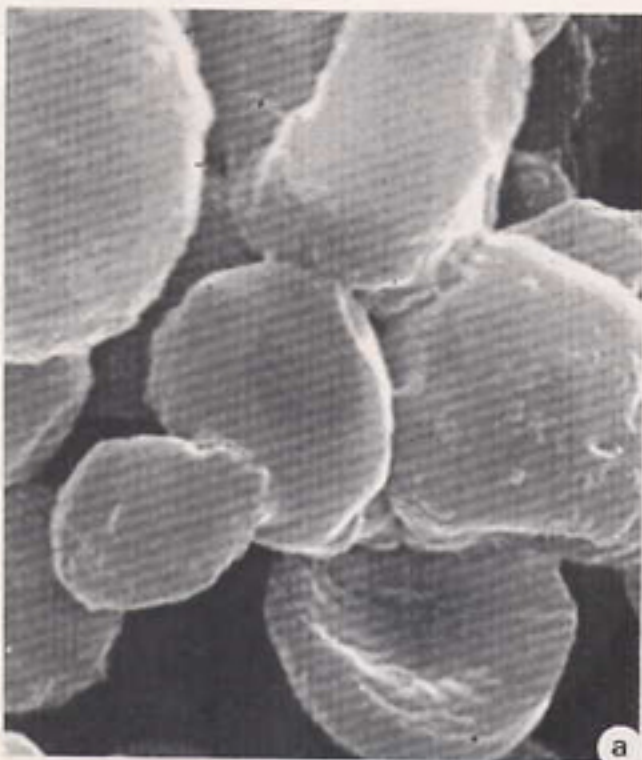


REVITECA

Revista en
Tecnología
y Ciencia
Alimentaria

Publicación Semestral del Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos * Vol. 3 No. 1-2, 1994 *

Análisis Cinético Ultraestructural de la Lipólisis de los Glóbulos Grasos Lácteos



Micrografía electrónica de barrido de glóbulos grasos lácteos

Se analizó cinética y estructuralmente la acción de la lipasa pancreática sobre la grasa de leches naturales (de vaca y humana) y homogeneizadas, mediante el estudio de los glóbulos grasos lácteos y sus membranas. Se encontró que la reacción *in vitro* de la enzima con las leches homogeneizadas fue más rápida que con las leches naturales.

Además, se observó una proporción mayor de glóbulos grasos lácteos... (ver pág. 28)

Cinéticas de deshidratación con aire caliente de zanahoria (*Daucus caroto*) en rodajas

Se realizó el estudio de las cinéticas de secado con aire caliente de rodajas de zanahoria escaldadas. Se evaluaron diferentes temperaturas (60, 70, y 80 °C), humedades absolutas del aire (12 y 55 g agua/kg aire seco) y velocidades del aire (0,5, 1,5 y 2,1 m/s). Se encontró un... (ver pág. 1)

La preservación de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) por métodos combinados

Se estudió la tecnología de factores combinados en la preservación de pulpa de guayaba. Se emplearon cuatro factores de conservación en tres niveles de aplicación cada uno, mediante un diseño factorial fraccionario 3^4 : adición de... (ver pág. 11)

El análisis de superficies de respuesta en la preservación de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) por métodos combinados en el nivel industrial

Se estudió el uso de factores combinados para preservar la pulpa de guayaba a temperatura ambiente en el nivel industrial. Con los datos de un estudio anterior en el nivel piloto, y... (ver pág. 19)

Supervivencia del *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus* en el ceviche

Se estudió la supervivencia de *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus*, en ceviche preparado con una formulación estandarizada en Costa Rica. Se inoculó el pescado troceado para... (ver pág. 38)

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

Director del CITA

Luis Fernando Arias Molina

Editor

Ricardo Quirós Castro

Consejo Editorial

Ing. Luis Fernando Arias Molina

Ing. Fernando Aguilar Villarreal

Ana Ruth Bonilla Leiva, Ph. D.

Lic. Vera García Cortes

Víctor Lobo Di Palma, M. Sc.

Juan Manuel Esquivel Kruse, M. Sc.

Diagramación

Jeanina García Ureña

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 por canje y suscripciones
Universidad de Costa Rica - Centro de
Investigaciones en Tecnología de Alimentos
REVITECA

San José - Costa Rica

Telex UNICORI 2544

Tels. 225-9885 / 224-8027 / 207-4212 / 207-4701

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

Cinéticas de deshidratación con aire caliente de zanahoria (*Daucus caroto*) en rodajas

Ana M. Rodríguez-Sibaja

Pedro Fito-Maupoe

1

La preservación de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) por métodos combinados

Floribeth Viquez-Rodríguez

11

El análisis de superficies de respuesta en la preservación de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) por métodos combinados en el nivel industrial

Floribeth Viquez-Rodríguez

Catalina García-Santamaria

19

Análisis cinético ultraestructural de la lipólisis de los glóbulos grasos lácteos

Teresita Rodríguez-Salas

Francisco Hernández-Chavarría

Julio Francisco Mata-Segreda

28

Supervivencia del *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus* en el ceviche

Priscilla Alvarado-Marengo

Vera García-Cortes

38

CINETICAS DE DESHIDRATACION CON AIRE CALIENTE DE ZANAHORIA (*Daucus caroto*) EN RODAJAS

Ana M. Rodríguez-Sibaja*; Pedro Fito-Maupoe**

ABSTRACT

HOT AIR DEHYDRATION KINETICS OF CARROT SLICES

Hot air drying kinetics of blanched carrot slices were studied using 3 different air drying temperatures (60, 70 and 80 °C), 2 absolute humidities (12 and 55 g water/kg dry air), and 3 air velocities (0,5, 1,5, and 2,5 m/s).

The best conditions found for the dehydration of carrot slices were: drying temperature 70 °C, air humidity between 12 and 55 g water/kg dry air, and 1,5 m/s minimum air velocity. At higher temperature the process rate was increased but organoleptic properties were modified.

To evaluate the effect of blanching on the quality of the dehydrated product, the optimum drying conditions determined for blanched carrots were used for unblanched ones. Blanched carrots had a more uniform and intense color than the unblanched. Also, blanching favored dehydration by increasing the drying kinetics.

RESUMEN

Se realizó el estudio de las cinéticas de secado con aire caliente de rodajas de zanahoria escaldadas. Se evaluaron diferentes temperaturas (60, 70 y 80 °C), humedades absolutas (12 y 55 g agua/kg aire seco) y velocidades del aire (0,5, 1,5 y 2,1 m/s). Se encontró un importante efecto de la temperatura en el proceso de secado: a mayores temperaturas el proceso se acelera, sin embargo la calidad sensorial se ve modificada. Las mejores condiciones para la deshidratación de zanahoria en rodajas encontradas fueron: una temperatura del aire de 70 °C, una humedad absoluta que puede oscilar entre 12 y 55 g agua/kg aire seco y una velocidad del aire, como mínimo, de 1,5 m/s.

Las mejores condiciones establecidas en el ensayo fueron utilizadas con rodajas de zanahoria sin escaldar con el fin de evaluar el efecto de este tipo de pretratamiento. Se observó una mayor uniformidad e intensidad en el color de las zanahorias que fueron escaldadas antes de la deshidratación. Se encontró, además, que el escaldado favorece la deshidratación debido a un incremento en la cinética de secado con respecto a aquellas zanahorias sin escaldar.

INTRODUCCION

La zanahoria, catalogada mundialmente como una excelente fuente de vitamina A, no tiene en Costa Rica, una estabilidad en su oferta (MAG, 1989), razón por la cual se hace necesaria su utilización en la elaboración de subproductos. Las alternativas de aprovechamiento de las zanahorias son muchas, entre ellas se puede citar su uso industrial en la elaboración de salsas, encurtidos, ensaladas, producción de vegetales mixtos y como producto deshidratado pueden usarse para la elaboración de sopas, en alimentos preparados y como alimento crudo o cocinado después de rehidratado.

* Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos - CITA. Universidad de Costa Rica. Costa Rica.

** Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. España.

En el campo de los vegetales deshidratados, la zanahoria se encuentra entre las principales hortalizas que se comercializan en el ámbito mundial (UNCTAD/GATT, 1993).

El proceso típico para la deshidratación de zanahorias se inicia con una selección de la materia prima, un lavado, pelado y troceado de las zanahorias, posteriormente se pueden aplicar diversos pretratamientos al secado, entre los que se pueden citar, el escaldado y el sulfitado y por último se realiza el proceso de secado (Van Arsdel *et al.*, 1973).

