consumo humano.

En este estudio se determinaron la firmeza y el contenido de sólidos solubles de la pulpa de banano no exportable (Musa Cavendish, clones Valery (Robusta) y Gran enano (Giant Cavendish)), durante el proceso de maduración natural y artificial. En cada caso se hizo referencia al color de la cáscara, en los diferentes estados de madurez de la fruta.

La maduración natural fue un proceso largo y poco uniforme, en el que los cambios significativos ocurrieron entre los días 18 y 28, posteriores a la cosecha. En este lapso aumentó drásticamente el porcentaje de sólidos solubles, y ocurrió un descenso significativo de la firmeza.

La maduración artificial permitió obtener mayor uniformidad, y resultó ser un proceso mucho más corto, en el que se requirió de un día para pasar de un grado de madurez determinado al siguiente; alcanzándose el grado 7 (amarillo con pocas pecas) en 7 días. Los cambios en la firmeza y en el contenido de sólidos solubles, fueron acelerados entre los días 2 y 4, posteriores a la aplicación del tratamiento para la maduración.

Adicionalmente, se determinó que para la maduración artificial, el contenido de sólidos solubles constituye un mejor indicador del grado de madurez de la fruta, con respecto a la firmeza.

INTRODUCCION

Las condiciones climáticas de Costa Rica favorecen el cultivo de una amplia variedad de frutas tropicales. Entre ellas figura el banano cuyo cultivo se ha convertido en uno de los pilares de la economía nacional. Es la segunda fuente de ingresos por concepto de exportaciones y coloca al país como segundo exportador mundial de banano.

Las rigurosas normas internacionales para la exportación del producto en fresco han generado la existencia de excedentes bananeros, que constituyen un problema común en los países productores. En Costa Rica la fruta no exportable alcanza cifras superiores a las 110 mil TM/año (Departamento de estadística, 1989). Alrededor del 37% de este banano se utiliza internamente

* Coca Cola Interamerican.

** Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.

para consumo humano; el resto se destina a consumo animal, y una gran cantidad se vierte en los ríos y el mar, provocando graves problemas de contaminación (Aguilar, 1987).

La transformación industrial de los excedentes bananeros, en productos para consumo humano, se observa como una vía que puede contribuir a la solución del problema.

Para el adecuado desarrollo de alternativas de utilización, resulta imprescindible el conocimiento de las características de la materia prima, de manera que ésta se ajuste al proceso por aplicar y genere productos con las características deseadas.

El banano se cosecha antes de haber alcanzado su completa maduración, de manera que como todo fruto climatérico, sufre importantes cambios bioquímicos y físicos luego de la corta.

En la identificación de los diferentes estados de madurez, generalmente se establecen comparaciones con escalas de maduración, en las cuales se define como grado de madurez la evolución del color de la cáscara (Soto, 1985). Sin embargo, las escalas colorimétricas proporcionan muy poca información sobre los cambios químicos, o sobre otras modificaciones físicas que ocurren en la fruta; de manera que, como criterio preliminar en la selección de un rango de madurez para el desarrollo de un producto específico, ofrecen poca ayuda. Chacón (1984), utilizando banano no exportable madurado artificialmente, fijó una escala de maduración que relaciona características de la pulpa como el contenido de almidón, azúcares totales, azúcares reductores, sólidos solubles, pH y humedad, con el color de la cáscara en diferentes estados de madurez.

Sin embargo, no se estudió la evolución de la firmeza de la fruta durante el proceso de maduración, a pesar de ser ésta una característica importante de considerar en cualquier aplicación tecnológica, y fundamental en aquellas en que se requiere mantener la integridad de la fruta durante el proceso, como por ejemplo en la elaboración de trozos de fruta en conserva o de trozos de fruta deshidratados.

En este estudio se evalúan las modificaciones presentadas en la firmeza del banano durante la maduración natural y artificial, así como los cambios ocurridos en el color de la cáscara y en el contenido de sólidos solubles de la pulpa.

MATERIALES Y METODOS

Materia prima

Se utilizó banano no exportable (*Musa cavendish*, clones "Valery" (Robusta) y "Gran Enano" (Giant Cavendish), proveniente de una misma finca productora.

Análisis físicos y químicos

- Color de la cáscara: Descripción visual, utilizando la escala

colorimétrica establecida por Chacón (1984).

- Contenido de sólidos solubles (^oBrix): Se determinó en un refractómetro Abbé (Fisher Scientific), empleando una gota del jugo extraído de la pulpa molida.

- Firmeza: Se midió la fuerza de penetración en un texturómetro Instron modelo 1000. Se realizó la penetración en rodajas transversales de 3 cm de diámetro y 2 cm de altura, tomadas de 3 zonas del banano sin pelar (en el centro y cerca de los extremos); haciendo 4 penetraciones por rodaja. Para las mediciones se utilizaron las siguientes condiciones: se empleó una celda de 50 kg, una aguja de penetración de 3.20 mm de diámetro, y velocidad del cabezal de 20 mm/min. La penetración se efectuó hasta observar estabilidad en el valor obtenido, durante 2 a 3 segundos. Los resultados fueron expresados en kg.

Estudios de maduración

Maduración natural

La firmeza, el contenido de sólidos solubles totales y el color de la cáscara, fueron evaluados durante el período de maduración del banano, almacenado bajo condiciones ambientales (22+2 °C y 84+4 %HR), y empacado en caja de cartón. La evaluación fue realizada diariamente, tomando una muestra de 6 bananos por día. El estudio fue concluido cuando se notó en la fruta el inicio del proceso de putrefacción.

Maduración artificial

La fruta fue madurada artificialmente 3 días después de cosechada, aplicando el método descrito por Chacón (1984), que emplea como agente madurador una solución acuosa de 1500 ppm de Ethrel (ácido 2-cloroetilfosfónico al 39.56%), en la cual el banano es sumergido durante 5 minutos. La fruta tratada fue mantenida bajo condiciones ambientales (22+2 °C y 84+4 %HR), empacada en caja de cartón.

Diariamente se realizó una observación del color de la cáscara, y fueron determinados la firmeza y el porcentaje de sólidos solubles totales, hasta notar la aparición del máximo estado de madurez en la fruta.

A los datos experimentales de firmeza y contenido de sólidos solubles, se les aplicó la prueba de Duncan al 5% de significancia, con el fin de determinar entre cuales grados de madurez existió diferencia estadísticamente significativa.

RESULTADOS Y DISCUSION

Maduración natural

La maduración natural resultó ser un proceso poco uniforme,

dado a que en un mismo lote se pudo observar fruta con diferentes grados de madurez (desde grados 2-3 hasta grados 6-7).

En las unidades más maduras de la muestra, el grado más avanzado de madurez (cáscara amarilla con pecas) se alcanzó 28 días después de que la fruta fue cosechada. Se observa entonces cómo el proceso se caracteriza también por ser extremadamente lento.

La figura N°1 muestra los cambios ocurridos en el banano con respecto a su firmeza, durante el proceso de maduración natural. Se pueden diferenciar 3 zonas:

- La primera zona entre los días 1 al 22, con fuerzas de penetración relativamente altas (1.00-1.30), que indican que el producto se mantiene firme. En esta zona, se encuentra fruta con grados de madurez 1, 2, 3 y 4, que se caracterizan por que su color externo varía desde totalmente verde hasta más amarillo que verde. Además, en este intervalo la fruta presentó cierta dificultad para el pelado, pegajosidad de la pulpa, y las características sensoriales propias del banano maduro (aroma, sabor) no habían iniciado su desarrollo.

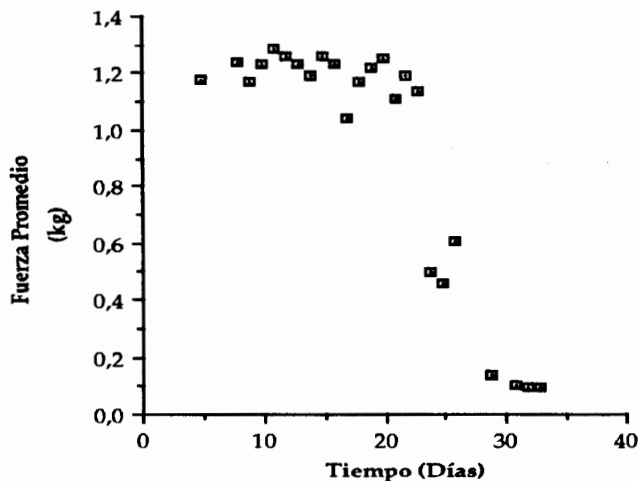


Figura 1. Fuerza de penetración (firmeza) durante la maduración natural de banano.

- En la zona 2 (días 23 a 26, fuerza 0.40-0.60), caracterizada por una firmeza intermedia, se desarrolló el aroma propio de la fruta madura, se facilitó el pelado, y se presentó menor pegajosidad en la pulpa. El color de la cáscara en esta zona varió desde más amarilla que verde hasta la totalmente amarilla (grados 4 a 6).

- La fruta de la tercera zona, obtenida a partir del día 27, y con un color de la cáscara amarillo con pecas (grado 7), presentó una firmeza baja como lo indican los resultados de penetración (fuerza de 0.07 a 0.20).

Se aprecia entonces que a partir de la segunda zona, el banano puede ser utilizado en la elaboración de productos en los cuales el sabor y aroma del banano maduro son características deseables en

el producto final. Sin embargo, se debe considerar que la fruta de la tercera zona, aun cuando posee características sensoriales favorables, puede no ser adecuada para procesos en los que la integridad de los trozos de banano es un criterio importante de calidad.

La evolución en el contenido de sólidos solubles durante la maduración natural, se muestra en la figura N°2. Se observa como no se experimentaron cambios importantes hasta el día 18, cuando empezó a aumentar rápidamente. Este incremento fue todavía más intenso entre los días 23 al 28.

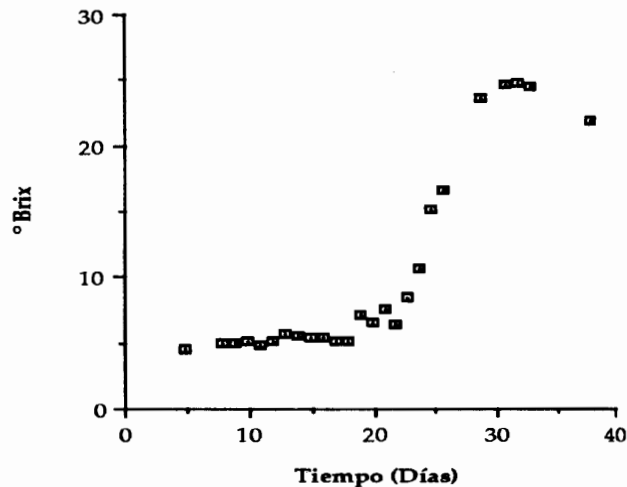


Figura 2. Porcentaje de sólidos solubles totales (°Brix) durante la maduración natural de banano.

Se puede señalar, entonces, que antes del día 18 el banano puede ser empleado en la elaboración de productos en los que las características propias del banano maduro no son deseables o necesarias, y se requiere de un alto contenido de almidones. Esto ocurre, por ejemplo, en la elaboración de harinas o frituras saladas.

El banano con un contenido de sólidos solubles alto y firmeza baja (alrededor del día 28) es apropiado para la elaboración de productos como jugos, vinagres, pulpas, bocadillos, etc.

Maduración artificial

Además de acelerar significativamente el proceso, la maduración artificial permitió obtener mayor uniformidad en el cambio del color de la cáscara, tal como lo afirma Chacón (1984), dado que aun cuando se notó la presencia de más de un grado de madurez en un mismo lote, para la mayor parte de la muestras se requirió de tan solo un día para pasar de un grado de madurez determinado al grado de madurez siguiente. De manera que se requirió únicamente de 7 días para alcanzar el grado en el que la cáscara presentaba un color amarillo con pecas.

Como se observa en las figuras N°3 y N°4, las diferencias en la firmeza y en el porcentaje de sólidos solubles, entre grados de madurez diferentes, fueron marcadas al principio de la maduración, especialmente entre los días 2 y 4. A partir del día 4, la razón de cambio decayó.

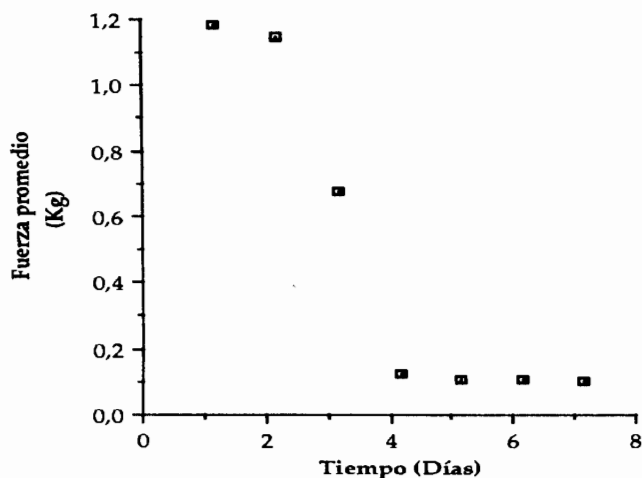


Figura 3. Fuerza de penetración promedio (firmeza) durante la maduración artificial de banano.

Cabe señalar que, debido a la rapidez con que la fruta pasa de un estado a otro durante la maduración artificial, el tiempo en que la fruta puede ser utilizada para una aplicación específica es muy reducido, tomando mayor importancia una buena programación de la producción.

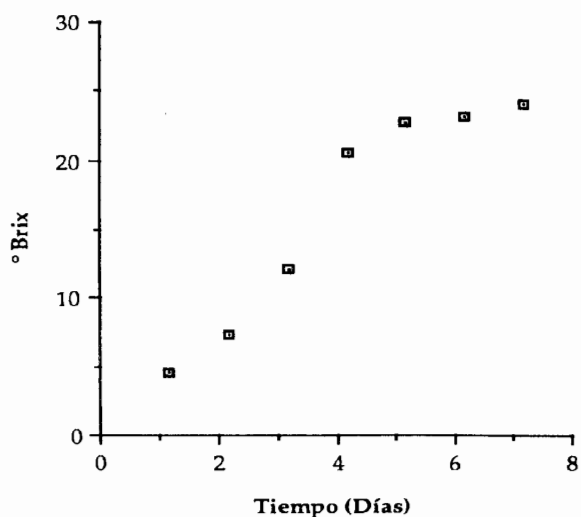


Figura 4. Porcentaje de sólidos solubles totales (°Brix) durante la maduración artificial de banano.

VALORACION DE LA FIRMEZA Y EL CONTENIDO DE SOLIDOS SOLUBLES COMO INDICES DE MADUREZ DE BANANO.

La identificación del estado de madurez del banano con base en la descripción del color de la cáscara es difícil, especialmente entre los grados 1 y 2 y los grados 2 y 3; por lo que, para un control preciso, se requiere de otro indicador que permita una medición cuantitativa y objetiva directamente relacionada con el grado de madurez. Lustre (1977), Desai (1980) y Chacón (1984) mencionan la firmeza de la pulpa, el color de la cáscara y el porcentaje de sólidos solubles como índices útiles del grado de madurez de la fruta post-cosecha. El análisis de Duncan aplicado a los datos obtenidos en este estudio, cuyos resultados se muestran en el Cuadro N°1, indica que el contenido de sólidos solubles constituye un mejor índice de madurez con respecto a la firmeza, por presentar una mayor capacidad para detectar diferencias entre grados de madurez.

CUADRO 1

Análisis de Duncan para los grados de madurez (maduración artificial) a un nivel de significancia del 5%

MEDICION	GRADO DE MADUREZ						
°Brix	1	2	3	4	<u>5</u>	<u>6</u>	7
Fuerza de penetración	<u>1</u>	<u>2</u>	3	<u>4</u>	5	6	7

— = No existe diferencia estadísticamente significativa

La medición del contenido de sólidos solubles, además de ser una determinación sencilla es, entonces, un índice de madurez confiable, que puede ser utilizado para confirmar el grado indicado por la descripción del color de la cáscara del banano en una escala colorimétrica.

CONCLUSIONES

- Durante la maduración natural los cambios importantes en el contenido de sólidos solubles y en la firmeza se observaron a partir de los días 18 y 23 respectivamente, y hasta el día 28. Los cambios en el color de la cáscara empezaron a notarse a partir del día 7.

- En la maduración artificial se observaron modificaciones

aceleradas en contenido de sólidos solubles y firmeza, entre los días 2 y 4; Los cambio de color se iniciaron un día después de haberse aplicado el tratamiento de maduración.

- Para la maduración artificial, el contenido de sólidos solubles constituye un mejor indicador del grado de madurez del banano, con relación a la firmeza.

- El conocimiento de la evolución de la firmeza y el contenido de sólidos solubles del banano, permite realizar una primera delimitación de un rango de madurez de la fruta por utilizar en el desarrollo de un producto específico.

- La maduración artificial de banano generó un aumento importante en la velocidad y uniformidad del proceso, con respecto a la maduración natural.

REFERENCIAS

AGUILAR, F. 1987. Posibilidades de utilización del rechazo bananero en usos alimentarios en Costa Rica. San José: CITA-UCR. 41p.

CHACON, S.I. 1984. Estudio de dos métodos de maduración artificial de banano. Fijación de una escala de maduración. Tesis Lic. en Tecnología de Alimentos. San José. Universidad de Costa Rica, Carrera Interdisciplinaria en Tecnología de Alimentos. 95 p.

CORBANA. DEPARTAMENTO DE ESTADISTICA. 1989. Exportación de banano. San José: . Comunicación personal.

DESAI, B.B. and DESHPANDE, P.B. 1980. Effects of stage of maturity on some physical and biochemical constituents and enzyme activity of banano (*Musa paradisiaca* Linn.) fruits. Food Sci Technol Abstr. 12(3):91.

ICAITI. 1986. Procesos de transformación del banano. Panamá: UPEB. 270 p.

LUSTRE, A.O. et al. 1977. Physicochemical changes in "Saba" bananas during normal and acetylene-induced ripening. Food Sci Technology Abstr. 9(4)96.

PALMER, J. K. 1971. The Banana. In Hulme, A. C., ed. The Biochemistry of Fruits and their Products. London: Academic Press. v. 2.

SOTO, M. 1985. Bananos: Cultivo y Comercialización. San José: LIL. 648 p.

PERFIL FISICO - QUIMICO DE MANZANA VAR. ANA NO COMERCIALIZABLE EN COSTA RICA

Ana C. VELAZQUEZ-CARRILLO*, Jorge SOLANO-ROSALES**

ABSTRACT

Physical and chemical profile of apples variety "Ana" not comerciable in Costa Rica

Apples of the variety "Ana" produced in Costa Rica, not suitable for the fresh market were evaluated to determine their physical and chemical profile. This information is to be used as a starting point in the development of products in order to utilize this waste. A sample of the harvest from a farm called "La Lucha", (one of the major national producers) and of 5 different zones of production in the country were evaluated physically considering: Diameter, Height, Form, Color Weight, Volume and Density; and chemically: Acidity, Starch, Sugars, Ash, Fiber, Moisture, pH and Soluble solids. The results showed that the quality of the fruit is determined by its size characteristics, the bigger the fruit the higher quality. The sampled zones showed no difference in their physical and chemical characteristics. The variety "Ana" presents a higher acid content and a lower sugar content than the "Red Delicious", which is the most important variety in Costa Rica. This fruit is suitable for processing, mainly because of the slow enzymatic oxidation due to its high acid content. In order to develop products that require a minimum of solids to be economically feasible, the low sugar content could cause some disadvantages.

RESUMEN

Se planteó una investigación para determinar el perfil físico-químico de la manzana variedad Ana, y usarlo como punto de partida en el desarrollo de productos que puedan ser una alternativa de comercialización para la fruta que no se podrá vender fresca. Para lograr este objetivo se evaluaron muestras de manzana de diferentes calidades de la finca La Lucha y se determinó el perfil físico-químico de manzanas de 5 zonas del país considerando las siguientes características físicas: diámetro, altura, forma, color, peso, volumen y densidad; y químicas: acidez titulable, almidón, azúcares totales y reductores, cenizas, fibra cruda, humedad, pH y sólidos solubles.

Se encontró que la calidad para la comercialización está en función de las características de tamaño de la fruta: cuanto más grande y de mayor diámetro, se le da un grado de calidad superior. Además, no se encontró diferencia significativa, con un 95 % de confianza, entre las muestras analizadas procedentes de varias zonas del país, tanto en las características físicas como en las químicas. La manzana Ana presenta una acidez mayor que la fruta de la variedad Red Delicious, principal variedad importada, y además un menor contenido de azúcares.

Estas características hacen a la fruta adecuada para el procesamiento, principalmente por su lenta reacción de oxidación enzimática, relacionado con su alta acidez. El bajo contenido de sólidos solubles puede significar un problema en el desarrollo de productos que requieran un mínimo de azúcares para que su producción sea económicamente rentable.

INTRODUCCION

La manzana es una fruta de clima templado que ha sido de consumo tradicional en Costa Rica. Hasta hace unos pocos años no se había fomentado su cultivo, a pesar de contar el país con zonas adecuadas para su explotación.

Se estima que el país importa cerca de 882 t (toneladas métricas) de manzana por año (Miranda, 1989), principalmente de Estados Unidos (entre los meses de octubre y enero), o de Guatemala (entre julio y octubre). Las principales variedades importadas son la "Red Deliciuous" y la "Golden Delicious", pero de Guatemala se importan, además, otras variedades de fruta de menor calidad.

Estas importaciones generan problemas en el país, tales como la

* Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.

** Encargado de Control de Calidad Griffith de C. A. S. A.

dependencia de mercados extranjeros y la fuga de divisas. Además, debido al alto costo con el que se comercializa nacionalmente, el consumo de la fruta fresca se limita a un grupo social medio o alto. Ante este problema el Ministerio de Agricultura y Ganadería solicitó la colaboración del gobierno de Israel y se introdujo al país en 1984 una variedad producida en el Kibutz Ein Shemer como resultado del cruce de la manzana "Golden Delicious" con la variedad "Hadasia Roja". Esta última produce manzanas de mala calidad pero que tienen pocas necesidades de frío (Miranda, 1989).

Este híbrido, conocido como variedad Ana, dio buenos resultados en el país, principalmente en las zonas de altura de la provincia de San José (Los Santos), Santa María de Dota, San Marcos de Tarrazú y en el norte de la provincia de Heredia.

Desde ese momento la producción de manzana fue aumentando considerablemente, tanto así que en 1989 se estimó que se encontraban sembrados cerca de 230,000 árboles, distribuidos entre los 1300 y 1900 metros sobre el nivel del mar. La mayor concentración se encuentra en la provincia de San José (55% de la producción nacional), principalmente en la zona de los Santos (80% de la producción de esta provincia); luego en la provincia de Cartago (28% de la producción nacional), en la provincia de Heredia (14%) y otra parte en Alajuela (3%). Estos huertos produjeron en 1989 cerca de 867 t de fruta (Miranda, 1989).

Dependiendo del método de cultivo que se utilice, de las características del suelo, del clima y de las prácticas de cultivo, se puede obtener entre un 50 y 90% de fruta comercializable. Esta fruta se suele clasificar en 1a, 2a, 3a o industrial, dependiendo de su tamaño, forma, color, apariencia, y estado físico en general. Aquella fruta muy pequeña, con deformidades físicas o que presenta picaduras de pájaros o insectos, se considera "rechazo".

En estos momentos, en Costa Rica se logra comercializar fresca toda aquella manzana que no esté alterada físicamente, sin importar el color, tamaño o apariencia. Sin embargo, los pronósticos basados en el número de árboles sembrados y en la tendencia a sembrar nuevos huertos indican que para 1992 se producirán cerca de 3940 t de fruta. Con este aumento en la oferta posiblemente el consumidor se haga más selectivo y la manzana de tercera pase a convertirse en rechazo. El rechazo en estos momentos se descarta o, en el mejor de los casos, se utiliza para alimento animal.

Considerando el número de árboles sembrado y la tendencia de aumento en la siembra, se estima que de esta producción un 70% posiblemente será fruta comercializable y un 30% industrial y de rechazo. Esto implicaría cerca de 1182 t de fruta para procesar. Partiendo de este aumento de la producción y la posibilidad de tener una cantidad importante de fruta de rechazo, se planteó una investigación para determinar el perfil físico-químico de la manzana variedad Ana, y usarlo como punto de partida en el desarrollo de

productos que sean una alternativa de comercialización para la fruta que no podrá venderse fresca.

MATERIALES Y METODOS

- Características físicas

Se tomó una muestra al azar de fruta, generalmente entre 40 y 50 unidades, luego se procedió a evaluarla considerando las siguientes características: peso, diámetro, altura (medidas con un vernier en el centro de la fruta), porcentaje de color rojo, la cantidad aproximada de color rojo intenso del total de la superficie de la fruta, volumen (por desplazamiento de agua en una probeta de boca ancha) que presenta una incertidumbre de ± 10 mL. A partir de estas características se establecieron relaciones de forma (el cociente de diámetro entre altura) y densidad (la relación peso entre volumen).

1. Se tomó una muestra de 40 a 50 manzanas de la zona de los Santos, específicamente de la finca La Lucha, del producto que clasifica como manzana de segunda, tercera e industrial, y se procedió a evaluarla de acuerdo a sus características físicas.

2. Se tomó una muestra de 30 a 50 manzanas de cada una de 5 diferentes procedencias del país (Cuadro 1), y se analizaron de acuerdo con las características físicas que presentaban. Se incluyó el análisis de una variedad utilizada como polinizador (árbol con alta cantidad de polen que incentiva un aumento de la producción de fruta en el huerto).

Los resultados de estos análisis se presentan como el promedio de cada determinación con su respectiva desviación estándar.

Estos resultados se analizaron de acuerdo con un cuadro de análisis de varianza, utilizando t de student, para determinar si existía o no una diferencia estadística entre zonas analizadas.

CUADRO 1. Origen de la fruta analizada

LOCALIDAD	PROVINCIA	CANTON	DISTRITO
Carrizal	Heredia	Santo Domingo	1° S. Domingo
Copey	San José	Dota	3° Copey
Coronado	San José	Vázquez de Coronado	1° San Isidro
La Lucha	San José	León Cortez Castro	5° Santa Cruz
San Marcos	San José	Tarrazú	1° San Marcos
Turrialba	Cartago	Turrialba	4° Santa Cruz

FUENTE: Chinchilla, 1987.

- Características químicas

Se tomó una muestra de 30 a 40 frutas en tres diferentes momentos de la cosecha de la zona analizada. De cada muestra se procedió a hacer una papilla (de la fruta pelada y descorzada), utilizando una licuadora Osterizer, y a esta pulpa se le practicaron los siguientes análisis químicos: - Acidez titulable de acuerdo al método N° 22.061 del AOAC; los resultados se expresaron como % de ácido málico de acuerdo un factor de conversión de 0.067 (Joslyn, 1978). - Almidón, mediante una determinación con yodo, siguiendo el método descrito por Nielsen (1943), pero haciendo las siguientes variaciones: se tomaron 4 g de pulpa con 5.4 mL de ácido perclórico al 72%, luego de dejarlo en reposo se aforó a 100 mL con agua destilada, se filtró y se tomó una alícuota de 15 mL, se colocó en un balón de 100 mL, se formó el complejo coloreado con yodo, y se leyó por absorción atómica utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-240 y se comparó contra una curva de calibración elaborada con almidón extraído de manzana variedad Ana; -azúcares totales y reductores: se aplicó el método descrito por Nelson Somogi (1945) utilizando un blanco con sacarosa para los azúcares totales y uno de glucosa para los azúcares reductores. - Cenizas, siguiendo el método N° 22.025 del AOAC. - Fibra cruda, utilizando el método descrito por Pearson (1976) omitiendo el tratamiento para desgrasar la muestra por tener ésta menos de 1% de grasa. - Humedad, siguiendo el método N° 22.018 del AOAC. - Pectina: se utilizó el método descrito por Mc Cready (1952) con el uso de carbazol para elaborar el complejo coloreado, con la modificación propuesta por Kosakai (1979) y con una corrección debida a la interferencia de azúcares de acuerdo a los análisis realizados por Kintner (1982). Kosakai (1978), Koseki (1986) y Galambos (1976); los resultados se presentaron como porcentaje de ácido galacturónico. - pH, utilizando un pH meter calibrado a un pH de 4.01. - Sólidos solubles, utilizando un refractómetro de Abbé y los resultados se expresaron en grados Brix, de acuerdo con el método N° 22.024 del AOAC.

Los resultados de los análisis por zona se reportaron como la media de las tres muestras analizadas de cada zona con su respectiva desviación estándar. Se le aplicó un análisis estadístico a cada característica, utilizando un análisis de varianza para determinar la posible diferencia significativa entre las zonas.

RESULTADOS

1. En el Cuadro 2 se muestran los resultados de la caracterización física de las manzanas procedentes de la finca La Lucha. Se puede observar una diferencia importante con respecto a la clasificación de calidad que se le aplica, sobre todo en los parámetros de tamaño de la fruta: diámetro, altura, peso y volumen, concluyendo en que un aumento en el tamaño va a implicar un incremento en la calidad.

En la relación de forma (D/A) se observa que, al aumentar ésta, se considera que la manzana es de mayor calidad, acercándose este valor a lo reportado en la literatura para la manzana variedad "Red Delicious" que tiene una relación mayor a 1. En cuanto a la relación de densidad (P/V) no se encontró una tendencia entre las diferentes calidades, pero sí un valor similar entre ellas.

CUADRO 2. Resultados de la caracterización física de la manzana de La Lucha

CALIDAD	DIAMETRO	ALTURA	FORMA	PESO	VOLUMEN	DENSIDAD	COLOR ROJO
	D (cms)	A (cms)	D/A (g)	P (mL)	V	P/V	C (%)
SEGUNDA							
Media	6.37	7.28	0.88	118.4	149	0.80	66
Desviación	0.54	0.44	0.11	13.4	18	0.04	14
TERCERA							
Media	5.69	6.70	0.85	90.7	108	0.85	64
Desviación	0.32	0.49	0.05	12.1	18	0.05	16
INDUSTRIAL							
Media	4.84	5.83	0.83	60.5	75	0.81	78
Desviación	0.54	0.78	0.07	16.3	23	0.07	11

2. En el Cuadro 3 se presentan los resultados de la caracterización física de manzanas de calidad industrial, de diferentes zonas del país. Se puede observar que estas muestras tienen un comportamiento similar en cuanto a su forma y tamaño.

CUADRO 3. Caracterización física de la manzana de diferentes zonas analizadas

PROCEDENCIA	DIAMETRO	ALTURA	FORMA	PESO	VOLUMEN	DENSIDAD	COLOR ROJO
COPEY							
media	4.97	5.72	0.87	64.4	74	0.88	82
desviación	0.80	0.67	0.11	15.4	20	0.06	11
CORONADO							
media	4.490	5.355	0.849	48.4	58	0.84	81
desviación	0.284	0.645	0.108	9.2	11	0.03	10
SAN MARCOS							
media	4.85	5.62	0.87	62.8	73	0.88	80
desviación	0.65	0.67	0.10	16.8	21	0.08	13
LA LUCHA							
media	4.84	5.83	0.83	60.5	75	0.81	78
desviación	0.54	0.78	0.07	16.3	23	0.07	11
TURRIALBA							
media	6.02	7.07	0.86	119.1	149	0.88	82
desviación	0.50	0.70	0.05	27.0	35	0.08	9
POLINIZADOR							
media	5.01	4.43	1.14	53.0	59	0.90	40
desviación	0.57	0.54	0.10	14.4	17	0.05	24

Para el caso de la muestra del polinizador, se observa principalmente una diferencia en cuanto a la forma de la fruta, con un valor de D/A mayor a 1. El color de la fruta es amarillo con ligeras pintas rojas.

Luego del análisis estadístico utilizando "t de student", se encontró, con un 95% de certeza, que las muestras de las zonas de Copey, Coronado, San Marcos y La Lucha no presentan diferencias significativas entre ellas. La muestra de Turrialba sí se aleja de las

anteriores, pero posiblemente debido a que la fruta suministrada para la muestra no era de calidad industrial, sino de tercera o segunda.

- Caracterización química

En el Cuadro 4 se muestran los resultados obtenidos en la caracterización química de las muestras de diferentes zonas analizadas.

CUADRO 4. Caracterización química de las manzanas de las diferentes zonas analizadas

PROCEDENCIA	ACIDEZ AC (% ac. málico)	ALMIDON AL (%)	AZ. TOTALES AT (%)	AZ, REDUC. AR (%)	CENIZAS Ce (%)	FIBRA CR. FC (%)	HUMEDAD HU (%)	PECTINA PEC (% ac galac)	pH	SOL SOLUBLES SS (° BRUX)	MADUREZ SS/AC
COPEY											
media	0.492	0.504	10.79	8.89	0.29	1.90	85.99	0.725	3.26	10.35	21.490
desviación	0.061	0.134	0.30	1.08	0.01	0.04	0.38	0.095	0.03	0.12	2.930
CORONADO											
media	0.592	0.568	8.85	7.87	0.25	1.89	85.66	0.770	3.28	9.90	16.735
desviación	0.004	0.167	2.99	3.32	0.10	1.26	28.81	0.067	0.01	0.40	0.774
HEREDIA											
media	0.577	0.742	11.19	6.44	0.28	1.86	86.86	0.730	3.34	10.92	19.008
desviación	0.026	0.145	0.79	0.06	0.02	0.04	0.64	0.039	0.01	0.22	1.294
SAN MARCOS											
media	0.573	0.956	8.84	6.34	0.25	1.92	85.70	0.621	3.25	10.64	18.567
desviación	0.007	0.013	0.05	0.13	0.02	0.03	0.29	0.024	0.01	0.18	0.440
TURRIALBA											
media	0.690	0.811	8.58	5.80	0.32	1.55	84.49	0.671	3.20	10.43	15.214
desviación	0.264	0.344	3.36	2.54	0.15	0.86	28.67	0.289	1.09	3.71	6.200
LA LUCHA (3a)											
media	0.531	0.768	10.46	6.19	0.24	1.87	84.89	0.790	3.32	10.75	20.372
desviación	0.034	0.146	0.20	0.08	0.01	0.01	0.61	0.030	0.02	0.17	1.539
POLINIZADOR											
media	0.326	0.978	8.56	6.11	0.24	1.54	85.80	0.631	3.50	9.79	30.258
desviación	0.126	0.329	2.88	2.16	0.11	0.80	29.00	0.219	1.17	3.29	11.758
RED DELICIOUS (*)	0.25	13.17	9.59	0.26				0.41 (**)	3.99	15.46	61.84
GOLDEN DELIC. (*)	0.40	12.08	8.43	0.25				0.64 (**)	3.62	14.60	36.50

NOTA: (*) Datos tomados de Hart, 1971

(**) % de pectato de calcio

Se puede observar que la manzana variedad Ana presenta diferencias importantes con respecto a las características que se reportan en la literatura para la manzana variedad "Red Delicious", principalmente en aspectos como acidez, sólidos solubles y azúcares. La manzana variedad Ana es mucho más ácida y menos dulce que la "Red Delicious".

Utilizando el análisis estadístico se encontró que las características de acidez, almidón, azúcares reductores, cenizas, fibra cruda, humedad, pectina, sólidos solubles, y la razón de sólidos solubles / acidez, entre las diferentes zonas analizadas, no presentan diferencias significativas, con un 95% de certeza. Pero en el caso del parámetro de azúcares totales, las muestras presentan, con un 95% de certeza, una diferencia significativa.

DISCUSION

La calidad de la fruta es determinada por las características físicas que presente en su forma y en su tamaño; consecuentemente, una fruta mayor tamaño tenga mayor va a ser su calidad en el mercado. La manzana que se produce en el país variedad Ana, presenta características muy particulares al compararla con las principales variedades importadas. En las características físicas se puede observar una forma alargada (relación de forma D/A < 1), un color rojo fuerte que por lo general cubre entre un 75 y 100% de la fruta, y conforme más pequeña es, mayor es la probabilidad de encontrar

fruta con alto porcentaje de color rojo.

Al utilizar polinizadores en el huerto, se lleva a cabo una incorporación de fruta que no presenta las mismas características. Esto hace que se produzca una disminución en la calidad del lote, principalmente al contener fruta que no tiene un color rojo definido, y que presenta factores químicos diferentes a la manzana variedad Ana, principalmente en su contenido de acidez, sólidos y azúcares. Por los resultados obtenidos en el perfil físico se logra observar que la manzana no tiene una variación importante entre las diferentes zonas de siembra del país. Esto permite mantener las características de un suministro de manzana sin importar su zona de origen. Esta es una característica favorable, muy importante, para considerar la posibilidad de industrializar esta manzana.

En Costa Rica la fruta de calidad industrial, variedad Ana presenta una alta acidez, por lo tanto un valor de pH bajo. Esto facilita la industrialización, ya que el tiempo en el que se produce el empardeamiento enzimático por exposición al oxígeno es mucho más largo, al contar con un antioxidante natural, como es la acidez. Otra ventaja que se presenta al tener una pulpa de fruta con un pH bajo, es que disminuye la cantidad de ácido cítrico que hay que adicionarle para favorecer su conservación durante la elaboración de productos.

El contenido de sólidos solubles es bastante inferior al reportado en la literatura para otras variedades de manzana (Hart, 1971). Esto puede ser un factor negativo para elaborar productos que requieren un contenido mínimo de azúcar o sólidos, como es el caso de las jaleas, jugos o néctares.

CONCLUSIONES

Las diferentes zonas analizadas no presentan diferencias estadísticamente significativas en cuanto al perfil físico de la fruta. Algunas diferencias van a estar íntimamente relacionadas con la clasificación de calidad a la cual se someta, precisamente por estar la calidad muy relacionada con el tamaño de la fruta.

La manzana utilizada como polinizador en la finca La Lucha difiere de la variedad Ana, en cuanto al porcentaje de color rojo que contiene y a su relación de forma.

La composición química de la manzana industrial analizada presenta diferencias en cuanto a su contenido de acidez y de sólidos solubles con la manzana variedad Red Delicious.

Las características químicas que presenta la manzana en cuanto a su acidez, la hacen apta para industrializarla, pero en lo que respecta a su contenido de sólidos solubles no compete con otras variedades para el desarrollo de productos que requieren un mínimo de sólidos solubles para ser rentables.

REFERENCIAS

- CHINCHILLA, E. 1987. Atlas Cantonal de Costa Rica. San José: IFAM. 75 p.
- GALAMBOS, J. 1967. The Reaction of Carbazole with carbohydrates. Anal Biochem. 19: 119-132.
- HART, F. L. FISHER, H. J. 1971. Análisis moderno de los alimentos. Zaragoza: ACRIBIA.
- HORWITZ, W., ed. 1979. Official methods of analysis. 11 ed. Washington, D. C.: AOAC.
- KINTNER, P. JEROME, P. 1982. Carbohydrates interference and its correlation on Pectin Analysis using m-Hidroxydiphenil Method. J. Food Sci. 47:756.
- KOSAKAI, M. 1979. A partial modification of the Carbazole method of Bitter and Muir for the Quantification of Hexahuronic Acids. Anal Biochem 93: 295-298.
- KOSAKAI, M. 1978. Study of the Factors Yielding High color in the Carbazole Reaction with Hexauronic acid-containing substances. J. Biochem 84: 779-785.
- KOSEKI, M. 1986. Determination of Pectin in the Presence of Food polysaccharides. J Food Sci 51 (5): 1329-1332.
- McCREADY. 1952. Extraction and Determination of Total Pectic Materials in Fruits. Anal Chem 24 (12).
- McCREADY. 1952. Colorimetric Detemination of Pectic Substances. Anal Chem 24 (10).
- MIRANDA, E. 1989. Estudio de la situación y el consumo de la manzana en Costa Rica, con énfasis en la futura etapa de expansión de la década 1988-1998. Tesis Lic. en Agronomía. Universidad de Costa Rica, 146 p.
- NIELSEN, J. 1943. Rapid determination of Starch. Anal Edition. 15 (3): 176.
- PEARSON, D. 1976. Análisis químico de los alimentos. Zaragoza: ACRIBIA. 584 p.
- SOMOGI, M. 1945. A New Reagent for the Determination of Sugars. J. Bio. Chem. 160: 61-68.

ASPECTOS DE LA ELABORACION DE QUESO BLANCO EN COSTA RICA

Randall MAYORGA-JIMENEZ*

ABSTRACT

Aspects of the manufacture of "White Cheese" in Costa Rica

In Costa Rica the "White Cheese" is the cheese of higher popular demand, being estimated in 14.076 metric tons per year, about 70% of the total of the consumed cheeses.

As white cheese are known mainly three types of cheese: 1) The fresh white cheese "Turrialba type", 2) The semihard cheese and with less humidity content than the first one, 3) The salty hard cheese "Bagaces type". Its elaboration process is similar in relation to the use of whey (renine) to produce the coagulation of caseine, but differ because of the treatment given to the whey and of the pressing conditions. These differences affect the humidity, fat and sodium chloride content. The "Turrialba type" cheese has a softer texture and taste, contrary to the semihard and hard cheeses, which are more salty.

In other Latin-American countries this type of cheese is elaborated using organic acids to precipitate the caseine. This elaboration form gives cheese with different characteristics in relation to those obtained by the traditional processes of Costa Rica, because of the absence of lactic cultures (normal flora) that are responsible of the development of the particular tastes and flavors of our cheeses.

RESUMEN

En Costa Rica el "Queso Blanco" es el queso de mayor consumo popular. Se estima 14 076 toneladas métricas al año, cerca del 70% del total de quesos consumidos.

Como queso blanco se conocen principalmente tres tipos: 1) El queso blanco fresco "Tipo Turrialba", 2) El queso semiduro y de menos contenido de humedad que el anterior, 3) El queso duro salado "tipo Bagaces". Su forma de elaboración es semejante en cuanto al uso de cuajo (renina) para producir la coagulación de la caseína, pero difiere por el tratamiento de la cuajada y por las condiciones de prensado. Estas diferencias afectan el contenido de humedad, grasa y cloruro de sodio. El queso "Tipo Turrialba" es de textura y sabor más suaves, contrario a los quesos semiduros y duros los cuales, además son más salados.