Dentro de las características más importantes que debe tener la zanahoria para deshidratar son: estar madura, tener un color intenso, uniforme y profundo, con altos contenidos de carotenos y de sólidos solubles, estar ausente de fibras, de suciedad y de daños mecánicos (Pantástico, 1975; Van Arsdel *et al.*, 1973). Las variedades que pueden ser utilizadas son la Chantenay (que tiene un color brillante e intenso y tiene muy poco corazón) así como las variedades Red Core, Nantes, Imperator, Danvers, Long Orange, Giganta y Scarla (Van Arsdel *et al.*, 1973). El lavado de las zanahorias puede realizarse con aspersores y por inmersión en agua. El pelado se puede llevar a cabo químicamente sumergiéndolas en una solución a ebullición al 5% de NaOH por un período de 2 a 4 min o se puede hacer uso del pelado con vapor directo (30 s a 100lb/plg² de presión) o mecánico (Greensmith, 1971). El troceado puede hacerse manualmente o mediante métodos mecánicos. El tamaño del trozo dependerá de su utilización posterior. Las zanahorias de diámetros grandes pueden ser utilizadas para la elaboración de cubos, y las de diámetros pequeños para rodajas (Van Arsdel *et al.*, 1973). Sin embargo, las zanahorias pueden ser deshidratadas en cubos, tiras o rodajas según sea la preferencia del consumidor. Inmediatamente después del troceado las zanahorias son escaldadas con vapor directo por períodos que oscilan entre 3 y 8 min (Van Arsdel *et al.*, 1973) o con agua a 90 °C por 3 min (Greensmith, 1971). El escaldado de las zanahorias se realiza con el fin de inactivar algunas enzimas que pueden degradar el color anaranjado (β - carotenos) durante su procesamiento (Benterud, 1976; Park, 1987), además, provoca el cocimiento parcial de los tejidos haciendo las

membranas celulares más permeables a la transferencia de humedad, lo cual incrementa la razón de secado y hace más rápido y completo el proceso de deshidratación (Van Arsdel *et al.*, 1973). La degradación de β -carotenos está asociada con el desarrollo de olores y sabores desagradables. (Baloch *et al.*, 1987) mencionan que la inmersión de las zanahorias en soluciones de sulfito en concentraciones de 0.1 a 1.0% es beneficioso para obtener una mayor estabilidad de los carotenos. Finalmente, el proceso de secado puede realizarse haciendo uso de secadores de aire caliente de manera que se obtenga una humedad final en el producto inferior o igual a 10%. Esta etapa puede realizarse a diferentes condiciones de temperatura, humedad y velocidad del aire, según sea el tipo de secador, carga de alimentación, forma y tamaño del producto (Van Arsdel *et al.*, 1973).

El objetivo principal de este trabajo fue estudiar diversas temperaturas, humedades y velocidades del aire de secado para la deshidratación con aire caliente de zanahoria en rodajas, con el fin de seleccionar las condiciones más apropiadas para su utilización por el sector industrial de Costa Rica.

MATERIALES Y METODOS

Materia Prima

Las zanahorias (*Daucus caroto*) empleadas en el desarrollo del proyecto fueron de la variedad Chantenay, provenientes de la ciudad de Tierra Blanca, provincia de Cartago, Costa Rica.

Metodología

Proceso de deshidratación

En la Figura 1 se muestra el proceso empleado en la deshidratación de las rodajas de zanahoria.

CINETICAS DE DESHIDRATACION CON AIRE CALIENTE DE ZANAHORIA (*Daucus carota*) EN RODAJAS

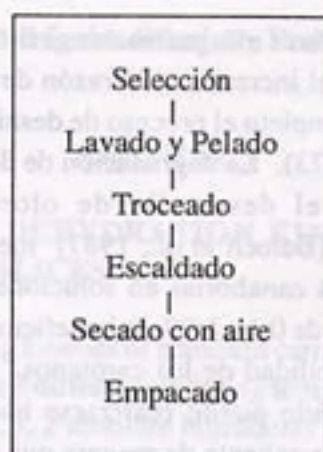


Figura 1. Diagrama de flujo para la elaboración de zanahorias en rodajas deshidratadas.

El lavado se realizó sumergiendo las zanahorias en agua a temperatura ambiente (19 °C) y eliminando manualmente las impurezas y suciedad. El pelado se realizó de forma manual y además se empleó una inmersión de las zanahorias en lejía (NaOH) al 5% a ebullición por 1,5 min. Se trabajó con zanahorias en rodajas de 0,4 cm de espesor y con un diámetro entre 3,5 y 4,0 cm. El escaldado se realizó con vapor directo durante 5 min.

Estudio del secado de zanahorias

El estudio de deshidratación de las rodajas de zanahoria comprendió la elaboración de las cinéticas de secado bajo diferentes condiciones. Se emplearon tres temperaturas de aire (60, 70 y 80 °C), dos humedades absolutas (12 y 55 g agua/kg aire seco) y una velocidad del aire de 2,5 m/s. Posteriormente, con las mejores condiciones de secado encontradas se realizaron ensayos a velocidades de aire de 0,5 y 1,5 m/s. Las cinéticas se llevaron hasta que el producto alcanzó una humedad final de 10%.

Adicionalmente, se realizaron las cinéticas de secado a 70 °C, 12 g agua/kg aire seco y 2,5 m/s de rodajas de zanahoria sin escaldar, para establecer el efecto del escaldado sobre este tipo de productos.

Para realizar el estudio se empleó el secador piloto de aire caliente con flujo perpendicular al producto

(Figura 2). La carga en la bandeja fue de 132 g aproximadamente, que equivale a una sola capa de rodajas de zanahoria.

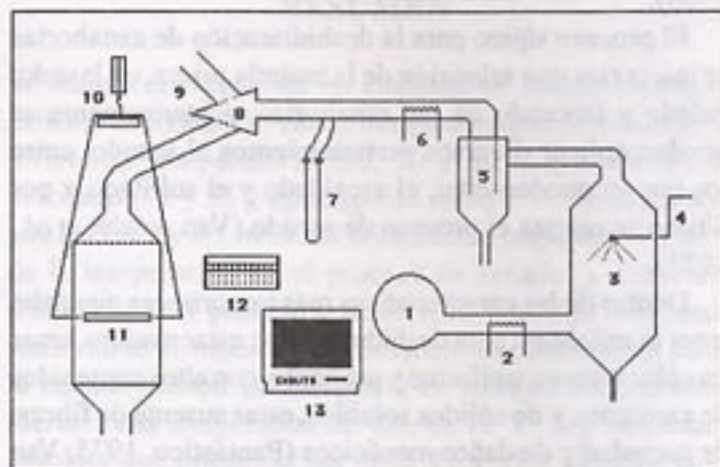


Figura 2. Diagrama del sistema piloto de secado con aire caliente.

1 ventilador centrífugo, 2 resistencia para precalentamiento del aire, 3 humidificador del aire, 4 vapor, 5 "ciclón", 6 resistencia de calentamiento del aire, 7 manómetro, 8 bifurcador, 9 desvío del aire, 10 sistema de determinación de masa, 11 celda de secado, 12 medidor de temperaturas, 13 almacenamiento de datos por computadora.

Análisis sensorial de las zanahorias deshidratadas

Las rodajas de zanahoria deshidratadas fueron analizadas sensorialmente de manera informal en cuanto al color y sabor, luego de ser rehidratadas por inmersión en agua a ebullición durante 20 min.

Análisis químicos y físicos

Los análisis físicos y químicos realizados al producto final fueron: humedad (No. 22.013 AOAC, 1980), actividad de agua (a_w) (Novasina) y color (Hunter-Lab). Dichos análisis se elaboraron por duplicado para dos corridas diferentes.

Análisis estadístico de resultados

Las cinéticas de secado de las zanahorias para cada temperatura del estudio y humedad del aire fueron analizadas estadísticamente graficando el logaritmo natural de la razón de humedad en el tiempo t sobre la humedad inicial, con respecto al tiempo ($\ln H/H_0$ vs T). Para ello se empleó la regresión lineal obtenida mediante el paquete de análisis estadísticos "Statistical Package for the Social Sciences" (SPSS).

RESULTADOS Y DISCUSION

Efecto de la temperatura del aire

En las Figuras 3 y 4 se puede observar el efecto de la temperatura en el secado de zanahorias en rodajas escaldadas secadas a una humedad de aire de 0,012 y 0,055 kg agua /kg aire seco respectivamente.

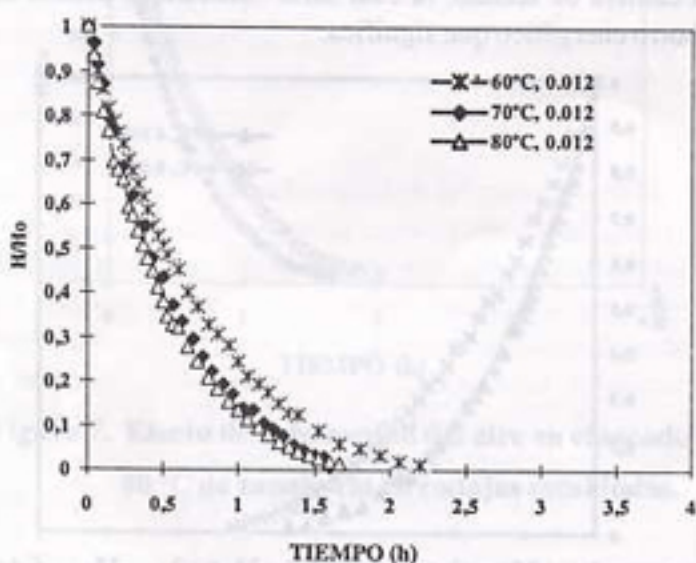


Figura 3. Efecto de la temperatura del secado de rodajas de zanahoria escaldadas bajo una humedad de aire de 0,012 kg agua /kg aire seco.

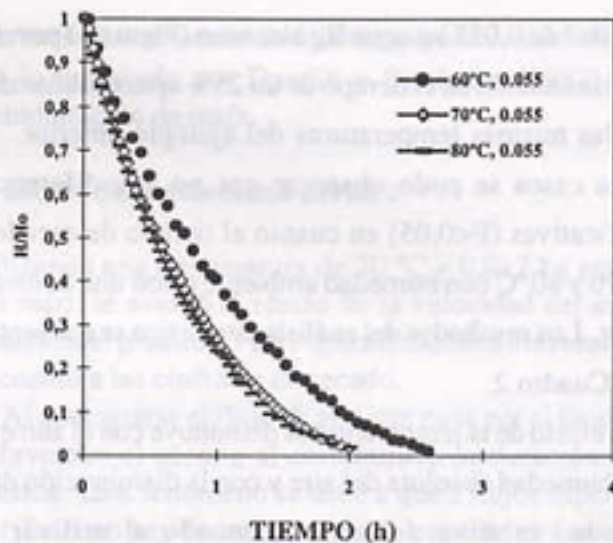


Figura 4. Efecto de la temperatura del secado de rodajas de zanahoria escaldadas bajo una humedad de aire de 0,055 kg agua /kg aire seco.

Se encontró que al aumentar la temperatura de secado se favorece la razón de pérdida de humedad para este tipo de producto. Este fenómeno ocurre porque el calor es uno de los factores de mayor importancia para que se lleve a cabo el proceso de secado, y tal y como lo describen Daudin y Bimbenet (1982), en el período donde el rango de secado es decreciente, el proceso es controlado enteramente por la difusión interna del agua (control interno del proceso) y por lo tanto, el incremento en la temperatura del aire aumenta la temperatura del producto, y como consecuencia, también se incrementa el coeficiente de difusión de agua y el rango de secado.

Con la utilización de aire en condiciones ambientales (0,012 kg agua/kg aire seco), al pasar de una temperatura de 60 a 80 °C, se emplea aproximadamente un 30% menos del tiempo total del proceso. Estadísticamente se comprobó que hay diferencias significativas ($P < 0,05$) en los procesos de secado a 60 y 70 °C. El uso de aire de secado con una

humedad de 0,055 kg agua/kg aire seco (Figura 4) provoca una disminución en el tiempo de un 25% aproximadamente para las mismas temperaturas del ejemplo anterior. En ambos casos se pudo observar que no hay diferencias significativas ($P < 0,05$) en cuanto al tiempo de secado al usar 70 y 80 °C con humedad ambiente o con una humedad mayor. Los resultados del análisis estadístico se encuentran en el Cuadro 2.

El efecto de la temperatura se disminuye con el aumento en la humedad absoluta del aire y con la disminución de la humedad relativa del aire de secado al utilizar las temperaturas mayores. Este fenómeno se ha presentado de igual forma para el caso de la deshidratación de banano según lo describen Bustamante y Kopper (1991). Con humedades absolutas relativamente altas como lo es el caso de 0,055 kg agua/kg aire seco, el aumento de la temperatura de secado de zanahorias en rodajas más allá de 70 °C no implica un ahorro significativo en el tiempo del proceso de deshidratación.

Es importante observar que tanto con la humedad ambiental en el aire de secado como con 0,055 kg agua/kg aire seco, la pérdida de agua en el producto es más acelerada en los primeros 45 min de secado, posteriormente, la razón de pérdida de agua con respecto al tiempo disminuye considerablemente hasta que tiende a ser constante. Esta disminución en la rapidez de secado comienza cuando ya no existe agua libre en la superficie del producto, y el agua ligada tiene que recorrer todo el espesor del producto para evaporarse (Bimbenet, 1984; Geankoplis, 1986). Además, la difusión del agua en el medio varía mucho con la humedad: mientras más seco se encuentre el producto, menos permeable será al agua (Bimbenet, 1984).

Efecto de la humedad del aire

El efecto de la humedad del aire para cada una de las temperaturas del estudio de secado de las zanahorias en rodajas escaldadas se puede observar claramente en las Figuras 5, 6 y 7. El empleo de la humedad en el aire de secado en términos generales retarda el proceso de deshidratación de estas hortalizas, lo que significa que la razón de pérdida de humedad es inferior, sin embargo este efecto se reduce al aumentar la temperatura, con lo cual se ve disminuida la humedad relativa del aire y por lo tanto hay mayor potencial para deshidratar. Este mismo fenómeno ha sido observado en la deshidratación de algunas frutas como papaya, mango, piña y banano por Bustamante y Kopper (1991).

Estadísticamente se detectaron diferencias significativas ($P < 0,05$) a las tres temperaturas del estudio para las zanahorias escaldadas (Cuadro 2), observándose que el empleo de la humedad en el aire de secado hace los procesos más largos; sin embargo, al ser los tiempos de secado relativamente cortos, podría permitirse la utilización de este tipo de aire y así aprovechar una posible recirculación en la cámara de secado, la cual sería beneficiosa debido al ahorro energético que significa.

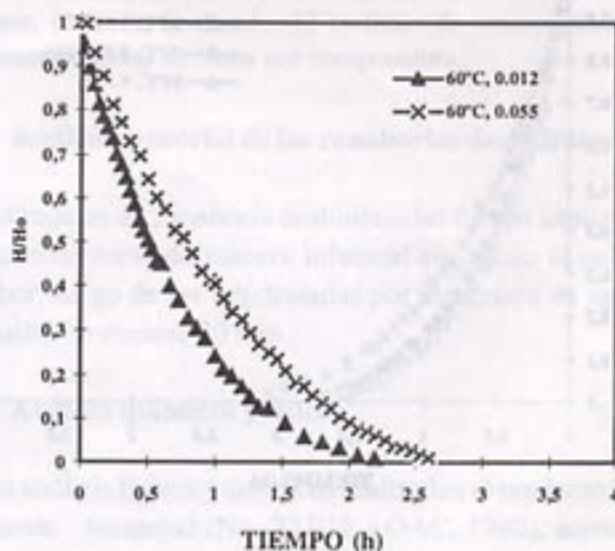


Figura 5. Efecto de la humedad del aire en el secado a 60 °C de zanahoria en rodajas escaldadas.

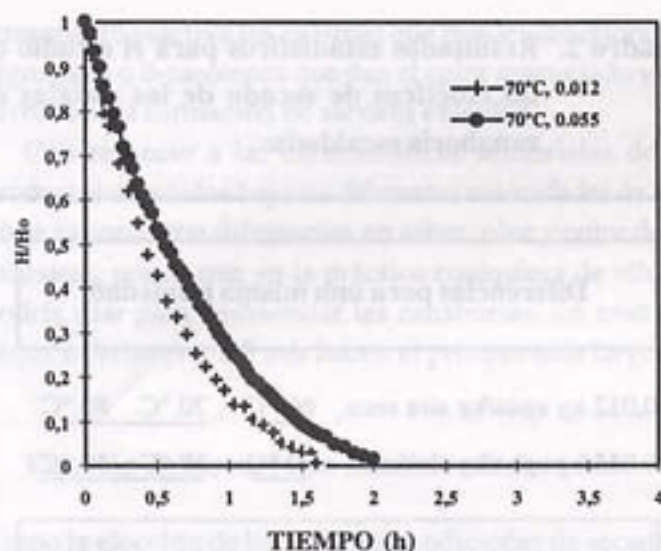


Figura 6. Efecto de la humedad del aire en el secado a 70 °C de zanahoria en rodajas escaldadas.

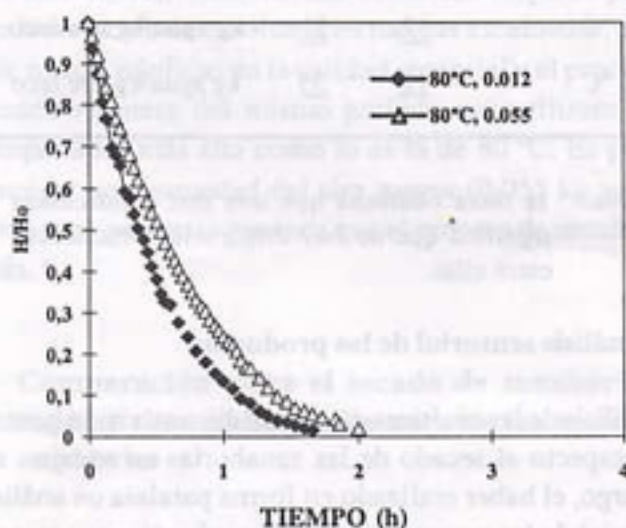


Figura 7. Efecto de la humedad del aire en el secado a 80 °C de zanahoria en rodajas escaldadas.

Al comparar el efecto de la humedad con el efecto de la temperatura del aire en el secado de las rodajas de zanahoria, es posible concluir que este último es mucho más acentuado que el primero puesto que hay mayores

diferencias con el aumento de la temperatura. Esto coincide con lo reportado por Daudin y Bimbenet (1982) en la deshidratación de maíz.

Efecto de la velocidad del aire

Utilizando una temperatura de 70 °C y 0,012 kg agua/kg aire seco, se evaluó el efecto de la velocidad del aire de secado en el producto. La Figura 8 muestra los resultados en cuanto a las cinéticas de secado.

Al aumentarse el flujo de aire que pasa por el producto, se favorece el secado al disminuirse la duración de la cinética. Este fenómeno se debe a que a flujos superiores de 1,5 m/s no hay formación de una capa de aire saturado de humedad sobre el producto y por lo tanto las resistencias externas se hacen despreciables, teniéndose una mayor difusión del agua y la deshidratación se lleva a cabo de manera más rápida (Cheftel *et al.*, 1983). Es importante notar como flujos mayores de 1,5 m/s no significan un período de secado menor, mientras que pasar de 0,5 a 1,5 m/s significa un ahorro de casi un 50% en el tiempo de secado.