En otros países latinoamericanos se elabora este tipo de queso utilizando ácidos orgánicos para precipitar la caseína. Esta forma de elaboración conduce a obtener quesos con características diferentes a los obtenidos por los procesos tradicionales de Costa Rica, debido principalmente a la ausencia de cultivos lácticos (flora normal) que son responsables del desarrollo de los sabores y aromas particulares de nuestros quesos.

INTRODUCCION

El queso blanco es un producto clasificado en el mundo entre los quesos denominados "White Cheeses"; a este grupo pertenecen varios tipos de queso como Cottage y Quarg (Battistotti et al., 1985; Fox, 1987; Scott, 1981). El consumo de este tipo de quesos abarca amplias regiones del mundo, como Latinoamérica, Israel y los países árabes lo cual provoca a la existencia de gran diversidad en las características de elaboración y por tanto en el producto final. Kosikoski, 1982, menciona que el genuino queso blanco es aquel que se elabora a partir de leche de cabra, oveja y búfalo, donde el pigmento carotenoide se encuentra ausente. Sin embargo, la tradición y la práctica en Latinoamérica afirman la existencia de quesos blancos elaborados a partir de leche de vaca. Esta tradición

* Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.

ha creado diferentes tipos de queso blanco, conocidos como: queso del país y queso de puna, en Puerto Rico; queso de prensa en México, Venezuela y El Salvador; quesillo en Chile; queso estera y "campesino" en Colombia, queso blanco tipo Turrialba y tipo Bagaces en Costa Rica (Arispe y Westhoff, 1984; Fernandes, 1985; Kosikowsla, 1982).

La tradición de consumo es variada, gracias a la facilidad de utilización del queso. Se consume solo, en frituras tostadas, en plátillos preparados, como un ingrediente mayor de ensaladas, en pan de maíz, para comer con pan, para condimentar repostería o para freír, acompañado con compotas y dulces de frutas, en pizzas, etc. (Chandan, et al, 1979; Fernandes, 1985; Ivankovich et al., 1989; Mol, 1988).

Normalmente el proceso de elaboración parte de leche parcialmente descremada o leche entera de vaca. Se procede a su coagulación utilizando solamente cuajo, cuajo y cultivo, cuajo y ácido, o ácidos orgánicos. El producto obtenido luego del drenaje del suero, es salado, moldeado, posteriormente prensado, y es consumido en su estado fresco. Existen diferencias en cuanto a su sabor, dureza y características de corte (Fernandes, 1980; Hill et al., 1982; Moore et al., 1986).

En Costa Rica el nombre "queso blanco" es genérico para una gama de productos con características similares en cuanto a color, sabor y textura principalmente (Sequeira, 1981). Del total de quesos consumidos (16.816 toneladas por año) el queso blanco constituye el más importante, con un consumo de 12 583 toneladas por año. Se estima que el consumo per cápita de queso blanco es de 5.02 Kg/persona/año (Aguilar y Figueroa, 1989; Ivankovich y Aguilar, 1989; Ivankovich et al., 1989).

Se encuentran quesos con alta humedad (mayor de 50%), conocidos como "queso blanco fresco" o "queso tierno", quesos de menor humedad (menor al 45%) y de textura más sólida como el "queso semiduro" o el "queso para freír", así como quesos de un bajo contenido de humedad (menor al 30%) y de textura muy dura como el "queso tipo bagaces".

Existe además un grupo de quesos de cuerpo hilado, alta humedad y bajo contenido de grasa, conocido como "queso tipo palmito", como también un último grupo de quesos de alto contenido de humedad y de grasa, conocidos como "queso crema".

El procedimiento de elaboración de estos tipos de quesos (con excepción de los dos últimos mencionados) y su relación con los utilizados en otros países, en cuanto a las características físico-químicas y reológicas, serán analizados en la presente revisión.

Principios básicos en la elaboración del queso blanco

Si bien no es posible agrupar los diferentes tipos de queso

producidos en el mundo bajo un solo esquema, existe un procedimiento general que indica cada etapa necesaria en la elaboración:

1. Tratamiento de la leche
 - Pasteurización
 - Estandarización
 - Pre-maduración
 - Adición de cultivos
 - Adición de aditivos
2. Elaboración de la cuajada
 - Coagulación
 - Corte del coágulo
 - Pre-agitado
 - Drenaje del suero
 - Calentamiento
 - Post-agitado
 - Desuerado
3. Manejo de la cuajada
 - Prensado
 - Salado
 - Almacenamiento
4. Maduración
 - Temperatura controlada
5. Empaque

Cada una de estas etapas es discutida ampliamente por Brule, et al., 1986, y Scott, 1981, quienes destacan la influencia que tienen sobre las características del queso elaborado.

En lo que se refiere al queso blanco, es sumamente difícil enmarcarlo en un esquema rígido como el mencionado, ya que se encuentra que la tradición en los diferentes países de Latinoamérica y en particular en diferentes zonas de Costa Rica, se han producido diferentes formas de elaboración y, asociados con ellas, diferentes tipos de queso conocidos todos como "queso blanco".

Considerando estos aspectos, es posible establecer una secuencia de etapas sencillas, en las cuales se agrupan las diferentes formas de elaboración, incluyéndose la escala artesanal, mediana y la industrial empleadas para el queso blanco en Costa Rica. Esta serie de etapas son las siguientes:

1. Preparación de la leche
2. Coagulación de la leche
3. Corte de la cuajada
4. Desuerado de la cuajada
5. Salado de la cuajada
6. Moldeo de la cuajada
7. Prensado
8. Empaque
9. Almacenamiento

Es en este marco de referencia en el cual se analizarán las características de nuestros quesos tradicionales en comparación con los de otros países.

Antes de iniciar este análisis es necesario mencionar algunas características de los diferentes tipos de queso blanco típicos de Costa Rica. Existe una gran variedad de tipos de queso. Sin embargo, solamente se considerarán los más importantes en cuanto a su consumo:

- a) El queso blanco fresco (tipo Turrialba) con un alto contenido de humedad (mayor al 50%), un contenido de grasa variable (10%-26%), con un contenido de sal variable (1-3%) de color blanco amarillento (crema), sabor simple, no ácido y de textura suave, corte limpio no grasoso.
- b) El queso blanco semiduro con un contenido medio de humedad (menor al 45%), un contenido de grasa variable (menor al 20%), un contenido medio de sal (1 - 3%), de coloración blanco amarillento, de sabor suave, no ácido.
- c) El queso blanco duro (tipo bagaces) con un bajo contenido de humedad (menor al 30%), un contenido de grasa variable (menor al 20%), una coloración amarillenta, un sabor y olor fuertes, un alto contenido de sal (cerca al 10%).

Figura 1. Elaboración de queso fresco y semiduro

Leche ↓	Preparación de la Leche: - Íntegra: 3.5 - 4.2% de grasa (1), (2) - Semi descremada: 2% de grasas - Pasteurización: - 71.5 °C x 15" (1) - Cruda (1), (2) - Adición de Aditivos: Cloruro de calcio (1) Nitrato de potasio (2) - Adición de cultivo láctico: 0.5 - 1.5% (1), (2)
Estandarizar ↓	Coagulación de la Leche - Adición de cuajo: - líquido - (tenero y microbiano) (1), (2) pastilla (microbiano) (1), (2)
Coagulación (30 - 40 °C) 30 - 45 minutos ↓	Corte de la cuajada: 10 - 20 mm - Con la mano (1), (2) - Con cuchillo (1), (2) - Con lira (1), (2)
Corte 5 minutos ↓	(En algunos casos no se agita la cuajada dejándola solamente reposar)
Agitación 5 - 10 minutos ↓	Desuerado de la cuajada: - Total (1), (2)
Desuerado 20 - 10 minutos ↓	Salado de la cuajada: - Directa: 0.35 - 0.7% en (1) (peso de leche inicial) 0.7 - 1.5% en (2)
Salado ↓	Moldeo de la Cuajada: - Acero inoxidable (1), (2) - Madera (1), (2) - Plástico (1), (2) - Cuero (1)
Moldeo ↓	Prensado: 0.5 - 1.0 kg/cm ² a) Sin prensado: - solo volteos, (3-9hr), (1) - escurrido (6-9 hr), (1) b) Con prensado: Colocación de piedras sobre los quesos (6-12hr) (1), (2) Utilización de prensas de palanca (1), (2) Utilización de prensas hidráulicas (10 - 30 minutos), (1), (2)
Prensado ↓	Empaque: a) Sin empaque (1), (2) b) En polietileno bajo densidad (1) c) Empaque al vacío (1)
Empaque ↓	Almacenamiento: a) Temperatura ambiente (2) b) Refrigeración (1)
Almacenamiento	

(1) queso blanco fresco
(2) queso blanco semiduro

Proceso de elaboración

La elaboración del queso blanco fresco y del queso blanco semiduro es muy similar. Difiere en la fuerza y el tiempo del prensado. La forma de elaboración así como las variantes de proceso encontradas en Costa Rica, se describen en la Figura N^o 1. En el caso del queso blanco duro, el proceso de elaboración se muestra en la Figura N^o 2.

1. Preparación de la leche

La preparación de la leche consiste en algunos casos en la

eliminación parcial o total de la crema, y en la aplicación de algún tratamiento térmico (pasteurización) que permita la eliminación de las bacterias patógenas presentes en la leche. Sin embargo, este tratamiento térmico en la mayoría de los casos no se lleva a cabo, principalmente en los quesos producidos en forma artesanal (quesos semiduros y duros).

Un estudio microbiológico realizado por Blanco (1983) mostró que el queso blanco elaborado a partir de leche íntegra sin pasteurizar, presenta durante su proceso de elaboración un incremento en el contenido de *Staphylococcus aureus* y de coliformes. Menciona que los recuentos de *S. aureus* son superiores a 10⁴ bacterias/g, mientras que los de coliformes fecales sobrepasan los 10³ bacterias/g. Este

estudio mostró que los quesos blancos elaborados con leche sin pasteurizar presentan un alto riesgo de consumo. Posteriormente, Cordero (1984) reportó que los niveles de coliformes totales y fecales en muestras de queso blanco elaborado a partir de leche sin pasteurizar presentan niveles superiores a los 104 bacterias/g. Las muestras del queso fueron obtenidas en diferentes puntos de venta.

Si bien el queso blanco obtenido a partir de leche cruda posee un mejor sabor que el obtenido a partir de leche pasteurizada, producto de la flora láctica normal de la leche, el riesgo relacionado con su consumo como producto fresco lo convierten en "no adecuado".

Figura 2. Elaboración de queso blanco duro

Leche	Preparación de leche: - Semi descremada: 2.0 - 3.0% - Leche cruda - Adición de aditivos: - Cloruro de calcio - Nitrato de potasio - Adición de cultivo láctico: 0.5 - 1.5%
↓	
Estandarización	
↓	
Coagulación 20 - 40 minutos	Coagulación de la leche: - Adición cuajaj: - Líquido: (ternero o microbiano) - Pastilla (microbiano)
↓	
Corte 5 minutos	Corte de la cuajada: 10 - 20 mm - con la mano - con cuchillo - con lira
↓	
Agitación 5 - 10 minutos	Agitación: (no es frecuente que se realice la agitación: sin embargo es conveniente realizar la agitación de la cuajada para lograr un contenido menor de humedad en el queso.
↓	
Desuerado 10 - 20 minutos	Desuerado de la cuajada: el máximo posible.
↓	
Moldeo 20 minutos	Moldeo de la cuajada: - madera - plástico - acero inoxidable
↓	
Prensado 0.5 - 9 horas	Prensado: 1.0 - 2 kg/cm ² - utilización de piedras o pesas - utilización de prensas de palanca - utilización de prensas hidráulicas
↓	
Salado 21 - 60 días	Salado: - Directo: con sal molida cubriendo los bloques de queso - En salmuera: inmersión de los bloques de queso en salmuera de 16 - 20% de sal.
↓	
Almacenamiento	Almacenamiento: - Temperatura ambiente

La elaboración de queso blanco a partir de leche pasteurizada permite obtener un producto microbiológicamente más seguro. Sin embargo produce un queso insípido, que no llega a desarrollar en almacenamiento mejores características organolépticas. Además es un queso más susceptible a las contaminaciones posteriores a la pasteurización, como lo han revelado estudios preliminares, al almacenar el queso a temperatura ambiente.

Una solución a este problema ha sido la promoción del uso de cultivos lácticos entre los productores medianos y pequeños. Sin embargo, el alto costo, así como la infraestructura necesaria para su adecuado manejo no han permitido su implementación. Esta situación ha inducido a utilizar yoghurt y leche cultivada como fuentes de cultivos lácticos, con los cuales no es necesario contar con implementos e instalaciones costosas. Se han obtenido buenos resultados en cuanto al mejoramiento del sabor, aportándose además bacterias lácticas que protegen el queso de posibles contaminaciones (Mol, 1988). Sin embargo aún es necesario evaluar el efecto de estos tipos de cultivos y de otros en las características organolépticas típicas del queso blanco.

La interacción de las bacterias lácticas presentes en productos comerciales (yoghurt y leche cultivada) con las bacterias de la flora normal de la leche y la posible inhibición de las bacterias patógenas por la competencia biológica que se puede establecer, deben ser estudiados, tomando en cuenta el porcentaje de inóculo, humedad final del queso, condiciones de almacenamiento, así como la utilización de algún aditivo para inhibir las bacterias patógenas y ácido butíricas.

Mol (1988) menciona el uso del nitrato de potasio (KNO₃) con la finalidad de evitar la formación precoz de gas durante las primeras etapas de la elaboración del queso. La formación de gas es producto de las coli-bacterias, las cuales se desarrollan a pH superiores a 5.0. Indica claramente que el uso de KNO₃ se debe recomendar en la elaboración de quesos sin pasteurizar, cuando se usa un cultivo iniciador que desarrolla acidez durante el proceso y en las primeras horas del almacenamiento.

El uso de KNO₃ es reciente en Costa Rica, por lo cual aún no se han evaluado los niveles presentes en el producto fresco, así como el mejoramiento de la calidad y vida útil del queso blanco.

2. Coagulación de la leche

La coagulación de la leche se puede realizar de cuatro maneras distintas:

- 1) Coagulación enzimática: se utiliza normalmente renina. Es el resultado del agrupamiento, en presencia iones de calcio, de las miscelas de caseína inestabilizadas por la renina.

- 2) Coagulación por acidificación de la leche al producirse ácido láctico como producto de la fermentación láctica, y llegarse al punto isoeléctrico de la caseína (pH 4.6). Es el resultado de la ruptura de las miscelas, por el ácido formado o adicionado, con el rompimiento de las uniones peptídicos de la caseína, y su precipitación total en su punto isoeléctrico.
- 3) Coagulación por combinación de acidificación por fermentación o adición de ácidos y la adición de cuajo. Es básicamente una coagulación enzimática.
- 4) Coagulación por acidificación directa de la leche entre los 80 - 90°C: es el resultado del aumento del punto isoeléctrico de las caseínas con la temperatura alta, con el resultado de un valor de punto isoeléctrico aparente.

En Costa Rica, la coagulación de la leche se realiza utilizando solamente cuajo o una combinación de cuajo y cultivo láctico. Generalmente se realiza entre los 30° y los 40°C, siendo más usual cerca de los 30°C.

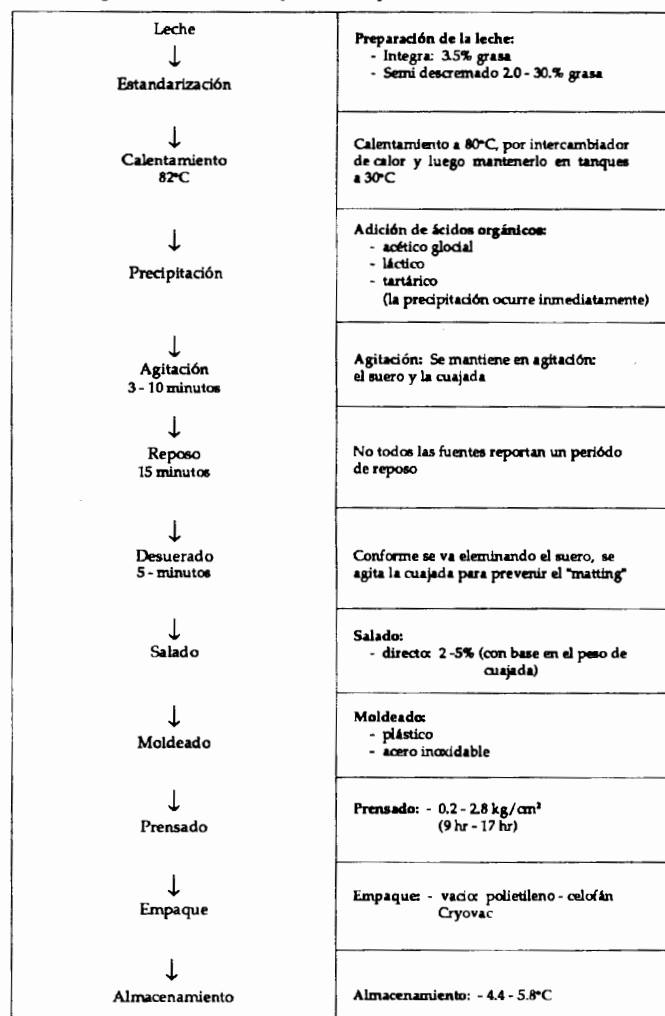
A la leche ya preparada se le adiciona el cuajo. El tipo de cuajo utilizado depende de la costumbre, por lo que se encuentra la utilización de cuajo en pastilla (de ternero o microbiano), cuajo líquido (de ternero o microbiano), así como trozos secos de estómago de terneros. En algunos casos se utiliza la savia de algunas plantas, como las del árbol de Chicasquil (*Jatropha aconitifolia*) (Madrigal, 1988).

Algunos autores describen la utilización de ácidos como cítrico, acético, láctico, tartárico, fosfórico y clorhídrico, a temperaturas de 82°C para provocar la coagulación de la leche, catalogando al producto obtenido como queso blanco (Chandan y Marín, 1978; Chandan et al., 1979; FAO, s.f.; Marín y Chandan, 1977; Parnell-Clunies et al., 1985-A; Parnell-Clunies et al., 1985-B; Siapantás, 19481; Torres y Chandan, 1981). El proceso de elaboración general, con las variantes reportadas se muestra en la Figura N° 3.

El tipo de ácido orgánico utilizado, así como su concentración, influyen sensiblemente en la composición química (proteínas, grasas y humedad) y por tanto en el rendimiento.

Marín y Chandan (1977) indican que al elaborar queso blanco con ácido tartárico, láctico, cítrico y clorhídrico, se obtiene un mayor rendimiento (7.8-8.2 Kg leche/kg de queso) que con ácido acético. En general los rendimientos obtenidos cuando se elabora queso utilizando cuajo solo o una combinación de cuajo y cultivo láctico están entre los 6.0-8.5 Kg de leche/Kg de queso (Fernandes, 19485; Marín y Chandan, 1977). El procedimiento de coagulación utilizado, además de afectar los rendimientos, influye en el contenido de grasa retenido. Partiendo de leche íntegra (con 4.2% de grasa) se obtiene

Figura 3. Elaboración de queso blanco por medio de acidificación



Fuentes: (9, 14, 21, 24, 29, 36)

un producto con un contenido máximo de 26% de grasa retenida y un porcentaje de humedad mayor al 50%, elaborado por los métodos tradicionales. Al utilizar ácidos con leche íntegra, Marín y Chandan (1977) encontraron que la retención de grasa se relaciona con el tipo de acidulante usado, y fue el tartárico el que permitió una mayor retención (21-22%). Resultados diferentes en cuanto a la retención de grasa al utilizar el ácido cítrico, son reportados por Parnell-Clunies et al. (1985), al estudiar el efecto de la concentración de ácido cítrico sobre la producción y características del queso. Indican una retención de grasa entre 18.92 - 19.65%, al utilizar una solución de ácido cítrico al 1%. El contenido final de humedad del queso en

ambos estudios fue muy similar (49-51% y 52%).

Parnell, Clunies, Irvine y Bullock (1984), al evaluar el efecto en la textura producida por la acidificación directa de la leche, encontró que el contenido de humedad del queso afecta significativamente la dureza.

Siapantas y Kosikowski (1967) evaluaron el uso del ácido acético glacial en las propiedades del queso blanco. Encontraron que el porcentaje de ácido adicionado influye sensiblemente en el contenido de grasa de 19%.

Por otra parte pruebas realizadas por Chandan y Marin (1978), al elaborar queso por acidificación directa, muestran que el uso de los ácidos tartárico y acético glacial producen quesos de composición típica. Sin embargo, el ácido acético imparte su sabor al queso.

Estos diferentes estudios muestran que a pesar de ser un procedimiento más sencillo, como lo afirma Siapantas (1981), al presentarse una formación instantánea de la cuajada, buenas características de manejo y una mayor producción, existen discrepancias en cuanto a los rendimientos, tipo de ácido y nivel adecuado de aplicación. Adicionalmente, Fernandes (1985), menciona que el procedimiento de elaboración de queso blanco por acidificación, a 82°C, presenta tres ventajas sobre los procedimientos de coagulación enzimática: 1) es tecnológicamente simple, 2) se obtiene un mayor rendimiento, 3) permite el aprovechamiento de leches ácidas.