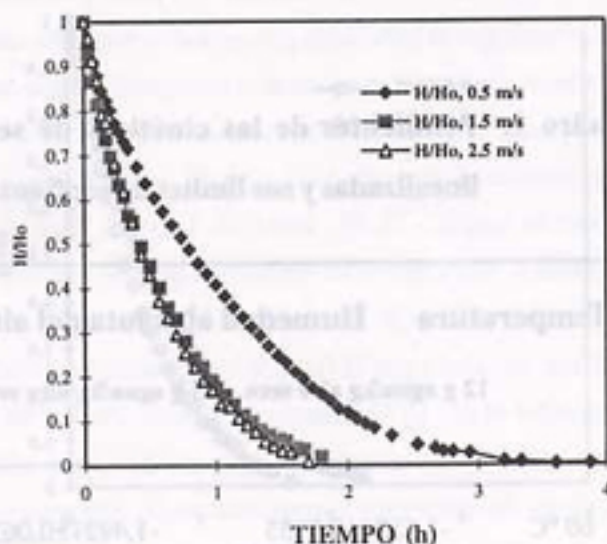


Figura 8. Efecto de la velocidad del aire en el secado de zanahorias escaldadas en rodajas secas a 70 °C y 0,012 kg agua/kg aire seco.

Análisis estadístico de las cinéticas de secado

El Cuadro 1 muestra los resultados del análisis estadístico de las cinéticas de secado para las zanahorias escaldadas en rodajas a las diferentes temperaturas y humedades del estudio. Se presentan en dicho cuadro las pendientes y los límites de variación para las cinéticas de secado linealizadas ($\ln H/H_0$ vs T). El Cuadro 2 muestra las diferencias estadísticas entre las cinéticas. Es posible observar, tal y como se mencionó anteriormente, que no existen diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las cinéticas de 70 y 80 °C para las dos humedades de aire estudiadas; asimismo, es posible resaltar que hay diferencias estadísticas si se comparan las dos humedades del aire a 70 y a 80 °C.

Cuadro 1. Pendientes de las cinéticas de secado linealizadas y sus límites de confianza.

Temperatura	Humedad absoluta del aire	
	12 g agua/kg aire seco	55 g agua/kg aire seco
60 °C	-1,5326±0,0253	-1,4921±0,0639
70 °C	-2,1587±0,0560	-1,7961±0,0499
80 °C	-2,2704±0,0539	-1,7788±0,0381

Cuadro 2. Resultados estadísticos para el estudio de las cinéticas de secado de las rodajas de zanahoria escaldadas.

Diferencias para una misma humedad			
0,012 kg agua/kg aire seco	60 °C	70 °C	80 °C
0,055 kg agua/kg aire seco	60 °C	70 °C	80 °C
Diferencias para una misma temperatura			
60 °C	12	55	kg agua/kg aire seco
70 °C	12	55	kg agua/kg aire seco
80 °C	12	55	kg agua/kg aire seco

Nota: la línea continua que une dos condiciones significa que no hay diferencias estadísticas entre ellas.

Análisis sensorial de los productos

El análisis de las cinéticas de secado dio una visión general con respecto al secado de las zanahorias en rodajas, sin embargo, el haber realizado en forma paralela un análisis sensorial de las muestras permitió profundizar en torno a las características del producto bajo las diversas condiciones de secado.

En el análisis sensorial de las zanahorias escaldadas, no se encontraron diferencias en color ni sabor para las diferentes condiciones de temperatura y una misma humedad del aire, ni para las diferentes humedades bajo una misma temperatura. Lo anterior hace concluir que el escaldado de las rodajas de zanahorias provoca una uniformidad en su color y sabor, esto por cuanto el tipo de

tratamiento inactiva las enzimas que pueden deteriorar los pigmentos o β -carotenos que dan el color anaranjado y que favorecen la formación de sabores extraños.

Con respecto a las características sensoriales de los productos obtenidos bajo las diferentes velocidades de aire, no se encontraron diferencias en sabor, olor y color de las muestras, por lo que en la práctica cualquiera de ellas se podría usar para deshidratar las zanahorias, sin embargo flujos inferiores a 1,5 m/s hacen el proceso más largo.

Elección de las mejores condiciones de secado

Como la elección de las mejores condiciones de secado de alimentos está muy ligada a la calidad de los productos y a la eficiencia de los procesos, las condiciones de 70 °C, humedad ambiental y 1,5 m/s como mínimo de velocidad del aire fueron establecidas como las mejores para la deshidratación de zanahoria en rodajas escaldadas, puesto que no hay pérdidas en la calidad sensorial y el proceso de secado requiere del mismo período que utilizando una temperatura más alta como lo es la de 80 °C. Es posible emplear una humedad del aire mayor (0,055 kg agua/kg aire seco), pero esto provoca que el proceso de secado dure más.

Comparación entre el secado de zanahorias en rodajas sin escaldar y las zanahorias en rodajas escaldadas

En la Figura 9 se muestra el efecto de la aplicación del escaldado como pretratamiento al secado de las zanahorias en rodajas para una temperatura de 70 °C. En términos generales, para este tipo y forma de producto, el escaldado disminuye el tiempo del proceso de deshidratación. Este efecto pudo deberse a que el escaldado cocina y rompe parcialmente los tejidos y suaviza las membranas celulares,

volviéndolas más permeables a la transferencia de humedad, asimismo se incrementa la razón de secado, la deshidratación es más rápida y completa y por lo general la textura mejora (Van Arsdel *et al.*, 1973). Mazza (1983) indica que la pérdida de sólidos solubles durante el escaldado incrementa la razón de secado. Además, se logró la evaporación de agua provocada por el calentamiento del proceso de escaldado y el posterior enfriamiento de las rodajas, lo cual hace pasar de una humedad inicial de 87,3% en la zanahoria fresca a una de 85,0% después del escaldado.

Es importante anotar que con el uso de humedades mayores en el aire de secado, al aumentarse la temperatura del aire del proceso, las diferencias en las cinéticas de secado de las zanahorias escaldadas y sin escaldar se hacen pequeñas en cuanto al tiempo de proceso (Figura 10).

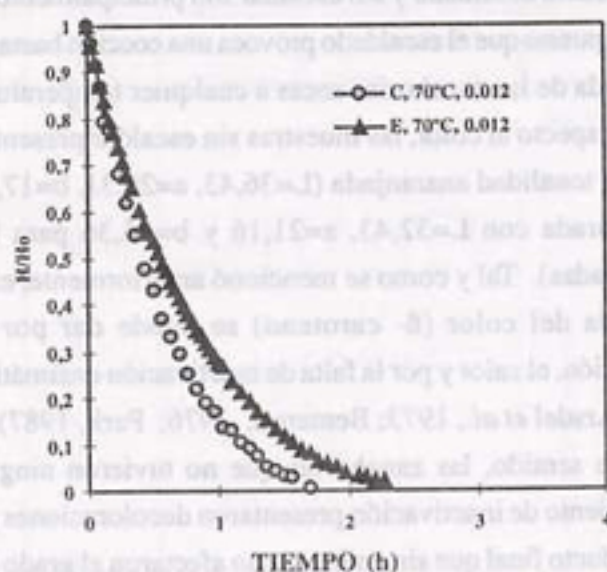


Figura 9. Efecto del escaldado en el secado de rodajas de zanahoria a 70 °C con humedad del aire de 0,012 kg agua/kg aire seco.

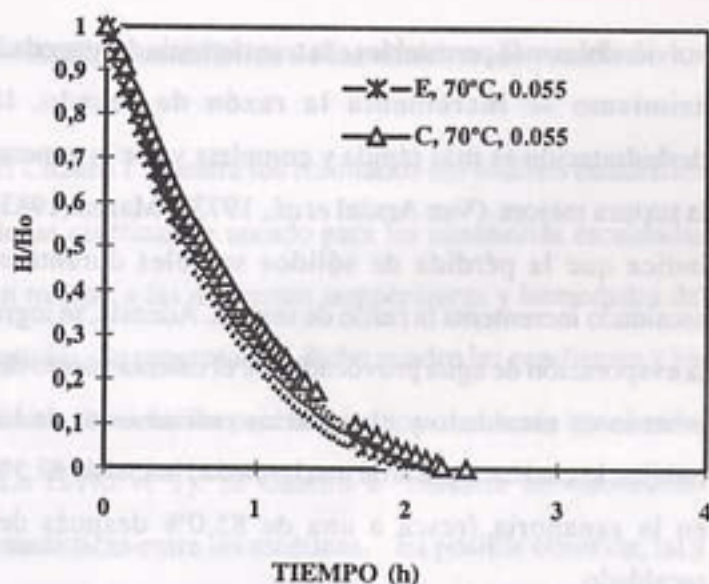


Figura 10. Efecto del escaldado en el secado de rodajas de zanahoria a 70 °C con humedad del aire de 0,055 kg agua/kg aire seco.

En el campo sensorial, las diferencias encontradas para el producto escaldado y sin escaldar son principalmente de sabor, puesto que el escaldado provoca una cocción bastante marcada de las zanahorias secas a cualquier temperatura. Con respecto al color, las muestras sin escaldar presentan menor tonalidad anaranjada ($L=36,43$, $a=20,31$, $b=17,48$ comparada con $L=32,43$, $a=21,16$ y $b=15,36$ para las escaldadas). Tal y como se mencionó anteriormente, esta pérdida del color (β -caroteno) se puede dar por la oxidación, el calor y por la falta de inactivación enzimática (Van Arsdel *et al.*, 1973; Benterud, 1976; Park, 1987), y en este sentido, las zanahorias que no tuvieron ningún tratamiento de inactivación presentaron decoloraciones en el producto final que sin embargo, no afectaron el grado de aceptación del producto final.

No existe una clara preferencia por alguno de los productos, ya sea escaldados o sin escaldar, puesto que el

no usar pretratamientos, el resultado es de zanahorias de color menos intenso (pero más fuerte que la zanahoria cruda), pero de sabor más parecido a las frescas, mientras que el escaldado tiene como resultado un producto con sabor a cocido y de color intenso. Los beneficios del escaldado durante el almacenamiento pueden ser muchos, principalmente en cuanto a conservación del color, y es por esta razón que la elección final de un proceso deberá comprender estudios posteriores de almacenamiento.