Un procedimiento similar en cuanto al uso de ácido para realizar la coagulación es recomendado por la FAO (s.f.). Muestran que es posible obtener un queso blanco utilizando jugo de limón o de lima (2-2.5%), a una temperatura de 82°C. Mencionan además que es importante el control de la temperatura, ya que si la temperatura es inferior se produce la disminución en el rendimiento al perderse grasa, y si es mayor se produce la retención de mucho suero, con lo que se obtiene un queso blando.

Otro procedimiento es la combinación de la acidificación, utilizando ácidos orgánicos o cultivos iniciadores, y el uso de cuajo. Este procedimiento combinado es utilizado por Moore, Richter y Dill (1986) al preparar queso blanco fresco. Elaboraron comparativamente queso blanco tipo mexicano, primero con una solución de ácido láctico al 10% y cuajo, y posteriormente con cultivo láctico al 1.5% y cuajo. Ambos procedimientos proporcionaron características significativamente diferentes en cuanto a rendimientos, composición y aspectos organolépticos. Indican que el queso elaborado con cultivo láctico es muy duro y más quebradizo, sin embargo posee mayor contenido de proteína, sal, cenizas y sólidos totales.

Torres y Chandan (1981) evaluaron la elaboración de queso blanco por acidificación con ácido cítrico y la incorporación posterior a la cuajada de cultivo láctico, cultivo de yogurt y preparaciones de lipasas con la finalidad de modificar el sabor y la textura. El

producto obtenido se empacó al vacío y se mantuvo a 10°C por un período de 12 meses. El análisis sensorial mostró que el queso de 4 semanas de maduración con cultivo de yogurt era el más aceptado. La posibilidad de combinar la elaboración del queso blanco por acidificación y el mejoramiento de sus características organolépticas con la adición de cultivos lácticos, presenta una nueva alternativa de elaboración que es necesario evaluar con más detalle.

3. Corte de la cuajada

El tiempo necesario para que la cuajada se forme y posea las características adecuadas para su corte depende de varios factores como pH, concentración de calcio, concentración de enzima y temperatura. Los efectos de estos factores son discutidos por Scott (1981) y Brule et al. (1986), en forma general.

Arispe y Westroff (1984) recomiendan el uso de cloruro de calcio en un nivel de 0.015 gr/litro de leche, para obtener una coagulación adecuada en un tiempo de 35 minutos a 32°C. El nivel de cuajo utilizado fue de 0.025 g/l. Mol (1988). Recomienda adicionar 0.035 gr de cloruro de calcio por litro de leche, con la finalidad de ayudar a que el proceso de coagulación ocurra normalmente.

Con relación al calcio, Hill, Bullock, y Irvine (1982), al estudiar el efecto de la adición de cloruro de calcio, encontraron que niveles de uso mayores al 0,05% incrementan el contenido de humedad y la recuperación de sólidos, con lo que se produce una textura quebradiza. Un porcentaje menor de cloruro de calcio incrementa la recuperación de sólidos, pero no afecta los otros parámetros.

Una vez lograda la firmeza adecuada en la cuajada, se procede a su corte. El tamaño de los cubos de cuajada formados es de gran importancia, ya que de ello depende en parte el contenido de humedad final del queso y la dureza y frescura del mismo.

Esta operación de corte se puede realizar en diferentes formas. Son las más comunes: con la mano, con un utensilio doméstico (plato o cuchara), con un cuchillo o con una lira.

La ruptura del coágulo con la mano o con un utensilio doméstico tiene como resultado la obtención de partículas de cuajada no uniformes, las cuales provocan una distribución heterogénea de la humedad del queso obtenido. Además, esta forma de ruptura disminuye el rendimiento, al perderse gran cantidad de enzima en el suero. Al utilizar cuchillo, se obtienen cubos de cuajada más uniformes, sin provocar la ruptura fina del coágulo. El tercer método es el más conocido y utilizado por los medianos y grandes productores.

Moore, Richter y Dill (1986) reportan la utilización de un tamaño de corte de 6.5 mm en la elaboración de queso blanco tipo mexicano; Kosikowski (1982) utiliza un tamaño de corte de 16 mm, en la elaboración de queso de Puna.

En nuestro país, el tamaño de corte es por lo general de 10 mm. No hay reportes de estudios que evalúen el efecto del tamaño de corte sobre los rendimientos en queso blanco.

Luego del corte, es normal la agitación suave de la cuajada para disminuir el suero retenido y obtener con ello un queso más compacto y con humedad uniforme.

Conforme sea mayor el tiempo de agitado, los trozos de cuajada tienden a ser más pequeños, lo que da un queso más duro. Los tiempos de agitación son generalmente de 5 a 10 minutos, para el queso blanco fresco, y de 10 minutos para el queso semiduro y duro.

4. Desuerado de la cuajada

Una vez finalizada la agitación de la cuajada, se deja reposar por unos minutos con la finalidad de que se asiente. Pasado este tiempo, se procede a separar el suero.

Algunos autores mencionan la adición de agua caliente, luego de un desuerado parcial. Duback (1980) desuera un 35% del volumen inicial de leche, e incorpora el 20% del volumen inicial de leche, como agua caliente a 35°C. Mol (1988) sugiere la utilización de agua caliente con la finalidad de disminuir el contenido de suero de los gramos de cuajada. Adicionalmente se reduce el contenido de lactosa, con lo cual se afecta el desarrollo futuro de acidez.

5. Salado de la cuajada

El salado se puede realizar de tres formas:

- 1) directamente a la cuajada, desuerada parcialmente, utilizando la sal disuelta en agua,
- 2) sobre la cuajada desuerada, utilizando sal seca,
- 3) sobre el queso ya prensado, utilizando sal seca o una salmuera.

Es común encontrar las dos primeras formas de salado para el queso duro.

El contenido de sal aplicado es muy variado, dependiendo del gusto y de las condiciones de elaboración. Se han encontrado valores entre el 1% y el 5%, con un promedio entre 1-2% en el queso (Marín y Chandan, 1977). Mol (1988) indica que el contenido de sal está relacionado con la actividad bacteriológica y por ello el contenido de sal del queso se debe determinar de acuerdo con la humedad del producto. Sin embargo no menciona los posibles niveles por utilizar.

Kosikowski (s.f.) menciona que los altos niveles de sal encontrados (3-6%) se dan con la intención de prevenir la formación extensiva de gas y el desarrollo de malos olores.

En algunos casos se recomienda utilizar un nivel 1% de sal con base

en la leche (FAO (sf), 25).

Dubach (1980) utiliza una salmuera con 20-22° Baume y el salado de los quesos se realiza a 12°C y toma de 1-2 horas.

Arispe y Westhoff (1984) aplican la sal seca durante la etapa de agitación (luego de haberse cortado la cuajada). Indican que este procedimiento permite obtener una concentración de sal más uniforme. Cuanto mayores sean el tiempo de agitación y el tiempo de reposo posterior, mayor es el contenido de sal final del queso, con diferencias entre un 1.3 - 1.5% en quesos elaborados en condiciones extremas.

Debido a que el queso es elaborado a partir de leche cruda, se llegan a encontrar en los mercados quesos muy salados, y de estructura compacta, los cuales si bien ya no se consideran queso blanco fresco, son un tipo de queso semiduro y duro, de sabor fuerte y de coloración amarilla o blanca.

El salado excesivo se realiza para evitar la descomposición del queso. Conforme el nivel de sal aumenta en el queso, se presenta la disminución de los *S. aureus* y de los coliformes fecales y totales, y en general de los recuentos totales.

6. Moldeo de la cuajada

Una vez salada la cuajada, se procede a su moldeo. Para ello se utilizan moldes de madera, plástico, acero inoxidable, de cuero o manta. El moldeo es de gran importancia, ya que proporciona la forma final del queso.

7. Prensado

El prensado permite la disminución del contenido de suero del queso, favoreciendo además la formación de una estructura más firme.

Si bien en las otras etapas de la elaboración existen pocas variaciones en cuanto al método seguido, es en el prensado donde se encuentran casos extremos. Hay quesos que no son prensados, como el conocido simplemente como cuajada, un queso blanco fresco con un alto contenido de humedad y con presencia de suero libre. Se encuentra también un tipo de queso blanco fresco de alto contenido de humedad, el cual se obtiene luego de realizar la coagulación por un período de 4 a 5 horas (al usarse un bajo nivel de cuajo) con leche cruda; luego de realizar la ruptura del coágulo se coloca la cuajada en bolsas de cuero o manta y se somete a un proceso de escurrido, con lo cual se obtiene un queso blanco muy suave.

Algunos productores artesanales acostumbran el utilizar piedras o recipientes con agua sobre los quesos.

Las condiciones de prensado reportadas son variadas. Arispe Y Westhoff (1984) evaluaron dos condiciones de prensado:

1) 0.13 Kg/cm² por 90 minutos y

2) 0.04 Kg/cm² por 5 minutos. En el primer caso el producto obtenido es de baja humedad ($52 \pm 1\%$) y en el segundo caso de relativa alta humedad ($59 \pm 1\%$).

Mol (1988) sugiere el uso de una presión baja (0.1 - 0.2 Kg/cm²) por unos 20 a 30 minutos, con la finalidad de obtener un queso suave. Menciona que en el caso del queso blanco, normalmente se aplica todo el peso de inmediato, con lo cual se forma una corteza rápidamente, se retiene el suero y se favorece una estructura suave. FAO (s.f.), recomienda que el peso que se coloca sobre el queso debe ser cuatro veces el peso del queso al inicio del prensado (por 1 hora), y luego ser aumentado a cinco veces el peso del queso (por 6 horas).

Duback (1980), indica la elaboración de un queso blanco sin utilizar prensado, aplicando solamente varios volteos antes de iniciar el salado en salmuera.

8. Empaque

La relación del tipo de empaque, las temperaturas de almacenamiento sobre las características organolépticas y sobre la vida útil del queso blanco fresco, están siendo evaluadas.

En algunos casos solamente se recomienda envolver el queso con papel encerado, y mantenerlo en refrigeración por no más de tres días (FAO, s.f.).

Kosikowski (1982), utilizó el empaque al vacío (polietileno-celofan, con lo cual indicó se evita el crecimiento de hongos. Al almacenarlo a 4°C en este tipo de empaque, la protección contra los mohos es indefinida. Por otra parte este tipo de empaque hace que el cuerpo del queso sea más cohesivo y compacto, y le proporciona características de corte.

9. Almacenamiento

Las condiciones de almacenamiento son muy variadas. Si bien lo más recomendable es la utilización de cámaras frías (4-6°C), en las cuales la vida útil del queso blanco fresco es de 8 a 12 días (dependiendo este tiempo de si la leche es pasteurizada o no y del tipo de cultivo láctico usado).

En el caso de los quesos blancos frescos elaborados con leche cruda, la vida útil en condiciones de refrigeración es inferior a los 8 días, esto debido a la gran variedad de bacterias presentes (Blanco, 1983; Cordero, 1984; Dubach, 1980), llegándose a producir gases y sabores

amargos en el queso. Una forma habitual de evitar el deterioro es la utilización de concentraciones altas de sal (mayores al 3.5%). Estos contenidos altos de sal son encontrados en los quesos semiduros y duros.

Elaboración a partir de sólidos lácteos

Se han realizado algunos estudios con la finalidad de elaborar queso blanco a partir de sólidos lácteos descremados y de grasa butírica anhidra (Gilles, 1984; Harper, 1958; Hill et al., 1948; Parnell-Clunies et al., 1985B).

Parnell-Clunies, Irvine y Bullock (1985), elaboraron queso blanco partiendo de sólidos lácteos reconstituidos al 15% más la adición de 4.5% de grasa butírica, encontrando un sabor a cocido y a leche en polvo en el queso. Por el contrario, Hill, Bullock y Irvine (1982) mencionan que el queso blanco obtenido en condiciones semejantes fue aceptable.

Se ha evaluado la aplicación de la homogenización (0 - 140 kg/cm²) a la leche recombinada (15% SNG y 4% SG), mostrándose diferencias en cuanto a la recuperación de grasa (69.81 y 93, 38%) en el queso elaborado. Adicionalmente, la leche homogenizada presenta una cuajada que drena lentamente el suero (Parnell-Clunies et al., 1985A).

Harper (1958) indica que al elaborar queso partiendo de sólidos lácteos es necesario adicionar cloruro de calcio para reemplazar el calcio que se insolubiliza durante el proceso de secado de la leche. Contrario a los otros procedimientos mencionados, Harper (1958), elaboró el queso adicionando a la leche reconstituida cultivo láctico y cuajo.

Composición Química del Queso Blanco

La composición química reportada para el queso blanco, es variada, debido a las características de la leche utilizada (porcentaje de grasa) y al proceso de elaboración utilizado. En el cuadro N° 1 se muestran algunas de las reportadas.

Los porcentajes reportados para los quesos elaborado por acidificación son muy semejantes en cuanto a su contenido de humedad. Es con respecto al contenido de grasa y proteína, que se presentan las mayores diferencias.

A excepción de la composición reportada por Arispe (1983), del queso blanco adquirido en el comercio, los reportes restantes son composiciones de producto elaborado en condiciones experimentales. Esta composición reportada por Arispe (1983), se encuentra entre los parámetros indicados para el queso blanco fresco y semiduro en Costa Rica.

Con relación al queso blanco duro, no existe información de

composición en las fuentes consultadas, posiblemente porque este tipo de queso no es conceptualizado como queso blanco.

La forma de elaboración característica del queso blanco en Costa Rica presenta grandes diferencias con los procesos que se han conceptualizado como típicos en otros países latinoamericanos para este producto, y por ello existen diferencias en cuanto a la

composición química. A pesar de ello, las características de corte, color blanco y tipo de textura son semejantes a los encontradas para el queso blanco fresco en Costa Rica. Aún es necesario evaluar la posibilidad de elaborar el queso blanco por acidificación directa, determinando su aceptación por los consumidores, la variación en cuanto a los rendimientos, composición química y propiedades reológicas.

CUADRO 1. Composición del Queso Blanco

Porcentaje /Fuente	1	2	3(1)	3(2)	4(1)	4(2)	5	6(1)	6(2)	7	8
Humedad	50/60	52	51.0	49.8	65.60	46.27	48.00	50.6	39.0	48.40	50
Grasa	15/20	19	15.0	19.2	6.36	21.00	21.4	27.4	23.00	23.00	23
Proteína	15/20	22	22.9	25.3	19.54	33.57	24.76	19.2	24.5	23.61	19
Sal	2/5	---	3.9	2.0	3.15	4.63	2.30	2.5	5	1.20	---
Lactosa	---	---	1.8	2.0	---	---	2.00	---	---	---	---

- Selman y Peeples (1971). Tipo mexicano: por acificación.
- Parnel - Clunies, Irvine, Bullock (1985): Producto óptimo con ácido acético glaciél.
- Kosikowski (1982): 1) Puerto Rico: Adición de 2% de sólidos lácteos.
Elaborado con adición de cultivo al 0.5% y cuajo.
2) Kosikowski: por acidificación.
- Moore, Richter, Dill (1986): 1) por cultivo láctico.
2) por acidificación.
- Chandan, Marin, Nakrani y Zehner (1979): por acificación.
- Arispe (1983): 1) suave.
2) duro.
- Fernández y Schwartz (1985): por acidificación.
- Peeples y Roberson (1969): con cuajo y cultivo láctico.

BIBLIOGRAFIA

- AGUILAR, F.; FIGUEROA J. 1989. Aspectos generales del mercado doméstico de quesos en Costa Rica. San José - CITA -. 44 p.
- ARISPE, I. 1983. The Composition and Quality of Venezuelan White Cheese: Technical Assessment and Modification of Its Manufacture. Diss. Abst. Int. b44(2): 444-445.
- ARISPE, I.; WESTHOFF, D. 1984. Manufacture and Quality of Venezuelan White Cheese. J. Dairy Sci. 49(4): 1005-1010.
- BATTISTOTTI, B.; BOTTAZZI, V.; PICCINARDI, A. y VOLPATO, G. 1985. Quesos del Mundo. ELFOS: Barcelona. 168 p.

- BLANCO, A. 1983. Condiciones higiénicas en la elaboración del queso producido a nivel artesanal en áreas rurales de Costa Rica. Lic. en Tecnología de Alimentos. San José. Universidad de Costa Rica. Carrera Interdisciplinaria en Tecnología de Alimentos. 117 p.
- BRULE, G.;LENOIR, J.;ECK, A. 1986. Cheesemaking. Science and Technology. New York. Lavoisier: 540 p.
- CHANDAN, R.C.;MARIN, H. 1978. Latin American White Cheese- A Potential Product/Ingredient. Food Product Dev. 12(4):75, 77.
- CHANDAN, R.C.;MARIN, H. 1978. Manufacture and Applications of Latin American White Cheese. XX International Dairy Congress 1978, E, P. 99.
- CHANDAN, R.C.; MARIN, H.; NAKRANI, K.R.; ZEHNER, M.D. 1979. Production and Consumer Acceptance of Latin American White Cheese. J. Dairy Sci. 62(5): 691-696.
- CORDERO, J. 1984. Determinación de Coliformes totales y fecales en queso blanco suave y semiduro de consumo en Costa Rica. Tesis Lic. en Tecnología de Alimentos. Carrera Interdisciplinaria en Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica. 64 p.
- DUBACH, J. 1980. El "ABC" para la Quesería Rural del Ecuador. Proyecto Queserías Rurales: Quito. 83 p.
- FAO. s.f. Oficina Regional de la FAO para América Latina y El Caribe. Procesamiento de Alimentos en Pequeñas Agroindustrias. Guía Práctica. Segunda Parte. p: 195-215.
- FERNANDES, A. 1985. Fabricacao de "Queijo Branco" Visando Melhor Aproveitamento de Leite Acido. Bol. SBCTA. 19(3): 179-198.
- FERNANDES, A. 1980. Fabricacao de "Queijo Branco" Visando Melhor Aproveitamento de Leite Acido. Tese para Obtencao do Titulo de Mestre en Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. 117 p. Facultad de Engenharia de Alimentos E Agricola.
- FOX, P.F. 1987. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. London. Elsevier Applied Science: 393 p. Vol. 2, 393 p.
- GILLES, J. 1984. The Manufacture of White Cheese Using High Total solids Recombined Milk. Nz. Zealand J. Dairy Sci. Technol. 19(1):37-42.
- HARPER, W.J. 1958. Ensayos de Elaboración de Queso Blanco con Leche en Polvo. Ind Lácteas. 7(1):19.
- HILL, A.;BULLOCK, D.; IRVINE, D. 1982. Manufacturing Parameters of Queso Blanco Made From Milk and Recombined Milk. Can Inst. Food Sci. Tech. J. 15(1):47-53.
- IVANKOVICH, C.; AGUILAR, F. 1989. Generalidades sobre las Motivaciones Asociadas al Consumo de Queso. San José, CITA. 37 p.
- IVANKOVICH, C.; AGUILAR, F.; FIGUEROA, J. 1989. Hábitos y motivaciones del consumo de queso en Costa Rica. San José, CITA. 27 p.
- KOSIKOWSKI, F. 1982. Cheese and Fermented Milk Foods. 2 ed. F.V. New York. Kosikowski and Associates: 711 p.
- KOSIKOWSKI, F.V. s. f. Manufacture of Queso Blanco and Other Latin American Cheeses. In "Proceedings From the First Biennial Marschall International Cheese Conference 1981" p. 591-601
- MADRIGAL, H. 1988. Determinación de la actividad proteolítica en Latex de Jatropha Aconitifolia. Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica. Carrera Interdisciplinaria en Tecnología de Alimentos.
- MARIN, H.; CHANDAN, R.C. 1977. Influence of Various Coagulating Acids Upon Yield and Quality of Latin-American White Cheese. J. Dairy Sci. 60 (Sup. 1):55-56
- MOL, J.J. 1988. Curso sobre queso para los productores de leche de Costa Rica. INA. Departamento Técnico Agrícola. Sección Zootecnia. 98 p.
- MOORE, P.I.; RICHTER, R.L.; DILL, L.W. 1986. Composition, Yield, Texture, and Sensory Characteristics of Mexican White Cheese. J. Dairy Sci. (6983): 855-862
- PARNELL-CLUNIES, E.; IRVINE, D.; BULLOCK, D. 1985A. Heat Treatment and Homogenization of Milk for Queso Blanco (Latin American White Cheese) Manufacture. Can Inst. Food Sci. Tech. J. 18(2): 133-136
- PARNELL-CLUNIES, E.; IRVINE, D.; Bullock, D. 1985B. Composition and Yield Studies for Queso Blanco Made in Pilot Plant and Commercial Trials With Dilute Acidulant Solutions. J. Dairy Sci. 68(11): 3095-3103.

- PARNELL-CLUNIES, E.; IRVINE, D.; BULLOCK, D.H. 1984. Textural Characteristics of Queso Blanco. J. Dairy Sci. 68(4): 789-793.
- PEEPLES, M.L.; ROBERSON, J.R. 1969. Manufacturing and Marketing Possibilities of Queso Blanco Cheese. J. Dairy Sci. 52(4):553 (Abstracts)
- SCOTT, R. 1981. Cheesmaking Practice. Applied. Science. London. Publ.: 475 p.
- SELMAN, R.L.; PEEPLES, M.L. 1971. Manufacture of Mexican Type Cheese. J. Dairy Sci. 54(3): 450.
- SEQUEIRA, C.A. 1981. The Manufacture of Fresh White Cheese in Costa Rica. In "Proceedings from the Second Biennial Marschall International Cheese Conference" G. Cooperativa de Productores de Leche R.L., San José, "Dos Pinos". p. 10-16
- SIAPANTAS, L. 1981. Flavor Profile of Queso Blanco. In: The Quality of Foods and Beverages. Chemistry and Tecnology. Vol I.: 327-340
- SIAPANTAS, L.G.; KOSIKOWSKI, F.V. 1967. Properties of Latin-American White Cheese as Influenced by Glacial Acetic Acid. J. Dairy Sci. 50(10): 1589-1591
- TORRES, N. and CHANDAN, R. 1981. Flavor and Texture Development in Latin American White Cheese. J. Dairy Sci. 64(11): 2161-2169.

METODO DE DETERMINACION DE RESIDUOS DE CAPTAFOL EN PLANTAS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.) Y SUELO POR CROMATOGRAFIA DE GASES

Jaime E. GARCIA-GONZALEZ *

ABSTRACT

Method for the determination of captafol residues in wheat plants and soil samples by gas chromatography.

A simple, relatively rapid and sensitive procedure is described for the analysis of residues of the fungicide captafol in different parts of wheat plants (*Triticum aestivum* L. cv. Jubilar) and soil by using a gas chromatograph equipped with electron capture detector. Captafol residues were extracted by immersing the samples in toluene. These extracts were relatively free from severe interferences on the gas chromatograph and consequently, an additional purification step was unnecessary. Recovery for all sample types was generally 80-109 % with a lower detection limit of 0.02 mg/kg.

RESUMEN

En este trabajo se describe un método sensible, simple y rápido para la determinación de residuos del fungicida captafol en muestras de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L. cv. Jubilar) y suelo utilizando para su cuantificación un cromatógrafo de gases equipado con un detector de captura de electrones. La extracción se realizó sumergiendo las muestras en una solución de tolueno. No hubo necesidad de realizar ninguna purificación, puesto que las muestras se encontraron relativamente libres de sustancias que pudieran interferir al momento de la medición cromatográfica. Los porcentajes de recuperación en muestras fortificadas con diferentes concentraciones de captafol estuvieron en el ámbito de 80-109 %. El límite inferior de detección fue de 0,02 mg/kg.

INTRODUCCION

La sustancia química N- (1, 1, 2, 2 - tetracloroetilto) - tetrahidroftalimida, la cual se conoce con los nombres genéricos de captafol y difolatán, es el ingrediente activo de los fungicidas comerciales Difolatán, Ortho Difolatán, Captaspor, Kenofol, Sanséal y Sanspor. Esta sustancia se encuentra también en el mercado en mezcla con otros productos (BBA1985, Heddergott y Thiede 1987, IPS 1982, Worthing 1987).

Captafol es un compuesto orgánico heterocíclico que pertenece a la familia química de las ftalimidias, al cual se le atribuyen propiedades fungicidas protectoras no específicas. Se le usa para el tratamiento del follaje, de la semilla o del suelo en una gran cantidad de cultivos (Etter 1966, Neely y Himelick 1966).

En la literatura se informa sobre diversos y variados métodos analíticos para la determinación de sus residuos en diferentes tipos de matrices (Allen 1967, Ambrus 1981, Baker y Flaherty 1972, Becker 1979, Biro 1972, Brennecke y Vogeler 1984, Büttler y Hörmann 1981, Caissie y Mallet 1976, Carlstrom y Leary 1978, Cooke 1973, Crossley 1972, Dejonckheere et al. 1980, Delventhal 1980, Del Re et al. 1980, Eichner 1978, Francoeur y Mallet 1977, Gilvydis y Walters 1984, 1983, Henriette et al. 1980, 1979, Iwaida et al. 1974, Kilgore y White 1967, Lemperle y Strecker 1971, Luke et al. 1981, 1975, Mallet 1980, Mithyantha et al. 1977, Molinari y Del Re 1979, 1978, Pack 1967,

* Institut für Phytomedizin, Universität Hohenheim, PF 70 05 62 W-7000 Stuttgart 70, Alemania.

Dirección actual:
Oficina de Extensión Comunitaria y Conservación del Medio Ambiente.
Universidad Estatal a Distancia.
Convenio UNED - UCR.

Pavoni 1980, Pomerantz y Ross 1968, Pomerantz et al. 1970, Ross y Gaul 1980, Sparacino y Hines 1976, Surette y Mallet 1975, Suzuki et al. 1976, Taccheo et al. 1984, Takeda et al. 1977, Trevisani et al. 1982, Wäfler et al. 1981).

La mayoría de estos métodos consumen una cantidad considerable de reactivos, requieren instrumentos y aparatos no convencionales, son poco sensibles para los fines deseados o bien poseen metodologías complicadas de extracción, purificación, o ambas que demandan a menudo un consumo excesivo de tiempo y dinero.

El objetivo principal de este trabajo fue desarrollar un método analítico adecuado que permita realizar análisis de rutina de residuos de captafol en material vegetal proveniente de plantas de trigo así como en muestras de suelo, solventando las desventajas anotadas que padecen la mayoría de los métodos analíticos que se apuntan en la literatura.

MATERIALES Y METODO

Descripción general del método

Los residuos de captafol se extrajeron mediante la inmersión de las muestras en tolueno (= toluol, metilbenzeno). Se empleó tolueno como solvente extractante en virtud de que es una sustancia que posee poder suficiente de solubilidad para el captafol (1,7 g/100 ml) y porque extrae materiales con fuerte carácter polar en cantidades mínimas (Beyer 1981, Perkow 1981). Puesto que los residuos de captafol se depositan mayoritariamente sobre las superficies de aplicación, se consideró innecesaria la maceración de las muestras. Las disoluciones en tolueno fueron bastante limpias, por lo que tampoco hubo necesidad de realizar una purificación de las muestras, de modo que éstas pudieron ser analizadas directamente en un cromatógrafo de gases equipado con un detector de captura de electrones.

Caracterización, toma y preparación de las muestras

Las muestras provinieron de parcelas no tratadas con plaguicidas de un campo experimental cultivado con trigo de invierno (cv. Jubilar). Estas se tomaron durante el período de emergencia de las espigas y al tiempo de la cosecha. Las muestras de hojas incluyeron las lígulas, mientras que las vainas foliares se analizaron junto con los tallos.

Las muestras de suelo se tomaron de los primeros 5 cm de profundidad, fueron secadas al aire, se mezclaron e hicieron pasar

a través de un tamiz con un ancho de malla de 3 mm. Las muestras de suelo presentaban las siguientes características: textura limo - arenosa con un pH (CaCl₂) de 6,8; 0,98 % de C orgánico y una CIC de 7 meq/100 g.

DESCRIPCION DEL ANALISIS

Fortificación de las muestras y extracción de los residuos

Se pesaron en frascos Erlenmeyer, de 10 a 50 g del material vegetal por analizar y 50 g en el caso de las muestras de suelo. Sobre estas se añadieron de 0,01-150 µg de captafol /g de muestra. Una hora después las muestras fueron sumergidas en 100 ml de tolueno destilado. Los frascos Erlenmeyer se taparon y mantuvieron, con movimientos rotativos ocasionales, durante 60 min a temperatura ambiente. Al final se dejaron reposando por 10 min, con la finalidad de que las partículas más pesadas pudieran sedimentar.

Cuando las cantidades de residuos eran iguales o menores a 0,5 mg/kg, se pipetearon de 5 a 10 ml de la solución supernadante en un frasquito graduado de 1 ml con recipiente de reserva. La disolución se concentró posteriormente al volumen deseado con una corriente suave de nitrógeno. En el caso contrario, cuando las concentraciones eran mayores a 5 mg/kg, se trasvasaron de 1 a 5 ml del supernadante en balones de vidrio, los cuales se llevaron a aforo con tolueno destilado.

Análisis cromatográfico

Las disoluciones supernadantes se analizaron mediante un cromatógrafo de gases bajo las condiciones que se anotan en la tabla I.

Los residuos de captafol se detectaron de una manera más sensible en los extractos, que en las disoluciones puras en tolueno. Por esta razón se utilizaron estándares preparados con extractos de muestras no tratadas.

Bajo las condiciones de medición anotadas no pudo obtenerse una respuesta de linealidad aceptable, por lo que la altura de los picos de las muestras por analizar se compararon únicamente con aquellas concentraciones de estándares que, inyectadas antes y después de la muestra, mostraron los tamaños más semejantes.

TABLA I. Condiciones de medición cuantitativa de residuos de captafol por cromatografía de gases

Cromatógrafo de gases:	Varian, modelo 3740	
Detector:	De captura de electrones (DCE); ⁶³ Ni, 8 mCi	
Columna:	Vidrio; 95 cm de largo; 6,35 mm d. e.; 2 mm d. i.; rellena con 2% OV - 17 sobre Gas Chrom Q, 125 - 150 μm	
Temperatura (°C):	Inyector:	220
	Columna:	215
	Detector:	240
Flujo de gases (ml/min):	Nitrógeno:	30
Volumen de inyección:	2 - 4 μl	
Tiempo de retención:	ca. 4,20 min	
Integrador de impresora:	Hewlett Packard mod. 3390 - A, velocidad 0,5 cm/min	

CALCULOS

El cálculo de las concentraciones de residuos en las muestras analizadas se realizó determinando la altura registrada del pico de la muestra y comparándola con la altura del pico del estándar. Se trató siempre de que tanto los volúmenes de inyección en el cromatógrafo, como las concentraciones de las muestras y los estándares, fueran lo más semejantes posibles. Las cantidades de residuos totales de captafol se calcularon haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$R = \frac{P_A \cdot V_1 \cdot W \cdot V_3}{P_E \cdot V_2 \cdot G \cdot V_1}$$

en donde:

- R = residuos de captafol en mg/kg
- P_A = altura del pico de la muestra (mm)
- P_E = altura del pico de la solución estándar (mm)
- V₁ = volumen total del homogenado (ml)
- V₂ = volumen parcial del homogenado utilizado para el análisis (ml)
- V₃ = volumen final de la muestra en análisis (ml)
- W = peso de la sustancia a determinar contenido en la solución estándar inyectada al cromatógrafo de gases (ng)
- G = peso de la muestra en análisis (g)
- V₁ = volumen de la solución de la muestra en análisis inyectada al cromatógrafo de gases (μl)

RESULTADOS

Los porcentajes de recuperación obtenidos para cada muestra en las concentraciones analizadas se anotan con detalle en la tabla II. La recuperación en el material vegetal verde fortificado fue de alrededor 100 % en las hojas, 84 - 106 % en los tallos y 80 - 100 % en las espigas. En el material vegetal recolectado al tiempo de la cosecha, los porcentajes fueron de alrededor de 100 % en las hojas, 84 - 109 % en los tallos, cerca de 100 % en las espigas vacías, 92 % en las espigas con granos, y de 88 % en los granos. En las muestras de suelo estos porcentajes fueron alrededor de 96 %.

TABLA II. Porcentajes de recuperación de captafol en muestras de tejido vegetal y de suelo fortificadas

Material vegetal verde	Captafol agregado (mg / kg)	Porcentaje de recuperación (*)
Hojas	80,00	100 ± 5
	150,00	101 ± 5
	0,02	106 ± 9
	0,50	84 ± 13
	1,00	88 ± 5
Espigas	5,00	100 ± 14
	25,00	100 ± 7
	30,00	80 ± 8
Material vegetal seco (cosecha)		
Hojas	10,00	99 ± 5
	100,00	100 ± 6
Tallos	0,50	84 ± 4
	1,00	109 ± 9
	2,00	92 ± 18
Espigas vacías	5,00	100 ± 2
	20,00	99 ± 1
Espigas con granos	2,00	92 ± 7
	0,02	88 ± 12
Suelo	0,02	96 ± 4

(*) = Promedio de tres repeticiones

DISCUSION

Una de las metas principales de la química analítica en la determinación de residuos de cualquier sustancia por analizar es la obtención de métodos sencillos, rápidos y lo suficientemente sensibles para los propósitos deseados. La metodología experimentada en esta investigación posee las características mencionadas; sobre todo si se la compara con aquellas otras de las cuales se informa en la literatura y se hace mención en la introducción de este trabajo.

El método en cuestión exige una cantidad comparativamente reducida de aparatos, reactivos y solventes comunes que suelen encontrarse en la mayoría de los laboratorios de análisis de residuos. Todo ello redundará, por lo demás, en una economía siempre deseada de tiempo y dinero con sus consabidas ventajas.

Por medio de esta metodología una persona puede analizar hasta 20 muestras por día de trabajo, lo cual representa más del doble de lo que puede hacerse con los métodos anotados en la literatura. Otro factor a su favor es sin duda la sensibilidad del método, por medio del cual se obtiene un límite inferior de determinación de 0,02 mg/kg, tanto en material vegetal como en muestras de suelo. De acuerdo con la bibliografía consultada, este método viene a constituir uno de los más simples y rápidos para determinar concentraciones de residuos de captafol en ese nivel.

Esta metodología se ha utilizado con éxito durante cuatro años en el estudio de la dinámica de degradación y remoción de los residuos de captafol en un monocultivo de trigo (García et al. 1990, García 1987).

Dadas las características y ventajas inherentes de la metodología propuesta en este trabajo, se recomienda seguir probando este método con el fin de observar la eficacia y validez con otro tipo de matrices tales como otros tipos de cultivos y de suelos. Por otra parte, sería conveniente investigar la aplicabilidad de este método con moléculas químicas cercanas a la composición del captafol, como por ejemplo el captan y el folpet.

AGRADECIMIENTO

A la Sociedad Alemana de Investigación (DFG) y el Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD) por el apoyo financiero. Al Dr. J. Kirchhoff por sus consejos y orientaciones en el laboratorio, lo mismo a la Sra. S. Frisch por la asistencia técnica. A la M. Sc. Nancy Hidalgo Dittel y la Dra. Ana Ruth Bonilla Leiva por las sugerencias en la redacción de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- ALLEN, P. T. (1967). Polarographic methods for pesticides and additives. In: ZWEIG, G. (ed.). Analytical methods for pesticides, plant growth regulators and food additives. New York. Academic Press. Vol. 5, p. 67.
- AMBRUS, A. *et al.* (1981). "General method for determination of pesticide residues in samples of plant origin, soil and water. III. Gas chromatographic analysis and confirmation. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64(3): 749 - 768.
- BAKER, P. B.; FLAHERTY, B. (1972). "Fungicide residues. Part II. The simultaneous determination of residues of folpet, captan and captafol in selected fruits by gas chromatography". Analyst 97: 713 - 718.
- BBA (Biologische Bundesanstalt für Land - und Forstwirtschaft) (1985). Pflanzenschutzmittel - Verzeichnis 1985 (einschließlich Wachstumsregler). Teil 1: Ackerbau - Wiesen und Weiden - Hopfenbau - Sonderkulturen - Nichtkulturland - Gewässer. 33. Auflage, Braunschweig, Bundesrepublik Deutschland.
- BECKER, G. (1979). "Eine Multimethode zur gleichzeitigen Erfassung von 75 Pflanzenbehandlungsmitteln auf pflanzlichen Material, Dt. Lebensm - Rdsch. 75: 148 - 152.
- BEYER, M. G. (1981). "Zur gaschromatographischen Bestimmung von Captafol in Weizen - Pflanzen nach Reinigung mit der Gelpermeationschromatographie". Z. Lebensmittelunters. u. -forsch. 173 (5): 368 - 371.
- BIRO, L. (1972). "Determination of phthalimide pesticide residues in wine". Nehezvegyip. Kut. Intez. Kozlem. (Hungary) 4: 123 - 130.
- BRENNECKE, R.; VOGELER, K. (1984). "Methode zur gaschromatographischen Bestimmung von Rückständen verschiedener Fungizide in Wasser". Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer 37 (1): 44 - 65.
- BÜTLER, B.; HÖRMANN, W. D. (1981). "High-pressure liquid chromatographic determination of captan, captafol, and folpet residues in plant material". J. Agr. Food Chem. 29 (2): 257 - 260.
- CAISSIE, G. E.; MALLET, V. N. (1976). "The fluorimetric detection of pesticides on aluminium oxide layers". J. Chromat. 117: 129 - 136.

- CARLSTROM, A. A.; LEARY, J. B. (1978). Captafol. In: ZWEIG, G. and SHERMA, J. eds. Analytical methods for pesticides and plant growth regulators. New York. Academic Press. Vol. 10, p. 173 - 180.
- COOKE, D. K. (1973). "Procedures for analysis of surface spray deposit of captafol on coffee trees, captan on apple trees, and endosulfan on hops by gas liquid chromatography". Pest. Sci. 4: 683.
- CROSSLEY, J. (1972). Difolatan. In: ZWEIG, G. ed.. Analytical methods for pesticides and plant growth - regulators. New York. Academic Press. Vol. 6, p. 556.
- DEJONCKHEERE, W. et al. (1980). "Simplified method for the analysis of chlorinated pesticide residues on lettuce and strawberries". Med. Fac. Landbouwwetensch. Rijksuniv. Gent 45 (4): 929 - 934.
- DELVENTHAL, J. (1980). "Kurzmitteilungen aus der Praxis. Zur Rückstandsuntersuchung in pflanzlichen Lebensmitteln". Mitteilungsblatt der GDCh - Fachgruppe Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie 34: 122 - 123.
- DEL RE, A. et al. (1980). "Fungicides for gray-mold control: a critical review of analytical methods for formulation and residue analysis". Residue Reviews 74: 99 - 131.
- EICHNER, M. (1978). "Schnelle Pestizid-Rückstandskontrolle bei pflanzlichen und tierischen Lebensmitteln sowie Tabak und Tabakerzeugnissen durch Sweep-Co-Analyse. 1. Mitteilung". Z. Lebensmittelunters. u. -forsch. 167: 245 - 249.
- ETTER, G. E. (1966). "Difolatan (R) - nouveau fongicide organique de synthèse". Meded. Rijksfac. Landbouwwet., Gent 31: 837 - 857.
- FRANCOEUR, Y.; MALLET, V. (1977). "Simultaneous determination of captan and captafol in apples and potatoes by thin layer chromatography and *in situ* fluorometry". J. Assoc. Off. Anal. Chem. 60: 1328 - 1330.
- GARCIA - G., J. E.; KIRCHHOFF, J.; GROSSMANN, F. (1990). "Abbauverhalten von Captafol nach langjähriger Anwendung in einer Weizenmonokultur". J. Environ. Sci. Health B 25 (2): 185 - 204.
- GARCIA - G., J. E. (1987). Abbauverhalten von Oxydemeton-methyl, Triadimefon, Triadimenol und Captafol nach langjähriger Anwendung in einer Weizenmonokultur. Diss. Univ. Hohenheim, Bundesrepublik Deutschland. 175 S.
- GILVYDIS, D. M.; WALTERS, S. M. (1984). Determination of captan, folpet, and captafol in fruits and vegetables, using two multiresidue methods". J. Assoc. Off. Anal. Chem. 67 (5): 909 - 912.
- GILVYDIS, D. M.; WALTERS, S. M. (1983). "Gas chromatographic determination of mixtures of captan, folpet, and captafol". J. Assoc. Off. Anal. Chem. 66 (6): 1365 - 1370.
- HEDDERGOTT, H.; THIEDE, H. (1987). '87 Taschenbuch des Pflanzenarztes. 36. Folge. Landwirtschaftsverlag Münster - Hilstrup. Bundesrepublik Deutschland.
- HENRIET, J. et al. (1980). "Méthodes normalisées d'analyse des résidus de pesticides dans les fruits et dans les légumes. M. 4. Méthode normalisée de détermination des résidus de produits phytosanitaires organo-chlorés ou assimilés sur laitues" Rev. l' Agric. 33 (4): 807 - 809.
- HENRIET, J. et al. (1979). "Méthodes normalisées d'analyses des résidus de pesticides dans les laitues". Med. Fac. Landbouwwetensch. Rijksuniv. Gent 44 (2): 993-1007.
- IPS (Hrsg.) (1982). Wirkstoffe in Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln. Physikalisch-chemische und toxikologische Daten. Offenbach, Bundesrepublik Deutschland. Bintz-Verlag.
- IWAIDA, M. et al. (1974). "Analytical studies on pesticides by gas chromatograph with flame photometric detector. IV. Analytical method of captan, difolatan, and mostan residues". J. Pharmacol. Soc. Jpn. Yakugaku Zasshi 94: 1334.
- KILGORE, W. W.; WHITE, E. R. (1967). "Determination of difolatan residues in fruits by electron-capture gas chromatography". J. Agr. Food Chem. 15 : 1118 - 1120.
- LEMPERLE, E.; STRECKER, H. (1971). "Gas-chromatographische Bestimmung des Wirkstoffrückstandes auf Weintrauben, in Traubenmost und in Wein nach Anwendung von Mycodifol (Folpet + Captafol)". Z. Anal. Chem. 253: 275 - 278.
- LUKE, M. A. et al. (1981). "Improved multiresidue gas chromatographic determination of organophosphorus, organonitrogen, and organohalogen pesticides in procedure, using flame photometric and electrolytic conductivity detectors". J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64(5): 1187 - 1195.
- LUKE, M. A.; FROBERG, J. E.; MASUMOTO, H. T. (1975). "Extraction and cleanup of organochlorine, organophosphate, organonitrogen, and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography". J. Assoc. Off. Anal. Chem. 58: 1020 - 1026.