BIBLIOGRAFIA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1990. Official methods of analysis. 15 ed. Virginia. V. 2.
- BALOGH, A; BUCKLE, K & EDWARDS, R. 1987. Effect of sulphur dioxide and blanching on the stability of carotenoids of dehydrated carrot. *J. Sci. Food Agric.* 40: 179-187.
- BENTERUD, A. 1976. Vitamin losses during thermal processing s. n. t.
- BIMBENET, B. 1984. Le séchage dans les industries agricoles et agro alimentaires. *Cahiers Genue Ind. Aliment.* n. 4:3.
- BUSTAMANTE, M & KOPPER, G. 1991. Secado de frutas tropicales: piña, papaya, mango y banano. San José Universidad de Costa Rica, Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.
- COSTA RICA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA, 1989. Informes de diferentes producciones y cultivos de hortalizas y frutas en Costa Rica. San José.

CHEFTEL, J; CHEFTEL, H & BESACON, P. 1983. Introducción a la bioquímica y tecnología de alimentos. Zaragoza, Acribia.

DAUDIN, J. & BIMBENET, J. 1982. Characteristic drying curve of shelled corn and simulation of a vertical corn dryer. In: Third International Drying Symposium. Great Britain. Drying Research p. 337.

GEANKOPLIS, C. 1986. Procesos de transporte y operaciones unitarias. México DF, CECSA.

GREENSMITH, M. 1971. Practical dehydration. London. Editorial Press.

MAZZA, G. 1983. Dehydration of carrots. J. Food Tech. 18: 113.

PANTASTICO, E.R. 1975. Postharvest physiology handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables. Westport, Connecticut. AVI.

PARK, Y. 1987. Effect of freezing, thawing, drying and cooking on carotene retention in carrots, broccoli and spinach. J. Food Sci. 52(4):1022.

UNCTAD/GATT. 1993. Market study. Dehydrated vegetables. A survey of mayor markets. Geneva International Trade Centre.

VAN ARSDEL, W; COPLEY, M & MORGAN, A. 1973. Food Dehydration. Westport, Connecticut. AVI.

Tratado de Tecnología de Alimentos y Conservación

Abstract

Preservation of guava pulp (Psidium guajava L.) by combined methods

The technology of combined factors in preserving guava pulp was studied. Four different preservation factors at three levels each were tested using a 2⁴ factorial design. Addition of sugar to the guava pulp was actively used to preserve the pulp. The effect of the treatment and storage temperature. The effect of the treatment on the most important chemical and microbiological characteristics of guava pulp was studied over a six month storage period. Results revealed that thermal treatment to be the dominant factor to obtain a stable product with the adequate characteristics. Heating the pulp to 75 °C for 5 min. was the most effective of the heat treatments tried being able to preserve the pulp for 6 months at ambient temperature (25-30 °C). When the addition of sugar and preservatives was combined, the preservation duration was increased.

Tratamiento	Adición de azúcar %	Temperatura ambiente			
		1	2	3	4
1	0	100	100	100	100
2	10	100	100	100	100
3	20	100	100	100	100
4	30	100	100	100	100
5	40	100	100	100	100
6	50	100	100	100	100
7	60	100	100	100	100
8	70	100	100	100	100
9	80	100	100	100	100
10	90	100	100	100	100
11	100	100	100	100	100

LA PRESERVACION DE PULPA DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) POR METODOS COMBINADOS

Floribeth Viquez-Rodríguez *

ABSTRACT

**Preservation of guava pulp (*Psidium guajava* L.)
by combined by factors**

The technology of combined factors to preserve guava pulp was studied. Four different preserving factors at three levels each were tested using a 3^4 fractional factorial design: addition of sugar cane to lower the water activity; use of preservatives; thermal treatment and storage temperature. The effect of the treatments on the most important chemical and microbiological characteristics of guava pulp were analyzed over a six month storage period.

Results revealed thermal treatment to be the determinant factor to obtain a stable product, with the adequate characteristics. Heating the pulp to 75 °C for 5 min, was the most effective of the heat treatments tried, being able to preserve the pulp up to 6 months at ambient temperature (20-22 °C). Neither the addition of sugar nor preservatives was essential for pulp preservation during the time studied.

RESUMEN

Se estudió la tecnología de factores combinados en la preservación de pulpa de guayaba. Se emplearon cuatro factores de conservación en tres niveles de aplicación cada uno, mediante un diseño factorial fraccionario 3^4 : adición de azúcar de caña con la consecuente disminución de la actividad de agua (a_w); uso de preservantes; tratamiento térmico de la pulpa y temperatura de almacenamiento. Se analizó el efecto de los tratamientos sobre el comportamiento de las principales características químicas y microbiológicas de la pulpa, durante un período de almacenamiento de 6 meses.

Se encontró que el tratamiento térmico es el factor determinante para obtener un producto estable, con las características adecuadas. El calentamiento de la pulpa a 75 °C por 5 min resultó ser el tratamiento térmico más adecuado para su preservación durante 6 meses a temperatura ambiente (20-22 °C). La adición de azúcar y preservantes no resultó imprescindible para mantener la pulpa durante el período estudiado.

INTRODUCCION

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es una de las frutas tropicales más utilizadas por la industria alimentaria de Centroamérica y el Caribe. Se emplea principalmente en la producción de pastas dulces o bocadillos, mermeladas, néctares, rellenos para repostería y en los últimos años ha cobrado importancia la producción de pulpas para el uso doméstico e institucional.

En Costa Rica, como en la mayoría de los países vecinos, casi la totalidad de la fruta proviene de plantaciones dispersas y espontáneas. La falta de control en la cosecha y su transporte, unido a su elevada susceptibilidad al deterioro y a su condición de fruta estacional, obligan a su pronta transformación en pulpa que se almacena para garantizar un suministro regular durante todo el año. La

mayoría de las industrias emplean tratamientos empíricos de pasteurización, con adición posterior de preservantes químicos y almacenamiento a temperatura ambiente. Tales prácticas ocasionan pérdidas cercanas al 10% del producto almacenado (Velázquez & Flores 1993).

En el presente trabajo se estudió el empleo de varios factores de estrés con el propósito de obtener un producto estable por períodos prolongados.

MATERIALES Y METODOS

Materia prima

Se empleó guayaba procedente de las zonas de Guápiles y Turrúcares de Costa Rica, que consiste en una mezcla de tres variedades conocidas localmente como: "rosada", "blanca" y "amarilla". Se determinó la composición de la materia prima en cuanto a: humedad, °Brix, pH, acidez, ceniza, grasa, proteína y fibra cruda siguiendo los métodos de la "Association of Official Analytical Chemists" (AOAC, 1990), y azúcares reductores y totales por el método Nelson Somogy (Southgate, 1976). El contenido de pectina, mediante el método indicado en el Manual de Análisis de Alimentos (Lees, 1969). El color se hizo por medición de la absorbancia a 440 nm, utilizando un espectrofotómetro UV-Visible, Shimadzu UV-240 y el contenido en vitamina C utilizando el método descrito por Cox y Pearson (1962). La condición microbiológica se estudió en cuanto a recuento total y recuento de hongos y levaduras, por los métodos de la Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (ICMSF, 1978).

Obtención de la pulpa

La fruta se seleccionó y se lavó con agua fría a presión. Posteriormente se pasó a través de un molino despulpador con malla de 0,045 pulgadas. La pulpa así obtenida, se corrigió con ácido cítrico a un valor de pH de $3,5 \pm 0,1$. Se ajustaron los otros componentes (azúcar y preservantes) de acuerdo con los tratamientos en proceso. La pulpa resultante se empacó en bolsas de polietileno de alta densidad de 2,0 kg y se almacenó por 6 meses a las diferentes temperaturas ensayadas.

Tratamientos y diseño experimental

Se utilizó un diseño factorial fraccionario 3⁴ con 9 tratamientos por duplicado:

Tratamiento No.	Adición de azúcar %	Adición de Preservantes (%)	Tratamiento Térmico (°C-5 min)	Temperatura de Almacenamiento (°C)
1	0	0	-	32
2	0	0	75	5
3	0	0	85	20-22*
4	15	BS**	-	20-22
5	15	BS	75	32
6	15	BS	85	5
7	30	BS-SP***	-	5
8	30	BS-SP	75	20-22
9	30	BS-SP	85	32

* 20-22°C= Temperatura ambiente.

** 0,05% Benzoato de sodio.

*** 0,05% Benzoato de sodio y 0,05 Sorbato de potasio.

LA PRESERVACION DE PULPA DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) POR METODOS COMBINADOS

Análisis estadístico de los datos

Para el análisis estadístico de la información se utilizó el Paquete Estadístico para Ciencias Sociales, SPSS (Box & Draper, 1987). Los procedimientos utilizados fueron los de análisis de regresión y de varianza.

Análisis realizados a las pulpas almacenadas

Las pulpas almacenadas fueron analizadas en forma periódica durante 6 meses. Para la humedad, °Brix, pH, acidez, ceniza, grasa, proteína, azúcares reductores y totales y contenido de pectina, se utilizaron los métodos ya mencionados para el análisis de la materia prima. El color se determinó por medición de la absorbancia a 440 nm, utilizando un espectrofotómetro UV-Visible, Shimadzu UV-240 y el contenido en vitamina C utilizando el método descrito por Cox y Pearson (1962); la actividad de agua de la pulpa se midió con un hidrómetro Novasina Thermoconstanter, y el a_w de las pulpas con 15% y 30% de azúcar adicionada se calculó teóricamente, utilizando las ecuaciones de Ross (1975), Chirife (1978), Norrish (1966) y Sloan y Labuza, (1976). Se realizó a las pulpas recuentos total y de hongos y levaduras, por los métodos de la ICMSF (1978).

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se detallan las características determinadas a la fruta utilizada en el estudio.

Cuadro 1. Características composicionales de la fruta

Característica	%
Humedad	82,2
Proteína	0,8
Pectina	1,1
Fibra	7,2
Grasa	0,7
Ceniza	0,5
Azúcares totales	4,0
Azúcares reductores	2,4
pH	3,8
°Brix	8,2
Acidez (ácido cítrico)	0,8
Vitamina C, mg/100 g	67,0
Color, ab. 440 nm	0,155

Las combinaciones de factores utilizadas en los tratamientos 2, 3, 5, 6, 8 y 9, resultaron adecuadas para la preservación de la pulpa de guayaba. Los valores determinados en el recuento total de bacterias y en el de hongos y levaduras durante el período de 6 meses de almacenamiento, fueron aceptablemente bajos (Cuadro 2).

El porcentaje de humedad de los diferentes tratamientos no varió con respecto al tiempo (Cuadro 3), las diferencias entre ellos las determinó la adición de azúcar y el tratamiento térmico.

El valor de pH varía inversamente (Cuadro 4) y los grados Brix y la acidez, en forma proporcional (Cuadros 5 y 6) con el porcentaje de azúcar adicionada. El valor de los grados Brix y de la acidez no varían con el tiempo de almacenamiento.

Cuadro 2. Recuento microbiano* de las pulpas según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Análisis	Tiempo de almacenamiento (días)									
		0	8	15	22	30	60	90	118	146	181
1	R T	6,72 **	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	H L	>6,48 **	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2	R T	2,20	---	1,60	1,70	1,70	1,70	---	5,74	1,30	1,78
	H L	2,30	---	<1,00	<1,00	1,00	<1,00	---	3,73	<1,00	3,32
3	R T	<1,00	1,84	1,00	1,48	1,00	<1,00	---	<1,00	2,30	1,00
	H L	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	1,00	<1,00	---	1,84	<1,0	2,08
4	R T	6,18 **	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	H L	7,15 **	---	---	---	---	---	---	---	---	---
5	R T	1,30	1,48	---	---	---	<1,0	---	1,00	---	---
	H L	<1,00	<1,00	---	---	---	1,43	---	<1,00	---	---
6	R T	<1,00	---	---	---	<1,0	<1,0	---	<1,00	2,04	---
	H L	<1,00	---	---	---	1,43	<1,0	---	1,00	<1,0	---
7	R T	5,49	---	2,20	---	2,46	---	---	2,23	2,32	---
	H L	7,00	---	4,08	---	3,57	---	---	2,18	2,40	---
8	R T	1,60	---	1,48	---	1,84	---	---	1,30	1,00	---
	H L	<1,00	---	1,30	---	<1,00	---	---	<1,00	4,52	---
9	R T	1,00	---	1,00	---	1,00	---	1,60	1,48	1,00	---
	H L	1,00	---	<1,00	---	<1,00	---	1,00	2,57	<1,00	---

R T: Recuento total de bacterias UFC/g

H L: Recuento de hongos y levaduras UFC/g

*: Log 10

**: Recuentos inaceptables

Cuadro 3. % de humedad de las pulpas según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días					
	0	30	60	118	146	181
1	87,6	-	-	-	-	-
2	86,7	86,8	87,3	86,9	87,3	87,7
3	87,3	-	88,1	87,0	88,5	87,5
4	76,5	-	-	-	-	-
5	74,3	74,6	74,5	74,2	75,1	74,1
6	73,3	74,7	74,5	74,5	75,2	74,0
7	65,8	64,7	-	65,2	65,4	63,7
8	65,1	63,9	-	63,5	64,7	62,4
9	63,3	70,7	-	62,5	62,6	60,7

Cuadro 4. pH de las pulpas según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días					
	0	30	60	118	146	181
1	3,65	-	-	-	-	-
2	3,65	3,59	3,66	3,64	3,63	3,46
3	3,65	-	3,56	3,64	3,63	3,42
4	3,65	-	-	-	-	-
5	3,44	3,41	3,44	3,40	3,40	3,41
6	3,49	3,37	3,40	3,37	3,35	3,52
7	3,33	3,18	-	3,18	3,26	3,34
8	3,24	3,24	-	3,25	3,29	3,36
9	3,20	3,21	-	3,16	3,25	3,27

Cuadro 5. °Brix de las pulpas según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días					
	0	30	60	118	146	181
1	7,0	-	-	-	-	-
2	9,0	9,0	9,5	9,0	9,0	8,0
3	9,0	-	8,5	9,0	8,0	8,0
4	20,5	-	-	-	-	-
5	22,0	22,0	22,0	22,0	21,5	21,5
6	22,5	21,0	21,0	23,0	22,0	21,0
7	32,0	32,0	-	32,5	32,5	32,0
8	33,0	34,0	-	33,0	32,5	33,0
9	34,0	33,5	-	35,0	35,5	35,0

Cuadro 6. Acidez (% ácido cítrico) de las pulpas según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días					
	0	30	60	118	146	181
1	1,6	-	-	-	-	-
2	1,3	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0
3	1,1	0,8	-	1,0	1,0	1,0
4	0,8	-	-	-	-	-
5	0,9	0,8	0,9	0,9	0,9	1,1
6	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0
7	1,5	1,3	-	1,5	1,5	1,5
8	1,5	1,4	-	1,4	1,5	1,7
9	1,6	0,8	-	1,5	1,6	1,6

Cuadro 7. Vit. C (mg/100) de las pulpas según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días					
	0	30	60	118	146	181
1	65	-	-	-	-	-
2	60	12	36	0	0	0
3	62	-	12	0	0	0
4	65	-	-	-	-	-
5	59	-	23	0	0	0
6	67	26	17	0	0	0
7	45	35	-	2,8	2,7	5,0
8	40	15	-	0	0	0,2
9	41	12	-	0	0	0

El efecto de los diferentes tratamientos sobre las principales características químicas y microbiológicas estudiadas durante el período de almacenamiento de las pulpas, se puede apreciar en las Figuras 1 a 4.

El porcentaje de azúcar adicionado, el tratamiento térmico y la presencia de benzoato de sodio, son los factores que más inciden sobre el porcentaje de humedad de las pulpas. Lógicamente el azúcar lo es en el caso de los grados Brix (Figura 1).

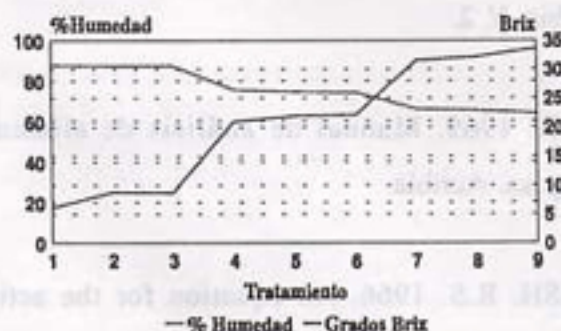


Figura 1. Porcentaje de humedad y grados Brix de las pulpas según tratamiento

Mediante estadística se comprobó que la característica más afectada es el valor de la vitamina C, esta se deteriora con el tiempo de almacenamiento en todos los tratamientos, aunque en menor grado en las combinaciones 1 y 4 que no tienen tratamiento térmico (Figura 2).

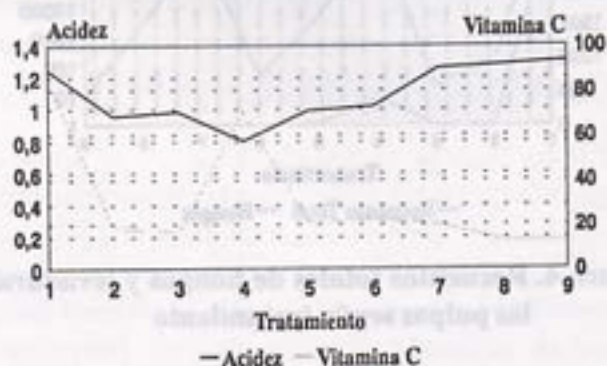


Figura 2. Acidez y vitamina C de las pulpas según tratamiento

La absorbancia a 440 nm muestra que un mayor tiempo de almacenamiento y el uso de benzoato de sodio tienden a oscurecer la pulpa con lo que se obtiene un menor índice de color (Figura 3).

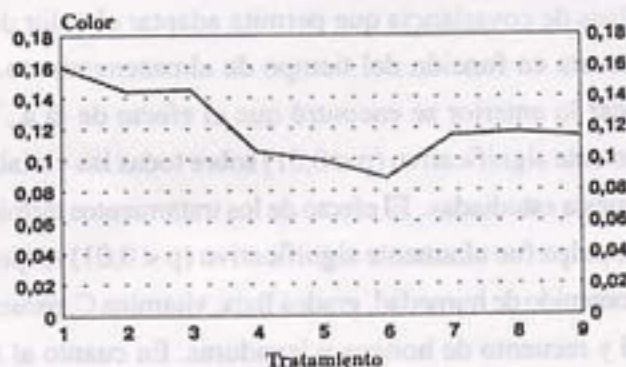


Figura 3. Color de las pulpas según tratamiento.

En la Figura 4 se aprecia que el recuento total de bacterias mesófilas aerobias es menor conforme aumentan el porcentaje de azúcar adicionado, el tratamiento térmico de la pulpa y se disminuye la temperatura de almacenamiento.