- MALLET, V. N. (1980). Quantitative thin - layer chromatography of pesticides by *in situ* fluorometry, In: HARVEY, J. Jr. and ZWEIG, G. eds.. Pesticide analytical methodology. ACS Symposium Series 136, Washington, D. C. American Chemical Society, p. 127 - 157.
- MITHYANTHA, M. S. *et al.* (1977). "Determination of captan in its formulations and residues on crop plants". *Curr. Sci.* 46: 788 - 789.
- MOLINARI, G. P.; DEL RE, A. (1979). "Residui di antibiotritici in uve, mosti e vini. II. Determinazione gascromatografica di Sumisclex". *Chim. e Ind. (Milano)* 61: 98 - 100.
- MOLINARI, G. P.; DEL RE, A. (1978). "Residui di antibiotritici in uve, mosti e vini. I. Determinazione gascromatografica di vinclozolin in presenza di dichlofluand, folpet, captan e captan". *Chim. e Ind. (Milano)* 60: 705 - 708.
- NEELY, D.; HIMELICK, E. B. (1966). "Simultaneous determination of fungistatic and fungicidal properties of chemicals". *Phytopathology* 56 (2): 203 - 209.
- PACK, D. E. (1967). Difolatan. In: ZWEIG, G. (ed.). Analytical methods for pesticides, plant growth regulators, and food additives. New York. Academic Press. Vol. 5: 293 - 304.
- PAVONI, G. (1980). "Metodo di separazione e determinazione di residui di fungicidi in frutta e ortaggi". *Boll. Chim. Unione Ital. Lab. Prov., Parte Sci.* 6 (2): 153 - 159.
- PERKOW, W. (1985). *Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel. 2., vollständig neubearbeitete Auflage.* Berlin. Verlag Paul Parey.
- POMERANTZ, I. H.; ROSS, R. (1968). "Captan and structurally related compounds: thin layer and gas - liquid chromatography". *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 51: 1058-1062.
- POMERANTZ, I. H. *et al.* (1970). "Extraction, cleanup, and gas-liquid chromatographic method for the analysis of captan, folpet, and difolatan in crops". *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 53: 154 - 157.
- ROSS, R. G.; GAUL, S. O. (1980). "Persistence of captan applied with foliar nutrients during fruit bud development of apple". *Canad. J. Pl. Path.* 2: 205 - 208.
- SPARACINO, C. M.; HINES, J. W. (1976). "High-performance liquid chromatography of carbamate pesticides". *J. Chromat. Sci.* 14: 549 - 556.
- SURETTE, D. P.; MALLET, V. N. (1975). "Inorganic salts in the fluorometric detection of pesticides". *J. Chromat.* 107: 141 - 148.
- SUZUKI, K. *et al.* (1976). "Studies on the systematic identification and determination of pesticides. Part X. The systematic separation and identification of pesticides in the fourth division". *Agr. Biol. Chem.* 40 (5): 845 - 850.
- TACCHEO, M. B. *et al.* (1984). "Multiresidue method for captan, folpet, captan, vinclozolin and iprodione on italian apples and pears by capillary gas - liquid chromatography with electron - capture detection". *Pestic. Sci.* 15 (6): 612 - 615.
- TAKEDA, M. *et al.* (1977). "Studies on analysis of pesticide residues in foods. XXI. Analytical method for captan and captan (fungicides) in agricultural crops". *J. Food Hyg. Soc. Jap.* 18(1): 20 - 25.
- TREVISANI, G. R.; MICHELINI, F.; BALDI, M. (1982). "Determinazione simultanea di pesticidi organoclorurati, organofosforati, ftalimmidici, ossazolidinici, piretroidici, N-metilcarbamici, benzimidazolici e tioureidobenzenici in prodotti ortofrutticoli". *Boll. Lab. Chim. Prov.* 33: 69 - 112.
- WÄFLER, C.; GLATT, V.; MEIER, W. (1981). "Rasche und einfache Bestimmung der wichtigsten Fungizide auf Salat". *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* 72: 22 - 30.
- WORTHING, C. R. *ed.* (1987). *The pesticide manual. A world compendium.* 8 ed. British Crop Protection Council. Lavenham, Suffolk. Lavenham Press Limited.

ACTIVIDAD PROTEOLITICA EN LATEX DE *JATROPHA OCONITOFOLIA*

Herberth MADRIGAL-VILLA*, Humberto TRIMIÑO-V**, José E. CARBALLO-A**

ABSTRACT

Latex proteolytic activity of the *Jatropha oconitofolia*

The latex extracted from *Jatropha oconitofolia* (Chicasquil) showed proteolytic activity. The proteolytic enzyme activity of the latex did not suffer changes when the solvent system used was 20% 1- propyl alcohol. Molecular weight, optimum pH and temperature were determined for the extracted fraction. A kinetic study was also performed.

RESUMEN

El látex extraído de *Jatropha oconitofolia* (Chicasquil), presentó actividad proteolítica. Para la extracción del látex, se probaron diversos sistemas de solventes de recolección, de los cuales el más indicado fue el 1- propanol al 20%, pues no afectó la actividad proteolítica de la enzima presente en el látex. Se determinaron el pH y la temperatura óptima para la acción proteolítica, el peso molecular de la fracción extraídos y se estudio la cinética enzimática.

INTRODUCCION

La especie *Jatropha oconitofolia* (Chicasquil) perteneciente a la familia *Euphorbiaceae*, es un árbol de procedencia centroamericana comúnmente conocido como Chicasquil. Las especies de esta familia se caracterizan porque las hojas generalmente son simples y alternas. El fruto, triangular, con eflorescencia, a veces presenta una espiga o seno muy modificado. Se encuentra cultivada en cercas alrededor de las casas y en fincas de mediana elevación. Es un arbusto o árbol pequeño que crece de 3 a 5 m de altura, y la capa es ligeramente aplanada y espesa. Sus flores son blancas en corimbos unisexuales, monoicas y con cáliz blanco de 5 piezas unidas en la base y sentadas sobre un disco amarillo. (Holdridge, 1944, Martin, 1979, Pittier, 1957).

En Costa Rica, el chicasquil se usa en comidas como una gustosa espinaca. También se ha usado en la elaboración de quesos y por sus propiedades medicinales.

La mayoría de las euforbiáceas segregan un líquido lechoso y coloreado conocido con el nombre de látex. Este látex consiste en un líquido matriz con pequeñas partículas orgánicas en suspensión coloidal. El líquido matriz puede ser considerado como un grupo celular que contiene diversas sustancias en solución coloidal como resinas gomas, hidrocarburos, sustancias nutritivas, ácidos orgánicos, sales, alcaloides, esteroides, grasas, compuestos tánicos y mucilágos. El látex puede contener gran cantidad de proteínas, enzimas proteolíticas, azúcares, así como oxalatos y malonatos. (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, 1978, Esau, 1965, Committe on Technology Innovation, 1973).

* Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.

** Universidad Nacional-Heredia, Costa Rica.

FE DE ERRATAS

En la pág. 34 el artículo Actividad Proteolítica en látex de *jatropha oconitofolia*

Léase *oconitofolia* y no *oconitofolia*

El látex del Chicasquil presenta una acción irritante sobre la piel, lo cual es un primer indicio de la presencia de enzimas proteolíticas. Según Fermis y Gerber (1972), la actividad proteolítica ha sido observada en las plantas euforbiáceas desde hace muchos años. Por ello el estudio sobre ellas se ha intensificado últimamente.

Se investigó la actividad proteolítica que presenta el látex extraído de *Jatropha oconitofolia* (Chicasquil), determinándose el pH y la temperatura óptima para dicha acción. Se hizo una pre-purificación del látex, se determinó la actividad enzimática y la acción de esta enzima sobre la leche, comparada con una renina comercial.

Con la investigación, se justifica la necesidad de continuar el estudio de esta enzima en cuanto a las alternativas para mejorar el tratamiento del látex (fresco y envejecido) a fin de usarlo en la coagulación de leche o en otros campos de la industria. Así como la necesidad de ampliar los conocimientos que se tienen acerca de estas plantas en nuestro país.

MATERIALES Y METODOS

Recolección del látex

Las muestras de látex se recolectaron de árboles localizados en el Cantón de Barva, provincia de Heredia. Se sangraron árboles, de 2 a 5 metros. Para ello se seleccionaron aquellos que tenían una superficie apta para las incisiones, con el fin de hacer el mínimo daño al árbol.

1. Período y tiempo de sangrado.

Como lo describe Viquez, A. 1958, la recolección de látex se hizo en época lluviosa, durante el cuarto creciente lunar, para obtener mayor cantidad.

Se recolectó material en tres momentos del día: de 6 a 8 am, de 12 a 1 pm y de 4 a 6 pm.

2. Método de sangrado.

Se realizaron incisiones en forma de V de 2 a 5 mm de espesor, tratando de que la incisión solo penetrase en la corteza, a fin de ocasionar el menor daño posible a la planta y facilitar su pronta recuperación. Los cortes se hicieron con instrumentos de vidrio, plástico o acero inoxidable, para evitar la oxidación del látex. (Madriral, L.G. 1978; Hill, A. 1937).

Recolección y almacenamiento del látex.

El látex se recolectó en un principio según la metodología de Madrigal (1970) y de Chaverri (1983), en presencia de preservantes. Además se probó el uso de tubos de ensayo cubiertos con papel aluminio conteniendo 2 ml de buffer de fosfatos a diferentes pH (pH = 4 hasta pH = 9), introducidos en baño de hielo.

Como la recuperación del látex, a diferentes pH, resultó afectada por la formación de flóculos y poca potencia recuperada, entonces se recolectó el látex en balones de 50 ml conteniendo una solución al 20% de 1-propanol, recubiertos de papel aluminio introducidos en baño de hielo. Si no se estudiaba inmediatamente, se almacenaba a -30 °C.

Petratamiento del látex

Las muestras recolectadas se filtraron a fin de remover impurezas. Los filtrados se realizaron con tripas para peso molecular de 12000, con un ancho de 1/4" y un tamaño de poro de 3787-D50, contra solución propanol : agua (20:80), a 4 °C, por 24 horas. Se hizo una segunda diálisis contra tampón de fosfatos de pH 6,5. 0.02 M, por otras 24 horas, a 4 °C.

El dializado se transfirió a botellas plásticas, con recubrimiento de papel de aluminio, y se congeló, y se mantuvo a -30°C, hasta su uso.

Estudio del látex

1. Estudio de la actividad proteolítica

A todas las muestras se les determinó la actividad proteolítica en las condiciones especificadas para el método según Anson Perlman, E.B. and L. Lorand (1976).

Por otra lado, se determinaron ciertas características enzimáticas importantes, a saber: pH óptimo, temperatura óptima, constantes cinéticas (Km y Vmax) según modelo de Michaelis-Menten, y distribución del peso molecular del componente proteico.

Cabe destacar tres aspectos: primero, siendo el enfoque de este estudio dirigido a la exploración inicial de las diferencias entre las proteasas de diversas especies, los óptimos de pH y temperatura se trabajaron a fin de ver tendencias más que números exactos; segundo: los valores obtenidos para estos análisis deben considerarse "aparentes" dado el poco nivel de pureza de las enzimas y la posible existencia de más de una enzima activa. Por último la cinética se siguió en condiciones que hiciesen posible la comparación de la actividad de las diversas especies entre si y cercanas a las usadas en la coagulación de la leche.

1.1 Determinación del pH óptimo

Se prepararon soluciones al 0.5 % de caseína en tampones 0.01 M en fosfatos de pH 6.0, 7.0, 8.0 y 9.0. Se determinó la concentración de proteína hidrolizada a tiempos de 0, 2, 5, 10, y 30 minutos a 37°C, para cada pH, y se usaron las concentraciones establecidas en el método de Anson modificado.

1.2 Determinación de temperatura óptima

La temperatura óptima se determinó usando el pH óptimo que se estimó en el paso anterior. Se incubaron las muestras a un rango de temperatura de 10 °C hasta 70 °C.

1.3 Definición de las constantes aparentes

Usando pH 7 y 37 °C se determinó la actividad proteolítica inicial (ver sección D), variando las concentraciones iniciales de sustratos. El resultado fué analizado gráficamente siguiendo la técnica de linearización de Lineweaver-Burk para el modelo de Michaelis-Menten (Con y Pk. Stumph, 1978, Braverman, J.B. 1980).

2. Estudio de la coagulación de la leche

Se siguió el método de Lorand, 1976 para definir la actividad coagulante de la enzima a 35 °C y pH 6.5

ANALISIS PRACTICADO EN LATEX

1. Análisis de actividad proteolítica

Para determinar la actividad proteolítica, se usó el método Awson in Perlman, E.G. and L. Lorand (1976), modificado con el combinado con la técnica de Lowry (Lorand, L. 1976) para proteínas, en lugar de la ninhidrina para la estimación de los productos solubles de la hidrólisis.

2. Estudio cromatográfico de la muestra

Cada muestra fué analizada cromatográficamente en columnas de Sephadex G-100. Farmacia Fine Chemicals en una columna de tipo K26 de la misma marca, en un flujo de 40 gotas/5 min para la muestra y los patrones.

La columna se calibró con patrones cromatográficos a fin de estimar

el peso molecular de las proteínas presentes; de Blue dextran, aldolasa, eovalbina Quimotripsinógeno y Ribonucleosa.

DISCUSION DE RESULTADOS

1. Determinación del solvente de extracción

Para recuperar la proteína de los flóculos formados en la colección de látex a diferentes pH, y obtener un mejor rendimiento de recuperación, se realizaron pruebas de solubilidad con algunos solventes orgánicos (acetona, éter etílico, éter de petróleo, acetato de etilo, 1-propanol) para poder disolver los flóculos y lograr extraer la mayor cantidad posible de enzima atrapada, sin afectar sus propiedades.

En el látex recogido en buffer de fosfatos de diferentes pH, contenidos en tubos de ensayo, se encontró que no se recupera toda la proteína en la solución, y la actividad proteolítica era en algunos casos medible en suspensiones de la fase coagulada, pero en otros casos no se podía determinar en el precipitado.

El uso de 1-propanol al 20% permitió la recuperación tanto de la mayoría de la proteína como de una mayor actividad proteolítica.

2. Extracción y preservación del látex

El ácido cítrico y el bisulfito de sodio (Chaverri, 1983; Madrigal 1978) se usaron como preservantes para tratar de mantener las propiedades del látex y la actividad proteolítica, pero esas sustancias provocaron la formación de flóculos, o gránulos de gran tamaño. Es probable que la alta cantidad de HCN que tiene su látex más los preservantes, hayan provocado una modificación en la actividad proteolítica y las propiedades de la enzima.

3. Determinación de pH óptimo

El extracto crudo de látex, pre-purificado por diálisis, presentó mayor actividad proteolítica a un pH cercano a 7 (Figura 1). A medida que el PH aumenta, se aleja de dicho valor y la actividad proteolítica del extracto crudo decae. Este resultado corroboró lo descrito por Fermi y Gerber (Perlman, 1976; Gerber, 1972) quienes encontraron que en este tipo de plantas las proteasas contenidas en látex poseen pH óptimos de 7. Como puede verse en la figura 1, existe un máximo relativamente estrecho, con pendientes que decrecen con rapidez a ambos lados.

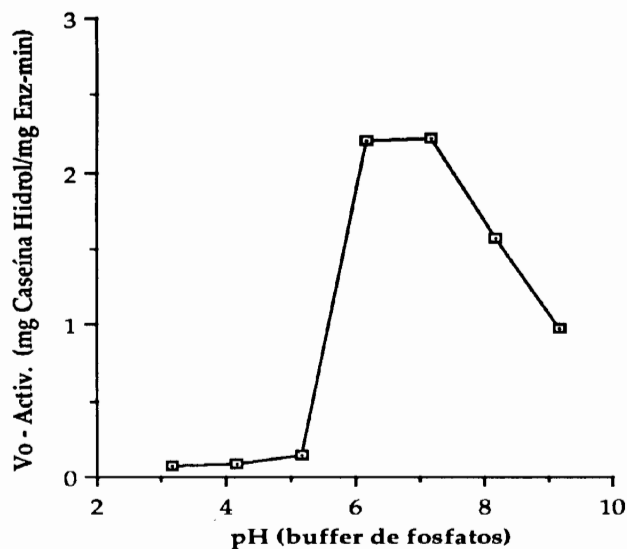


Fig. 1.: Efecto del pH sobre la actividad enzimática.

4. Determinación de temperatura óptima

La mayor actividad proteolítica se presentó a los 60°C (Figura 2). A 70°C, se presenta una disminución considerable de la actividad. La enzima se mantiene relativamente estable a temperaturas entre los 40 °C y los 60 °C, lo mismo que la actividad proteolítica.

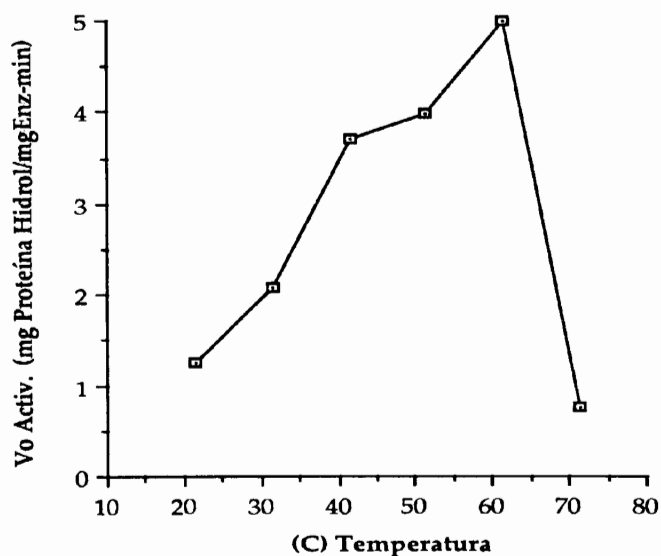


Fig. 2: Efecto de la temperatura sobre la actividad .

5. Cinética enzimática

Se determinó el comportamiento cinético de la enzima, tanto para látex fresco como para látex congelado, por aproximadamente una semana.

Cinética enzimática para extracto crudo fresco

El análisis de regresión lineal de Lineweaver-Burk (con un factor de correlación de 0.9588) da a lugar una $K_m = 1.56$ mg Caseína/mL mezcla reacción, $K_m = 1,55$ mg Proteína Hidrolizada /mg Proteína-min (Figura 3). Como la correlación fue baja, se tomaron aquellos puntos más representativos de la saturación. Se repitió el análisis de regresión lineal. Así, con un factor de correlación de 0.9981, se obtuvo una $K_m = 1.63$ mg Caseína/mL mezcla reacción y $V = 1.57$ mg proteína Hidrolizada/mg Proteína-min. Dado que los valores en ambos análisis K_m y V_m son similares, se puede considerar que siendo la enzima no purificada, se obtiene un comportamiento de Michaelis-Menten bastante aceptable. (Conn; 1978; Braverman 1980).

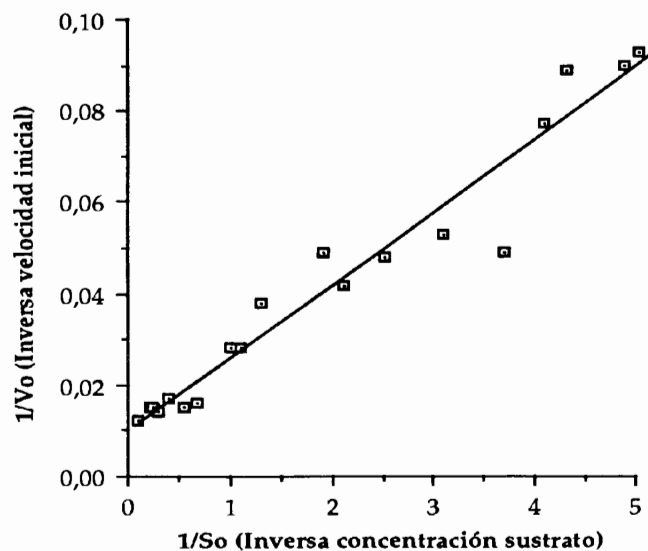


Fig. 3: Gráfica de Line Weaver - Burch para Latex puro

Cinética enzimática con extracto envejecido

El tratamiento de la muestra para un extracto envejecido, se realizó en condiciones como las descritas en el caso anterior. Se encontró que no responde a una cinética de Michaelis-Menten (Figura 4). Se presenta una saturación hasta 30 ug Proteína

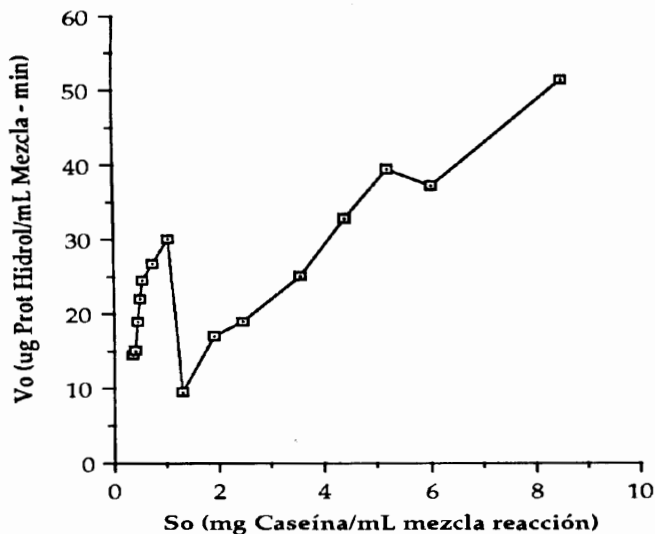


Fig. 4: Gráfica de Michaelis - Menten para Latex pre-purificado envejecido .

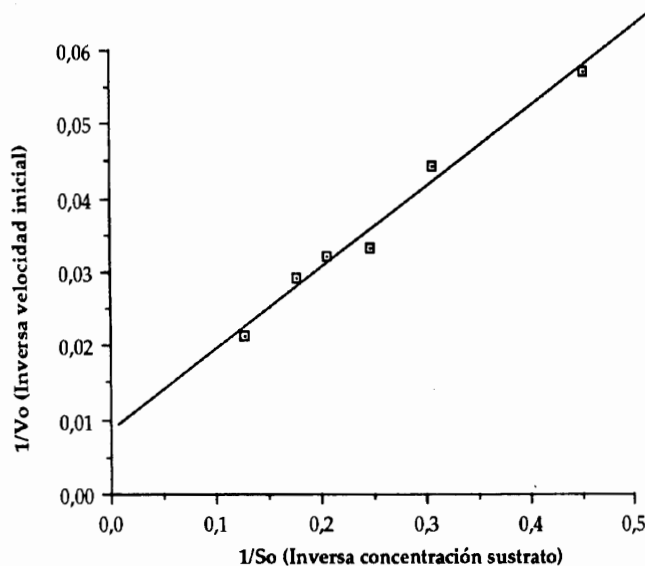


Fig. 5: Gráfica Line - Weaver Burck para primer grupo de datos de Latex pre-purificado envejecido.

hidrolizada/mL mezcla-reacción min. Pero luego la velocidad inicial baja considerablemente para volver a alcanzar una velocidad de 50 ug Proteína hidrolizada/mL mezcla - reacción-min. Con este resultado es de suponer la degradación o cambio en el tiempo de la enzima, originando presumiblemente a dos formas activas. Para corroborar lo anterior, los valores obtenidos se dividen en dos grupos y así poder realizar un análisis de regresión lineal Lineweaver-Burk para obtener un comportamiento cinético Michaelis-Montom. El análisis de regresión lineal Lineweaver-Burk, para el primer grupo de valores da como resultado un factor de correlación = 0.992, Km = 1.56 mg Caseína/ml mezcla reacción, Vm = 1.92 mg Proteína Hidrolizada/mg Proteína-min. (Figura 5). Para el segundo caso, se presenta un factor de correlación de 0,993, Km = 14.67 mg Caseína/mL mezcla reacción y una Vm = 2,05 mg Proteína Hidrolizada mg Proteína-min (Figura 6).

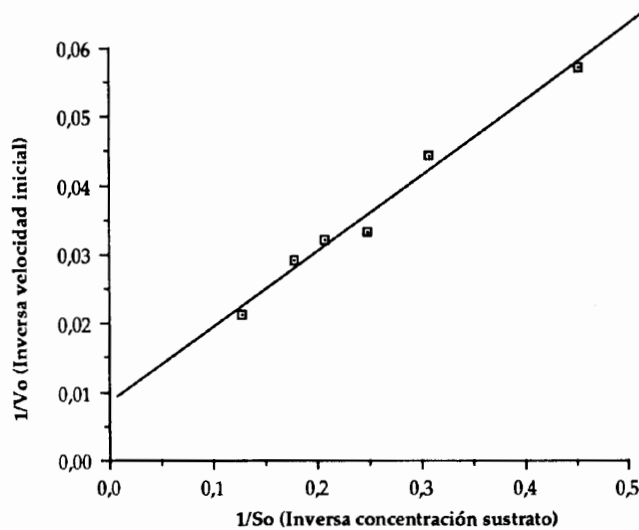


Fig. 6: Gráfica Line Weaver - Burck para segundo grupo de datos de Latex pre-purificado envejecido.

Este comportamiento se puede justificar por lo siguiente:

- La existencia aparentemente de dos formas activas de enzimas, que pueden ser consecuencia de cadenas de péptidos producidos por ruptura en la molécula de enzima. Se produce una inhibición por el sustrato en una de las formas activas, mientras que la otra continúa hasta la saturación.
- La presencia de algún tipo de inhibidor en la primera fase de la saturación, que activa en un caso hasta determinada concentración de sustrato y que a la vez el inhibidor bloquea

los sitios activos de la otra. Puede presumirse también que existe en la segunda fase alguna sustancia que activa la enzima y continúa hasta la saturación.

6. Determinación del Peso Molecular

El tamizado molecular da como resultado un peso molecular de

116000 para la proteína presente en el extracto pre-purificado de látex. Sin embargo, la amplitud del pico para el extracto pre-purificado (Figura 7) es mucho mayor que la mostrada por los picos de las proteínas patrón (Figura 8). Dado que se usaron cantidades similares de proteína en ambas corridas cromatográficas, la diferencia de amplitud puede indicar la presencia de más de una proteína de pesos moleculares cercanos.

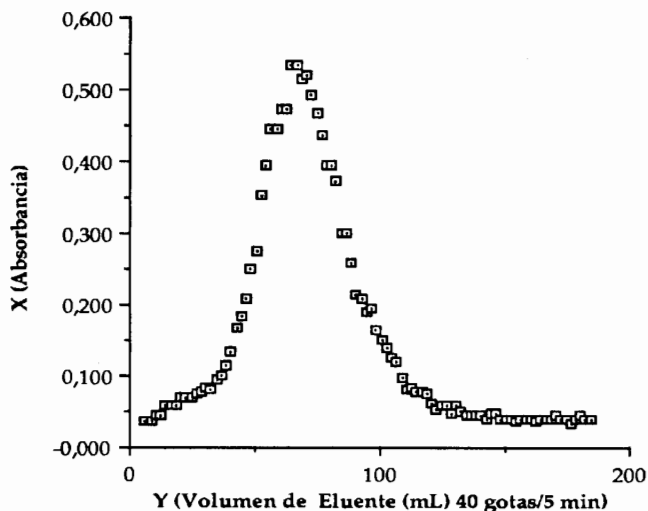


Fig. 7: Corrida cromatográfica de extracto crudo de Latex.

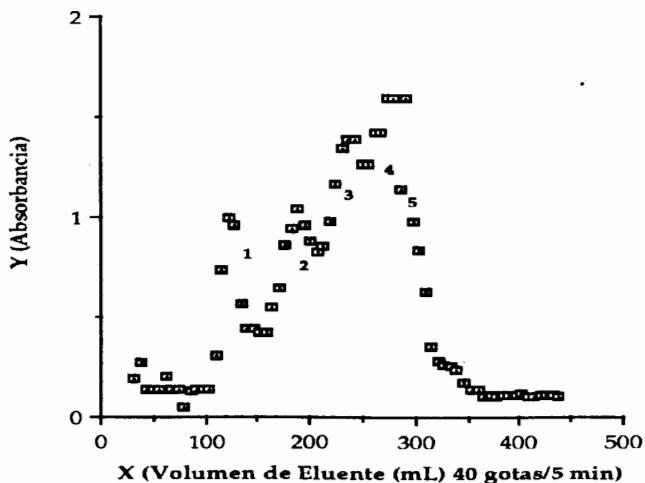


Fig. 8: Corrida cromatográfica de patrones de proteína. 1- B. DEXT, 2- ALDOL, 3- OVOAL, 4- QUIMOT, 5- RIBO.

No se pudo obtener recuperación de actividad proteolítica en ninguna de las fracciones. posiblemente a causa de :

- Deterioro o eliminación del complejo activado de la enzima. La ruptura parcial de la molécula de la enzima, ocasiona eliminación de algún péptido pequeño, que como consecuencia la inactiva.
- La ausencia de sustancias (iones, péptidos, etc.) que actúan sobre la molécula y pueden activar la enzima, o bien alguna sustancia inhibidora presente en el extracto crudo, que no permitió la reacción enzimática y que no se separó de la enzima.

7. Actividad del chिकासquil en la leche

La actividad del extracto crudo de Chिकासquil en la leche es casi una tercera parte de lo que presenta la resina comercial. El látex presenta una actividad de 34.20 UN actividad /mg proteína y la resina 94.10 UN actividad /mg proteína (Cuadro 1).

CUADRO 1

Comparación de la actividad proteolítica de chिकासquil con el cuajo en la leche

ENZIMA	TIEMPO seg	CANTIDAD PROTEINA mg	ACTIVIDAD UN actividad/ mg Proteína
Latex	60,00	11,70	34,20
Cuajo	60,00	4,25	94,10

Para comparar la actividad del látex de Chिकासquil con la renina, se realizó de acuerdo al tiempo de coagulación. 60 seg = 400 UN Actividad.

En condiciones de temperatura y pH necesarios para una enzima comercial, el chिकासquil produjo coágulos de consistencia semejante al presentado por la renina. La aparición de los primeros coágulos con respecto al tiempo fue mayor, pero las propiedades físicas, forma, tamaño y consistencia fueron muy comparables a las impartidas al coágulo por la enzima comercial.

Entre los factores que pueden influir en la diferencia del tiempo de coagulación están:

- La enzima presente en el látex posee menor actividad específica.
- La enzima del chichasquil modifica al sustrato de manera diferente a la del cuajo comercial, en la forma de ataque.
- La presencia de inhibidores en el extracto de látex que no ha sido purificado, y puedan bloquear la actividad enzimática.
- La necesidad de algún ión que active la enzima, pues algunas, como en el caso de la renina y otros agentes comerciales, traen dosificaciones de iones calcio y sodio que favorecen la reacción enzimática.

Los factores antes mencionados deben ser tomados en consideración, pues las condiciones en que se trabajó son muy cercanas a las condiciones reales. Así, los resultados obtenidos son bastante promisorios en lo relativo a la utilización de la enzima para coagulación de la leche.

CONCLUSIONES

Se encontró que para coleccionar el látex, el 1-propanol al 20 % mostró ser el mejor solvente de extracción comparado con otros, pues la actividad enzimática no se ve afectada. Los agentes preservantes (bisulfito de sodio y citrato de sodio) provocan a la hora de coleccionar el látex una modificación de las propiedades físicas, de tal manera que se aglutina impidiendo la recuperación de la actividad proteolítica en la solución.

La enzima presente en el látex presenta mayor actividad proteolítica a pH cercanos a 7, es decir que existe un máximo relativamente estrecho en el que la enzima es más activa. La temperatura máxima de actividad proteolítica de la enzima se encuentra en un intervalo de 40 °C a 60 °C. Sin embargo, a mayores temperaturas, la enzima es estable por menor tiempo. Aunque es de esperar que la enzima no sea activa a bajas temperaturas (0 a 4 °C, o aun bajo cero), se debe hacer notar que hay cambios en el comportamiento cinético de la enzima almacenada a baja temperatura, que sugieren alteraciones por autoproteólisis.

A medida que el extracto crudo de látex envejece, aun a temperaturas bajo cero, parecen ocurrir cambios en la estructura de la enzima. Esto se observa en los resultados de k_m y V_{max} obtenidos para la cinética enzimática del extracto de látex envejecido. Mientras que para una cinética de extracto fresco de látex, los resultados de k_m y V_{max} indican la existencia de una enzima, en el extracto envejecido parece haber dos formas enzimáticas presentes.

Según la curva de patrones referente a pesos moleculares, el peso

molecular encontrado en la enzima presente en el látex es de 116000. El pico tan amplio obtenido del tamizado molecular indica que podrán estar presentes varias proteínas de peso molecular muy similar. Se debe recordar que no se recuperó actividad enzimática en ninguna de las fracciones. La proteasa presente en el látex es una posible fuente de coagulación de leche e indica el posible uso de enzimas extraídas de plantas vegetales en el ablandamiento de carnes, clarificación de cervezas, como sustituto de la renina en la manufactura de quesos y otros. En este caso la actividad proteolítica de esta enzima es un 30 % de la actividad presentada por la renina.

BIBLIOGRAFIA

BRAVERMAN, J.B.S. 1980. Introducción a la Bioquímica de Alimentos. El Manual Moderno S.A. México D.F.

COMMITTEE on TECHNOLOGY INNOVATION. 1973. Tropical Plants With Promising Economic Value. Comisión on International México. Limusa: 631 p.

CONSEJO NACIONAL de CIENCIA y TECNOLOGIA. 1978. Guayule, Reencuentro con el Desierto. 2 ed. México D.F. p.124.

EUSAU, K. 1965. Anatomía Vegetal. Barcelona: Omega.

HILL, A.F. 1937. Economic Botany. New York. Mc Graw Hill. p. 158.

LORAND, L. 1976. Methods in Entomology". 1976. London. Academic Press: V. 5. p. 26-28.

MOLDRIDGE, C.R.; POVEDA, L. 1944. Arboles de Costa Rica. Publicaciones Científicas Tropicales. San José. p. 226.

MADRIGAL, S. L. G. 1978. Efecto de algunas variedades sobre el rendimiento de la papaína cruda. Tesis Lic. en Tecnología de Alimentos. San José. Universidad de Costa Rica. Carrera Interdisciplinaria en Tecnología de Alimentos.

MARTIN, F.W. and RUBERTE, R. M. 1979. Edible Leaves of Tropics. Southam Region Science and Education Administration. Department of Agriculture. Puerto Rico. Cap. II. p. 49

PITTIER, M. 1957. Ensayo sobre plantas usuales de Costa Rica. 2 ed. San José. Editorial Universitaria.

VIQUEZ, A. 1958. Investigación de la cocción vermífuga de tres especies de hicus que crecen en Costa Rica. p. 226.

EVALUACION DE LA CALIDAD DEL CACAO SECO (*TEOBROMA CACO L.*) EN GRANO A NIVEL NACIONAL (COSECHA 89-90)

Luis A. JIMENEZ-SILVA*

ABSTRACT

National cacao (*Theobroma cacao L.*) quality evaluation during 89-90 crop

The following study details and analyzes the results of a national cacao quality evaluation, performed by the Cacao-CITA Program and the National Production Council (CNP), during 89-90 crop.

The main objectives of the evaluation were: to establish the quality situation of the cacao produced in Costa Rica and to determine the priority of the required efforts for the quality improvement.

There were 124 samples analyzed, which mean about 550 metric tons (TM), collected in all of the production areas of the country.

The main results reveal an extremely low quality level, according to the Costa Rican National Standard, where 123 samples were out of classification and only one was classified as third class.

The main factors that attempt against a good quality level are: degree of fermentation, drying efficiency and the final selection of the grains.

RESUMEN

El presente estudio detalla y analiza los resultados obtenidos en una evaluación de la calidad del cacao seco en grano, realizada a nivel nacional por el Programa Cacao-CITA y el Consejo Nacional de la Producción (CNP), durante la cosecha 89-90.

El propósito principal del estudio fue el de establecer la situación de la calidad del cacao seco en grano producido por los productores nacionales y priorizar los esfuerzos necesarios para su mejoramiento. El total de muestras recolectadas y analizadas fue de 124, se estima que el total muestreado está alrededor de 550 TM, distribuido en todas las zonas productoras del país.

Los resultados más importantes revelan que la calidad a nivel nacional es alarmantemente baja al compararla con la Norma Nacional de calidad vigente, dado que de las 124 muestras analizadas 123 están fuera de clasificación y solamente una es Tercera.

Los factores de calidad que atentan en mayor grado contra la adecuada calidad son, en orden decreciente de importancia, los siguientes: grado de fermentación, eficiencia en el secado y selección del producto final.

INTRODUCCION

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es un cultivo originario de América del Sur, tuvo un papel histórico de primera línea en el desarrollo de las sociedades indígenas de Centro y Suramérica y en la actualidad se constituye en una de las actividades agrícolas más importantes de regiones aptas para su cultivo como: Centroamérica, Suramérica, Africa e Indochina.

Desde que en 1876 se inventó la elaboración de chocolate a base de leche, el mercado del cacao ha evolucionado en la forma típica que caracteriza a muchos de los productos agrícolas básicos originarios de países en vías de desarrollo y que son consumidos en mayor proporción por los países desarrollados (Norteamérica y Europa). Tales mercados, regidos por la ley de la oferta y la demanda, se caracterizan por períodos alternativos de demanda insatisfecha (precios altos) y de sobreoferta (precios bajos) (CURTIS, 1987).

* Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.

En la actualidad, los productos de cacao se enfrentan al que posiblemente será el más largo período de precios bajos (sobreoferta) en la historia del mercado mundial. Hoy el mercado se encuentra saturado, los precios al productor son, en promedio, aproximadamente 50% menores de los que se dieron al final de los setentas y menos del 15% del cacao disponible es de alta calidad; la situación es por lo tanto sumamente difícil y sin lugar a dudas, provocará la desaparición de los productores ineficientes en aspectos como productividad y calidad.

En Costa Rica, el inicio del Programa de Fomento Cacaotero en 1984 y la ejecución de una serie de proyectos en diferentes regiones del país en la última década, provocaron el renacer paulatino de la actividad cacaotera nacional, luego de su debilitamiento en 1979 con la aparición de la monilia. Este nuevo esfuerzo promovió el cultivo de variedades híbridas de mayor producción y resistencia a las enfermedades, principalmente en regiones en las que el cultivo no era tradicional.

Dada esta coyuntura, el Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos (CITA) dio inicio, en 1988, al Programa de Investigación y Transferencia de Tecnología para el Mejoramiento del Beneficio del Cacao en Costa Rica (Programa Cacao-CITA), con el propósito de lograr un adecuado tratamiento poscosecha de la producción cacaotera, de acuerdo con las posibilidades técnico - económicas de los productos nacionales; de forma que se garantizara la obtención de un alto grado de calidad final que permitiera al país competir en el mercado mundial, caracterizado por la sobreoferta de cacao con calidades media y baja.

Hoy la realidad es que las nuevas variedades híbridas han tenido un desempeño muy inferior al esperado, lo que unido a las dificultades financieras de los productores, los bajos precios en el mercado internacional y la imposibilidad de las instancias gubernamentales involucradas para resolver la problemática existente, colocan al sector cacaotero costarricense al borde de un colapso similar o peor que el ocurrido de 1979, en el que la única oportunidad de supervivencia radica en el incremento de la productividad de las plantaciones y la calidad del producto final.

La calidad del cacao seco en grano depende fundamentalmente de los siguientes factores: 1. características genéticas de las plantas, 2. ambiente en que estas se desarrollan (suelo, pluviosidad, brillo solar y otros) y 3. tratamiento poscosecha que reciben las semillas (quiebra, desgrane, fermentación y secado) (MADRIZ, 1987). Por lo tanto, la única posibilidad real de mejorar la calidad del cacao a corto plazo consiste en optimizar su tratamiento poscosecha (beneficio). Existe una diversidad importante de pruebas que se realizan sobre almendras de cacao seco con el objeto de determinar su calidad o al menos tener una idea aproximada de ella. Algunas pruebas, por su sencillez y bajo costo, se pueden realizar en el campo, otras pueden ser realizadas fácilmente en laboratorios equipados y finalmente hay otras que por su dificultad y costo se realizan en laboratorios especializados y en las industrias.

El Programa Cacao-CITA se dio a la tarea entonces de establecer,

entre otras cosas, una metodología adecuada para la determinación de la calidad de cacao en grano, que permitiera desde una perspectiva verdaderamente científica el mejoramiento de la calidad, específicamente en lo que se refiere al tratamiento poscosecha.

El presente estudio detalla y analiza los resultados obtenidos en una evaluación de la calidad del cacao seco en grano, realizada en el nivel nacional por el Programa Cacao-CITA y el Consejo Nacional de la Producción (CNP), durante la cosecha 89-90, utilizando la metodología para la determinación de la calidad definida por el Programa. El propósito es el de establecer la situación de la calidad del cacao seco en grano producido por los productores nacionales y priorizar los esfuerzos necesarios para su mejoramiento.