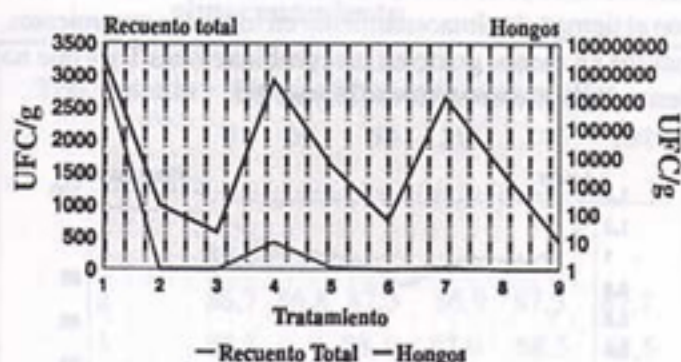


Figura 4. Recuentos totales de hongos y levaduras de las pulpas según tratamiento

Las pulpas obtenidas mediante los tratamientos 1, 4 y 7 muestran mayor susceptibilidad al deterioro, con recuentos microbianos más elevados, debido a que no incluyen tratamiento térmico.

El tiempo de vida de un producto no puede ser controlado por el investigador, pero puede ser registrado al mismo tiempo que se determina la respuesta. Para ello se aplica el análisis de covariancia que permite adaptar el valor de la respuesta en función del tiempo de almacenamiento. Al aplicar lo anterior se encontró que el efecto de la a_w fue altamente significativo ($p < 0,01$) sobre todas las variables respuesta estudiadas. El efecto de los tratamientos térmicos de la pulpa fue altamente significativo ($p < 0,01$) respecto a: contenido de humedad, grados Brix, vitamina C, recuento total y recuento de hongos y levaduras. En cuanto al uso de preservantes, se encontró un efecto altamente significativo ($p < 0,01$) para todas las variables estudiadas. El tiempo de almacenamiento no tuvo efecto significativo respecto a los valores de pH, sin embargo fue altamente significativo ($p < 0,01$) para la degradación de la vitamina C.

BIBLIOGRAFIA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1990. Official methods of analysis. 15 ed. Virginia. V. 2.
- BOX, G. E. P & DRAPER, N. R. 1987. EMPIRICAL Model building and response surfaces. New York, John Wiley.
- CHIRIFE, J. 1878. Prediction of water activity in intermediate moisture foods. Food Technol. 29(3): 26.
- COX, H.E. & PEARSON, D. 1962. The chemical analysis of foods. New York, Chemical Publishing.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. 1978. Microorganismos de los alimentos. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Zaragoza, Acribia. V. 2.
- LEES, R. 1969. Manual de análisis de alimentos. Zaragoza. Acribia.
- NORRISH, R.S. 1966. An equation for the activity coefficient and equilibrium relative humidities of water in confectionary syrups. J. Food Technol. 1:25.

EL ANALISIS DE SUPERFICIES DE RESPUESTA EN LA PRESERVACION DE PULPA DE GUAYABA (Psidium guajava L.) POR METODOS COMBINADOS EN EL NIVEL INDUSTRIAL

ROSS, K.D. 1975. Estimation of water activity in intermediate moisture foods. J. Food Technol. 29(3):26.

SLOAN, A.E. & LABUZA, T.P. 1976. Prediction of water activity lowering ability of food humectants at high a_w . J. Food Sci. 41(3):532.

SOUTHGATE, D.A.T. 1976. Determination of food carbohydrates. London, Applied Science.

VELAZQUEZ, C. & FLORES, W. 1993. Aprovechamiento efectivo de pulpas de frutas tropicales. San José. Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica.

EL ANALISIS DE SUPERFICIES DE RESPUESTA EN LA PRESERVACION DE PULPA DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) POR METODOS COMBINADOS EN EL NIVEL INDUSTRIAL

Floribeth Viquez-Rodríguez*; Catalina García-Santamaria**

ABSTRACT

Surface response analyses in guava pulp (*Psidium guajava* L.) preservation by combined factors at industrial level

The technology of combined factors to preserve guava pulp at room temperature in the industrial level was studied. Based on data obtained in a previous pilot plant study, mathematical models were formulated to explain the variability of each factor and its influence on pulp stability. From these models, four treatments were selected for the industry trials.

The values obtained agreed with those projected through the models for most of the characteristics, but were significantly different for color and vitamin C.

Through the application of surface response technique, the effectiveness of the combined factors method to preserve guava pulp in bulk at room temperature was confirmed with minimum risk.

RESUMEN

Se estudió el uso de factores combinados para preservar la pulpa de guayaba a temperatura ambiente en el nivel industrial. Con los datos de un estudio anterior en el nivel piloto, y mediante el análisis de regresión, se construyeron los modelos matemáticos que explican la variabilidad de cada factor y su influencia sobre la estabilidad de la pulpa de guayaba. A partir de los modelos matemáticos, se eligieron cuatro tratamientos para ser ensayados en la industria.

Los valores obtenidos concuerdan con los proyectados a través de los modelos, para la mayor parte de las características estudiadas y sólo fueron significativamente diferentes para el color y la vitamina C.

Mediante la aplicación del análisis de superficies de respuesta se pudo confirmar, con el mínimo riesgo, la eficacia del método de factores combinados para preservar pulpa de guayaba a granel a temperatura ambiente.

INTRODUCCION

La industrialización de la guayaba (*Psidium guajava* L.) es muy conocida y se ha expandido en Costa Rica y los países vecinos. Dado que gran parte de la materia prima proviene de cultivos estacionales espontáneos y no organizados, la mayoría de las empresas se ven obligadas a aprovechar los picos de alto suministro para almacenar pulpas que aseguren la actividad productiva durante todo el año.

En forma tradicional, los métodos de almacenamiento de esas pulpas emplean técnicas bastante empíricas y faltas de control, que no solo deterioran las características del fruto, sino que se traducen en pérdidas significativas para el industrial.

Varios de estos países han hecho estudios (Granados, 1980; Vargas 1983, 1984) sobre la aplicación del método de conservación por factores combinados, cuyos resultados exitosos pueden ser de gran importancia para la agroindustria de la guayaba y de otras frutas similares. Dado que la mayoría de estos estudios se plantean en el

* Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.
Programa Cooperativo UCR-MAG.

** Universidad de Costa Rica.

plano piloto o de laboratorio, y los estudios de confirmación en el nivel industrial implican un alto riesgo económico, es muy importante tratar de derivar un modelo determinístico de comportamiento.

El objetivo de este estudio es confirmar en el ámbito industrial, las recomendaciones derivadas de un ensayo en el nivel piloto, en el que se determinaron los factores de conservación de la pulpa de guayaba en el almacenamiento a 6 meses (Viquez, 1994).

A fin de predecir el efecto de los factores sobre la estabilidad de la pulpa, se tomaron los datos del estudio anterior para construir los modelos matemáticos que explican la variabilidad de las respuestas y su influencia sobre las características de interés. Lo anterior permitió el escalamiento en el campo de la industria con un mínimo de riesgo para el industrial.

MATERIALES Y METODOS

Derivación de los modelos matemáticos

Para la derivación de los modelos matemáticos se utilizaron los datos del estudio anterior en el nivel piloto (Viquez, 1994).

Para ajustar en una ecuación las relaciones que existen entre las variables dependientes y los factores combinados utilizados, se aplicó el método de mínimos cuadrados. Las variables independientes se utilizaron en sus niveles originales, esto es, sin recodificar. Otras de las variables respuesta fueron transformadas con el propósito de satisfacer los requisitos teóricos de los modelos. Estas transformaciones fueron del tipo $y=y^{\alpha}$. En algunos casos fue del tipo $a < 1$, lo que causa una contracción de los valores más altos, y en otros $a > 1$, que tiene el efecto contrario. La transformación seleccionada en cada caso fue estimada de los datos mismos utilizando la función de verosimilitud (método de Box & Draper, 1987). Con este método, se logra estabilizar la variancia de la respuesta en cada tratamiento, una distribución aproximadamente normal de los residuos y una expresión final de la ecuación que, en términos de la variable transformada, sea lo más simple posible.

Selección de los tratamientos

Al utilizar la proyección de los modelos matemáticos para las características químicas y microbiológicas más importantes, se escogieron cuatro combinaciones de los factores para ser probados en la industria.

Tratamiento	Adición de azúcar	a_w	Adición de Benzoato
Nº	%		%
1	0	0.98	0.05
2	15	0.96	0.05
3	15	0.96	0.05
4	0	0.98	0

En todos los casos se aplicó una temperatura de proceso de 75 °C durante 5 min, y las pulpas resultantes fueron almacenadas a temperatura ambiente por un período de 165 días para determinar su vida útil. Para tal fin se utilizaron los métodos del "Association of Official Analytical Chemists" (AOAC, 1990) para determinar el porcentaje de humedad, °Brix, pH y acidez. El color se determinó por medición de la absorbancia a 440 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible, Shimadzu UV-240 y un colorímetro Hunter Lab. La vitamina C se determina siguiendo el método descrito por Cox & Pearson (1962). Los recuentos totales de bacterias mesófilas, de hongos y levaduras y de coliformes, se determinan utilizando los métodos de la ICMSF (1978).

Materia prima y proceso

Los ensayos industriales se realizaron en la empresa La Tricopilia S.A. Se prepararon alrededor de 200 kg de pulpa por tratamiento, con guayaba procedente de las zonas de Guápiles y Siquirres de Costa Rica.