CUADRO 1: Determinaciones realizadas, propósitos y referencias

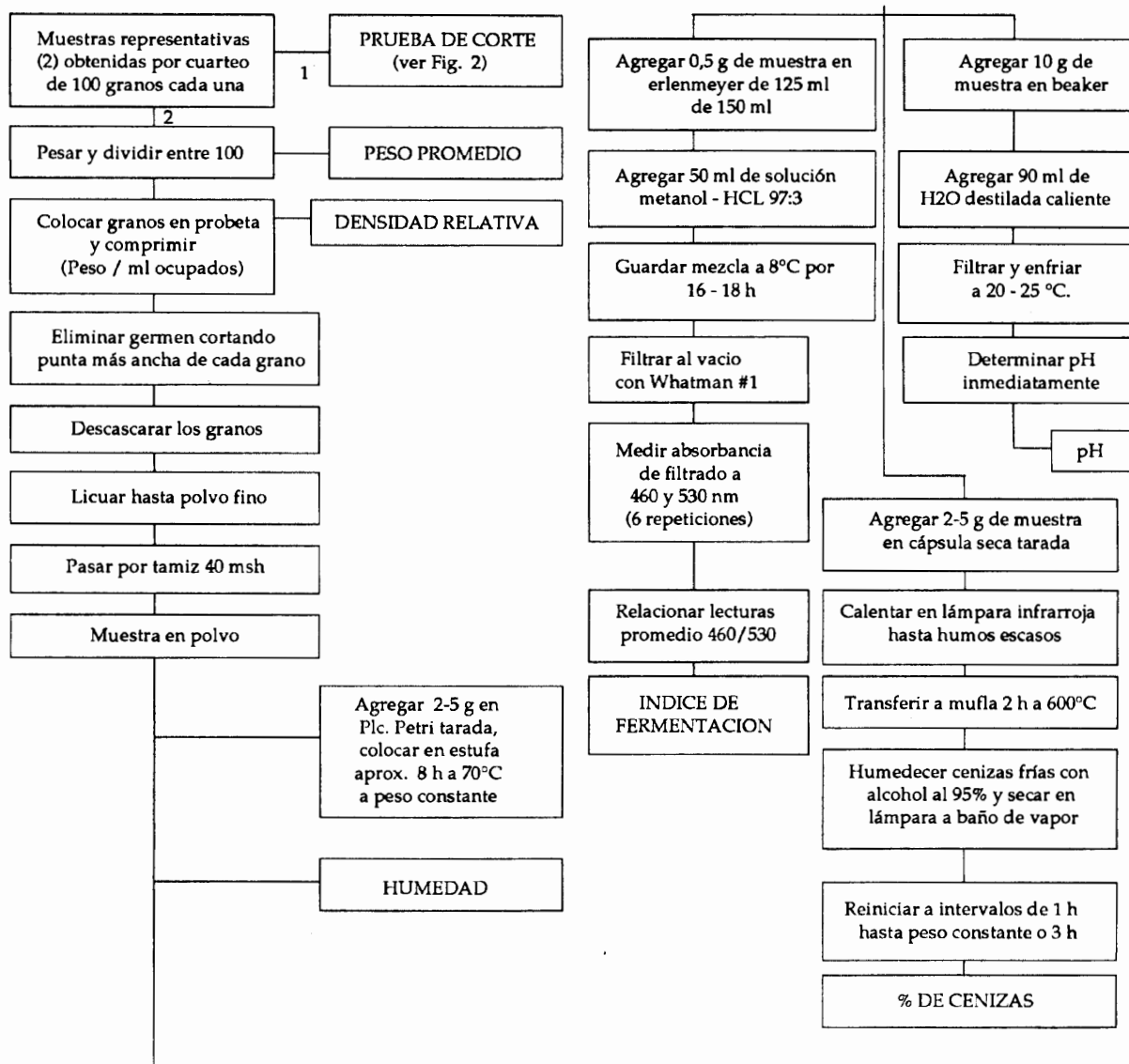
DETERMINACION	PROPOSITO	REFERENCIA
Peso Promedio	Característica por evaluar, según Norma Nacional. Determinante en el rendimiento de industrialización.	La Cacaota, 1988.
Densidad Volumétrica	Se considera que podría tener relación con el grado de fermentación obtenido (inversamente proporcional).	Madriz, J., 1987.
Prueba de Corte	Evaluación cuantitativa que permite evaluar un número importante de características incluidas en la Norma Nacional. Se utiliza metodología nueva modificada por el autor (Fig. 2).	Shamuddin, S. y Darmich, P., 1986.
Porcentaje de Humedad	Característica por evaluar, según Norma Nacional. Determinante en la vida útil del producto.	A. O. A. C., 1980.
Porcentaje de Cenizas	Se considera que podría tener relación con el grado de fermentación obtenido (inversamente proporcional).	O. I. C. C., 1973 / Cubero, E., 1990.
pH	Se considera que tiene relación con el grado de fermentación obtenido. Determinante en las características organolépticas del chocolate.	O. I. C. C., 1972.
Índice de Fermentación	Evaluación cuantitativa que se considera tiene relación con el grado de fermentación obtenido (directamente proporcional).	Gourieva y Tserevitinov, 1979.

MATERIALES Y METODOS

Con el objeto de tener una idea lo más cercana posible a la realidad, se decidió muestrear al menos un 10% de la producción nacional del período señalado (estimado 89 - 90 = 4500 TM), lo que significa al menos 450 TM, incluyendo, hasta donde fuera posible, todas las zonas productoras del país. Las muestras fueron recolectadas según el procedimiento que se indica en la Norma Oficial de Calidad para Cacao Seco en Grano, decreto N° 18408-MEC, del 7 de setiembre de 1988 (LA GACETA, 1988).

La metodología definida por el Programa Cacao - CITA para evaluar la calidad del cacao seco en grano recolectado, está compuesta por determinaciones físicas y químicas. El propósito de tales determinaciones y su referencia respectiva se incluyen en el Cuadro 1, en tanto que la metodología empleada para llevarlas a cabo fue unificada bajo el procedimiento indicado en la Figura 1.

FIGURA 1: Procedimiento unificado para la evaluación de calidad del cacao seco en grano

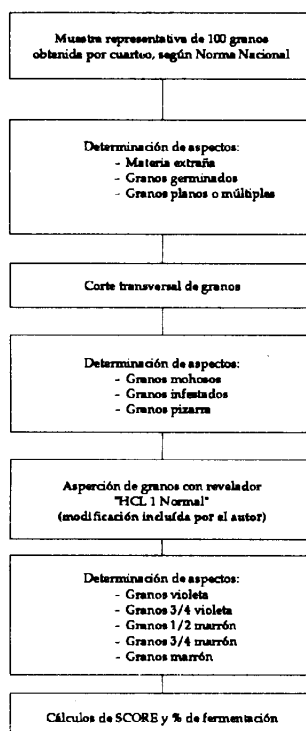


Se obtuvieron 2 muestras representativas de 100 granos cada una. Con una de ellas se realizó la prueba de corte, la restante se utilizó para hacer las otras determinaciones. Primero se obtuvo el peso promedio y la densidad relativa con los granos enteros, a continuación se procedió a obtener una muestra en polvo de los cotiledones del grano (40 msh); a partir de este polvo se determinaron la humedad por estufa (A.O.A.C., 1980), el pH (O.I.C.C., 1972), el índice de fermentación (Gourieva y Tserevitinov, 1979) y el porcentaje de cenizas (O.I.C.C., 1973 / CUBERO, 1990).

En lo que se refiere específicamente a la Prueba de Corte, dado que para este estudio se utilizó una metodología diferente a la estipulada en la Norma Nacional, que además fue modificada por el autor, se incluye, en la Figura 2 una breve descripción del procedimiento utilizado.

El tratamiento estadístico de la información obtenida se llevó a cabo mediante el sistema S.E.E.M. versión 2 (TENORIO, 1990), utilizado por el Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos para la evaluación estadística de encuestas varias.

FIGURA 2: Prueba de corte procedimiento modificado



RESULTADOS

El total de muestras recolectadas y analizadas fue de 124, para un total muestreado de 489.5 TM; sin embargo, 34 de las muestras no incluyeron información sobre la cantidad muestreada, por lo que se estima que el total muestreado está alrededor de 550 TM, lo que es convenientemente superior al mínimo definido por el Programa Cacao - CITA y el CNP.

La recolección de muestras en las diferentes zonas cacaoteras del país estuvo a cargo de ambas instituciones y la cantidad muestreada en cada zona no corresponde en magnitud a su aporte real a la producción nacional. La distribución por instituciones de la cantidad muestreada por zona es la siguiente:

- CNP: Zona Norte (28 muestras / 304.6 TM)
Zona Atlántica (16 muestras / 30 TM)
- Programa Cacao - CITA: Zona Sur (61 muestras / 134.9 TM)
Zona Pacífico (14 muestras / 16.5 TM)
Zona Central (5 muestras / 3.5 TM)

La distribución en el tiempo del muestreo, durante la cosecha 89-90, es la siguiente: 61.3% octubre-diciembre, 21.8% julio-setiembre, 11.3% enero-marzo y 5.6% abril-junio; esta distribución no necesariamente corresponde a la distribución temporal de la producción nacional.

Por otro lado, del total muestreado, el 92,7% del cacao es de origen híbrido, el porcentaje restante corresponde a cacao "criollo" (matina), F2, o bien no incluyó la información.

Los promedios nacionales y por zonas para los criterios incluidos en la evaluación de calidad definida, se incluyen en el Cuadro 2. Se indica además si los criterios evaluados están incluidos en la Norma Nacional vigente y si son obtenidos mediante la ejecución de la Prueba de Corte, que como se mencionó, permite evaluar un número importante de criterios de calidad.

CUADRO 2: Promedios para los criterios de calidad evaluados

CRITERIO	NACIONAL	SUR	NORTE	ATLANTICO	PACIFICO	CENTRAL
Humedad (%) (NN)	8.64	7.62	9.90	9.36	9.37	8.69
Peso promedio (g) (NN)	1.14	1.08	1.20	1.23	1.18	1.10
Densidad volumétrica (g/ml)	0.491	0.499	0.465	0.496	0.493	0.504
Canas (%)	3.15	3.05	3.01	3.43	3.21	4.02
pH	5.50	5.40	5.38	5.89	5.54	6.13
Índice de fermentación	1.00	1.13	0.94	0.69	0.99	0.81
Grano mohoso (%) (PC) (NN)	3.19	2.41	1.50	7.63	4.07	5.40
Grano infestado (%) (PC) (NN)	0.20	0.21	0.07	0.63	0	0
Grano germinado (%) (PC) (NN)	0.34	0.64	0.11	0	0	0
Grano plano o múltiple (%) (PC) (NN)	4.29	4.84	2.25	6.79	2.56	2.00
Grano pizarra (%) (PC) (NN)	2.73	2.75	4.39	1.44	1.43	1.00
Grano violeta (%) (PC) (NN)	53.4	47.51	56.25	61.19	62.21	70.80
Grano marrón (%) (PC) (NN)	41.7	46.93	39.04	36.25	35.00	27.40

NOTA: (NN) Criterio en la Norma Nacional.
(PC) Criterio obtenido de la Prueba de Corte.

En el Cuadro 3 se incluye la relación individual y general de los promedios nacionales contra la Norma Nacional, específicamente, respecto a las diferentes categorías definidas por la Norma, incluidas en el Cuadro 4.

Es necesario aclarar que de acuerdo con la Norma, una muestra será de calidad Extra, Primera, Segunda o Tercera, únicamente si se encuentra entre los ámbitos descritos para todos y cada uno de los criterios. Por lo tanto un análisis individual contra la Norma, como el que se presenta, es meramente ilustrativo, siendo válido únicamente el análisis general presentado al final del cuadro.

El Cuadro 3 incluye asimismo un elemento nuevo, el porcentaje de

CUADRO 3: Relación individual y general de los promedios nacionales con la norma nacional de calidad vigente

CRITERIO	EXTRA	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	FUERA
Porcentaje de humedad	22.8 %			6.1 %	71.1 %
Peso promedio	37.1 %		36.2 %	11.2 %	15.5 %
Grano mohoso	54.9 %	12.9 %	3.2 %	1.6 %	27.4 %
Grano infestado	94.4 %	3.2 %	0 %		2.4 %
Grano germinado	91.1 %	4.9 %	0 %		4.0 %
Grano Pl. o Mul.	28.2 %		12.1 %	14.5 %	45.2 %
Grano pizarra	82.3 %	16.1 %	1.6 %	0 %	
Grano violeta	0.8 %	2.4 %	5.7 %	12.9 %	78.2 %
Grano marrón	1.6 %	11.3 %	55.6 %	24.2 %	12.1 %
Porcentaje fermentación	0.8 %	15.3 %	67.7 %	10.5 %	5.7 %
GENERAL	0 %			0.8 %	99.2 %

CUADRO 4: Relación individual y general de los promedios nacionales con la norma nacional de calidad vigente

CRITERIOS	CALIDADES			
	EXTRA	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA
Humedad (%) (max)	7.5	7.5	7.5	8.0
Peso promedio (g)	1.2	1.2	1.1	1.0
Fermentación (%) (min)	80	60	35	20
Grano violeta (%) (max)	15	20	25	40
Grano pizarra (%) (max)	5	15	20	25
Gr. germinado (%) (max)	0	2	3	3
Gr. Pl. o Mul. (%) (max)	1	1	2	3
Gr. mohoso (%) (max)	0	2	3	4 (*)
Gr. infestado (%) (max)	0	2	3	3 (**)
Materia ext. (%) (max)	0	0	0	1

NOTA: La suma de (*) y (**) en ningún caso debe ser mayor a 6.

FUENTE: La Gaceta, decreto # 18408 - MEC, 1988.

fermentación, que se obtiene de la Prueba de Corte y representa el porcentaje del área total examinada que presenta color marrón y que por ende se considera fermentada.

La Norma Nacional tipifica la condición de fermentación como el porcentaje de granos marrón presentes en la muestra, sin embargo, dado que para el industrial es más ventajoso procesar un grano parcialmente fermentado (3/4 marrón, 1/2 marrón e incluso 3/4 violeta) que uno sin fermentar (violeta y pizarra), es lógico considerar, que bajo el esquema modificado de la Prueba de Corte, incluido en este estudio, resulta más real referirse a porcentaje de fermentación de la forma arriba indicada.

Si bien es cierto que la Prueba de Corte definida por Gourieva y Tserevitinov reporta como resultado final una puntuación entre 100 y 600, que es la sumatoria de los resultados obtenidos al multiplicar el número de granos presentes en cada categoría por un factor asociado (Pizarra = 1, violeta = 2, 3/4 violeta = 3, 1/2 marrón = 4, 3/4 marrón = 5 y marrón = 6), se considera que tal expresión es de difícil comprensión y por lo tanto se optó por expresar el resultado final de la Prueba de Corte como porcentaje de fermentación.

Por otro lado la utilización del HCl (1N) como revelador tiene el propósito de hacer más visible la diferencia de coloración, dado que la disminución del pH hace variar el color violeta de las antocianinas a rojo. Sin embargo debe aclararse que la utilidad de tal modificación está siendo estructurada

DISCUSION

Uno de los grandes problemas en la evaluación de la calidad del cacao seco en grano es la oportunidad de contar con una única determinación o criterio confiable y concluyente. En general es necesario contar con varios criterios, de forma que sea posible darse una idea general de la calidad del cacao que se evalúa. Desde tal perspectiva, quizás este estudio incluya demasiados criterios lo que, sin embargo, si bien dificulta la percepción de la calidad general, permite un exhaustivo análisis particular, como el siguiente:

- Humedad: Es deseable que la humedad no supere el 7.5 % con el objeto de evitar el ataque de hongos e insectos. Puede observarse que el promedio nacional es muy superior. La única zona que parece no tener problemas generalizados de secado es la Sur. Se debe hacer notar que esta es la zona que cuenta con mayor número de dispositivos para el secado artificial de cacao fermentado.
- Peso promedio: Se puede considerar que el promedio nacional es bastante bueno, dado que a pesar de que no supera el 1.2 g, se debe mencionar que los híbridos nacionales dan semillas

más bien pequeñas. Sin embargo, debe tenerse cuidado, pues es de esperar que conforme aumenta el grado de fermentación disminuya el peso promedio, como en el caso de la zona sur.

- Densidad volumétrica y cenizas: Estos criterios no parecieran tener un comportamiento adecuadamente reproducible con respecto a los otros criterios referentes al grado de fermentación. Es necesario evaluar su correlación con estos, para eventualmente decidir más objetivamente sobre su aplicabilidad.
- pH: Es de esperar que un grado de fermentación alto dé como resultado valores de pH entre 5.5 y 5.0 por la penetración del ácido acético en el grano. Valores inferiores a 5 generalmente traen problemas de sabor y aroma en el chocolate y son asociados a secado demasiado fuerte o exceso de fermentación. Valores cercanos a 6, por otro lado, podrían relacionarse con niveles bajos de fermentación. Por lo tanto, el promedio nacional puede considerarse adecuado, aunque, debe tenerse cuidado si se pretende aumentar el grado de fermentación.
- Índice de fermentación: Este criterio cuantitativo pareciera tener comportamiento adecuadamente reproducible respecto a otros criterios cualitativos referentes al grado de fermentación. De comprobarse, se constituiría en un criterio de gran ayuda en el caso de duda respecto a una muestra cualquiera.
- Prueba de corte/criterios no relacionados con el color (mohoso, infestado, plano o múltiple y germinado): Puede considerarse que el promedio nacional de grano mohoso presenta el valor más preocupante, especialmente en las zonas Atlántica, Central y Pacífico, lo que de acuerdo con sus promedios de humedad era previsible.
- Prueba de corte/criterios relacionados con el color (pizarra, violeta y marrón): Tanto el promedio nacional, como el de todas las zonas, exceptuando quizás la Zona Sur, son preocupantes, dado que demuestran un grado de fermentación deficiente. Al respecto el valor calculado de porcentaje de fermentación es muy ilustrativo: Nacional 47.8%, Sur 52.34% Norte 45.61%, Atlántica 43.31%, Pacífico 42.34% y Central 33.8%.

Todo el análisis anterior queda comprobado al comparar los resultados del (Cuadro 2) con la Norma Nacional (Cuadros 3 y 4), con lo que, estrictamente hablando, de las 124 muestras analizadas, 123 (99.2%) están fuera de clasificación y únicamente 1 muestra puede clasificarse como tercera. Al respecto es importante mencionar que el 97.4% de las muestras sale de los parámetros de calificación

por uno o una combinación de los siguientes criterios: grano violeta, humedad y granos planos o múltiples.

El análisis individual de los criterios respecto a la Norma, que si bien es meramente ilustrativo, demuestra que los criterios que más comúnmente sacan de clasificación una muestra son, en orden decreciente de importancia, los siguientes: grano violeta (78.2%), humedad (71.1%), grano plano o múltiple (45.2%) y grano mohoso (27.4%).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. En el ámbito nacional la calidad del cacao seco en grano es alar-mantemente baja, si se compara con la Norma Nacional de calidad vigente.
2. Los factores de calidad que atentan en mayor grado contra la adecuada calidad final del cacao seco en grano son, en orden decreciente de importancia, los siguientes: grado de fermentación (granos violeta), eficiencia en el secado (humedad y granos mohosos) y selección del producto final (granos planos o múltiples).
3. La aplicabilidad de la Norma Nacional vigente es discutible, si se toma en cuenta que la realidad nacional está completamente fuera del contexto definido por ella.
4. Es posible mejorar en los factores que atentan en mayor grado contra la calidad del cacao seco en grano. Sin embargo, de lograrlo, necesariamente otros factores se volverán problemáticos, específicamente peso promedio y grano germinado (ver Zona Sur).
5. A pesar de que la situación de la calidad del cacao seco en grano producido en el país es altamente preocupante, otros factores que afectan en la actualidad al sector cacaotero nacional deben ser solucionados, si se desea que los esfuerzos tendientes a mejorar la calidad tengan el efecto deseado.
6. Es recomendable que estudios como este sistematicen el muestreo en concordancia con las características del cultivo (distribución por zonas y distribución temporal).
7. Es importante incluir dentro de la información de la muestra aquellos aspectos que podrían haber determinado la calidad por evaluar, específicamente las condiciones del tratamiento poscosecha a las que fue sometida.
8. Es necesario que oficial o extraoficialmente se establezca una categorización, de acuerdo a su importancia, de los criterios usados para evaluar la calidad del cacao seco en grano.

BIBLIOGRAFIA

- A.O.A.C. 1980. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington D. C., U.S.A.
- CUBERO, E. 1990. Indicadores químicos de la calidad del grano seco de cacao *Theobroma cacao* L. y su aplicación. Tesis Lic. en Tecnología de Alimentos San José. Universidad de Costa Rica. Carrera Interdisciplinaria en Tecnología de Alimentos.
- CURTIS, D. 1987. Cacao: guía del comerciante. Centro de Comercio Internacional. Ginebra. UNCTAD/GATT. 297 p.
- GOURIEVA, K. B.; TSEREVITINOV, O. B. 1979. Method of evaluation degree of fermentation of cacao beans. U. S. S. R. Patent # 6462-54.
- HORWITZ, W. ed. 1980. Official methods of analysis. Washington, D. C.: AOAC.
- MADRIZ, J. 1987. Estudio de la fermentación del cacao en Gabetas Rohan en tres fincas de la Zona Atlántica de Costa Rica. Tesis Ingeniero Agrónomo. Turrialba. Universidad de Costa Rica. Sede del Atlántico.
- LA GACETA. 7 setiembre 1988. Número 170. Norma Oficial de Calidad para Cacao Seco en Grano, decreto # 18408-MEC. San José: Imprenta Nacional.
- OFFICE INTERNATIONAL DU CACAO ET DU CHOCOLAT. 1972. Analytical Methods of the Office International du Cacao et du Chocolat. Zurich.
- OFFICE INTERNATIONAL DU CACAO ET DU CHOCOLAT. 1973. Analytical Methods of the Office International du Cacao et du Chocolat. Zurich.
- SECRETARIA EJECUTIVA DE PLANIFICACION SECTORIAL AGROPECUARIA (SEPSA). 1988. Programa Nacional de Cacao San José. 120 p.
- SHAMSUDDIN, S.; DIMICK, P. 1986. Qualitative and quantitative measurement of cacao bean fermentation. *In* Dimich, P. Biotechnology. Pennsylvania: College of Agriculture of Pennsylvania State University.