El proceso de obtención de la pulpa siguió las siguientes etapas: selección, lavado con chorros de agua fría,

EL ANALISIS DE SUPERFICIES DE RESPUESTA EN LA PRESERVACION DE PULPA DE GUAYABA (*Fridium guajava* L.) POR METODOS COMBINADOS EN EL NIVEL INDUSTRIAL

despulpado (utilizando un molino despulpador con una malla de 0,045 plg). La pulpa resultante se llevó hasta un valor de pH de 3,5 con la adición de ácido cítrico. Según el tratamiento se adicionó azúcar y benzoato de sodio. En todos los casos se aplicó un tratamiento térmico de 75 °C por 5 min y envasó en caliente en recipientes plásticos de 25 kg de capacidad.

Indicadores técnico-económicos

Con el propósito de dar una idea al industrial sobre los costos de aplicación de los cuatro tratamientos seleccionados y probados en la empresa, se cuantificaron los valores de la materia prima, el azúcar y el benzoato de sodio utilizados en el ensayo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Modelos predictivos

Para predecir la vida útil de los tratamientos bajo ensayo en el plano industrial, se derivaron los modelos matemáticos que explican la variabilidad de cada factor y su influencia sobre la estabilidad de la pulpa de guayaba. De ésta forma, al sustituir en la ecuación el factor y el nivel al que se usa, se puede calcular en forma teórica la respuesta para esa característica y determinar con el mínimo de riesgo para el industrial, su comportamiento en el almacenamiento.

En las fórmulas derivadas, Díaz (1974) se refiere al tiempo de almacenamiento en días: x_1 al porcentaje de adición de azúcar de caña; x_2 a la temperatura del tratamiento térmico y x_4 a la temperatura de almacenamiento. La variable benzoato de sodio (Pres1) se encuentra recodificada y adquiere un valor de uno cuando se usa y de cero cuando no se usa.

A continuación se presentan las ecuaciones estimadas para cada una de las variables respuesta. Entre paréntesis se incluyen los errores estándar de los coeficientes estimados.

- Humedad (Y_1)

El porcentaje de humedad debió ser transformado para ampliar su rango de variación. La nueva variable respuesta es la cuarta potencia de la humedad original. La ecuación estimada fue la siguiente:

$$Y_1^4 = 6,0 \times 10^7 + 551,0 \text{ Días} + 1,4 \times 10^6 X_1 - 2,3 \times 10^4 X_2 - 6,9 \times 10^6 \text{ Pres1} +$$

(512613) (2638) (13922) (5791) (353066)

$$3,5 \times 10^3 X_4$$

(14991)

Esta ecuación explica en un 99,4% la variabilidad de los datos de humedad. Como puede apreciarse los factores que aportan un componente significativo son: el porcentaje de azúcar añadido, el tratamiento térmico y la presencia de benzoato. El aumento en el nivel de alguno de estos factores tiene un efecto negativo sobre el porcentaje de humedad.

- pH (Y_2)

La relación entre los valores observados máximo y mínimo es muy pequeña, ya que se produce un intervalo de confianza muy amplio para la potencia estimada, lo que significa que una transformación de la variable hace poca diferencia para un mejor ajuste del modelo.

La ecuación estimada explica en un 62% la variabilidad de los datos de pH.

$$Y_2 = 3,56 + 1,8 \times 10^{-5} \text{ Días} + 0,0081 X_1 + 1,1 \times 10^{-4} X_2 + 0,02 \text{ Pres1}$$

(0,03) (0,0001) (0,0008) (0,0003) (0,02)

$$-2,6 \times 10^{-4} X_4$$

(0,0008)

El efecto más importante sobre el pH, es el del porcentaje de azúcar añadido, conforme éste aumenta, se reduce el nivel de la respuesta.

- Vitamina C (Y3)

La transformación sugerida es el logaritmo natural, lo que permite contraer la escala de los valores observados. El modelo explica en un 84% la variabilidad de la respuesta, y en especial, es notable el efecto del tiempo de almacenamiento y el tratamiento térmico, los que al aumentar, inducen una reducción en el grado de la vitamina C en el producto.

$$\begin{aligned} \text{LN}(Y_3) = & 4,6 - 0,026 \text{ Días} - 0,013 X_1 - 0,006 X_2 + 0,2 \text{ Pres1} \\ & (0,3) \quad (0,002) \quad (0,008) \quad (0,002) \quad (0,2) \\ & - 0,003 X_4 \\ & (0,008) \end{aligned}$$

- Grados Brix (Y4)

El modelo explica en un 98% la variabilidad en los datos de grados Brix. El análisis de los residuos, en este caso, no proyectó la necesidad de transformar la variable original.

$$\begin{aligned} Y_4 = & 7,1 - 1,1 \times 10^{-4} \text{ Días} + 0,813 X_1 + 0,021 X_2 + 1,3 \text{ Pres1} \\ & - 0,006 X_4 \\ & (0,01) \end{aligned}$$

El porcentaje de azúcar añadido, la presencia de benzoato y el tratamiento térmico tienen un efecto positivo significativo sobre los grados Brix.

- Color (abs. a 440 nm) (Y5)

La variabilidad en esta característica pudo ser explicada por el modelo desarrollado, tan sólo en un 31%. La presencia de benzoato y un mayor tiempo de almacenamiento reducen el índice de color.

$$\begin{aligned} Y_5 = & 0,15 - 2,0 \times 10^{-4} \text{ Días} + 1,5 \times 10^{-4} X_2 - 0,040 \text{ Pres1} \\ & (0,01) \quad (0,00002) \quad (0,0001) \quad (0,009) \\ & - 0,015 \text{ Pres2} - 8,6 \times 10^{-5} X_4 \\ & (0,009) \quad (0,0003) \end{aligned}$$

- Acidez (Y6)

La ecuación obtenida para el porcentaje de acidez, requirió la transformación de la respuesta original a su inversa, y explica alrededor de un 42% la variabilidad de los datos para la acidez.

El aumento en el tiempo de almacenamiento y la presencia de benzoato tienen un efecto negativo significativo sobre la acidez. El azúcar tiende a aumentar el porcentaje de acidez.

$$\begin{aligned} Y_6^{-1} = & 1,12 - 7,3 \times 10^{-4} \text{ Días} - 0,008 X_1 - 5,0 \times 10^{-4} X_2 \\ & (0,05) \quad (0,0003) \quad (0,001) \\ & (0,0006) \\ & + 0,11 \text{ Pres1} + 6,5 \times 10^{-4} X_4 \end{aligned}$$

- Recuento total (Y7)

La transformación más adecuada para datos de índole microbiológica es la del logaritmo base 10. La tasa de crecimiento en el recuento total de bacterias disminuye conforme aumentan el porcentaje de azúcar y el tratamiento

térmico y conforme disminuye la temperatura de almacenamiento. El producto con menor carga microbiana tiene un tiempo de almacenamiento mayor. La adición de preservante no produce una diferencia significativa. Este modelo explica en un 70% la variabilidad de la respuesta.

Estudio de Vida Util en la Industria

$$\text{LOG}(Y_7) = 4,2 - 0,004 \text{ Días} - 0,025 X_1 - 0,035 X_2 + 0,2 \text{ Presl} \\ (0,2) \quad (0,001) \quad (0,006) \quad (0,003) \quad (0,2) \\ + 0,022 X_4 \\ (0,007)$$

En los Cuadros 1 al 7 se observan los resultados de las características químicas de la pulpa de guayaba durante el almacenamiento en el nivel de industria.

El porcentaje de humedad, los °Brix, el pH y la acidez no varían con respecto al tiempo pero sí entre tratamientos, debido a las diferencias en los grados de adición de azúcar: a mayor porcentaje de azúcar, menor porcentaje de humedad y de pH y mayor °Brix (Cuadros 1 al 4).

Cuadro 1. Porcentaje de humedad de la pulpa en el nivel industrial, según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días				
	0	33	65	79	165
1	85,3	-	85,8	86,2	85,8
2	74,9	-	75,8	76,1	75,2
3	75,2	-	74,7	75,6	75,2
4	86,0	86,4	86,2	87,0	86,9

Cuadro 2. Grados brix de la pulpa en el nivel industrial, según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días				
	0	33	65	79	165
1	9,0	-	9,0	9,0	9,0
2	21,5	-	22,0	22,0	22,5
3	22,0	-	21,5	21,5	22,0
4	9,5	8,5	9,0	9,5	9,0

Cuadro 3. pH de la pulpa en el nivel industrial, según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días				
	0	33	65	79	165
1	3,60	-	3,77	3,77	3,60
2	3,50	-	3,58	3,70	3,50
3	3,50	-	3,67	3,70	3,50
4	3,40	3,60	3,63	3,68	3,50

Cuadro 4. Porcentajes de acidez de la pulpa en el nivel industrial, según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días				
	0	33	65	79	165
1	1,1	-	1,1	1,1	1,2
2	1,1	-	1,3	1,1	1,1
3	1,1	-	1,1	1,1	1,1
4	1,4	1,3	1,3	1,3	1,3

A los 165 días de almacenamiento se encontró una degradación total de la vitamina C para el tratamiento 1; los restantes tratamientos muestran valores de vitamina C entre 8 y 22% (Cuadro 5).

Cuadro 5. Vit C(mg/100g) de la pulpa en el nivel, según tratamiento y tiempo almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días				
	0	33	65	79	165
1	-	-	33,6	19,8	0
2	-	-	12,0	12,2	7,6
3	82,3	-	34,1	19,9	21,6
4	-	57,2	18,9	17,1	18,4

La determinación de la absorbancia a 440 nm. mostró un comportamiento bastante irregular (Cuadro 6). Al comparar los valores reales con los proyectados se encontraron diferencias significativas al 5%, debido quizás a que el modelo desarrollado en el nivel piloto explica tan sólo en un 31% la variabilidad de esta característica. Al utilizar el colorímetro Hunter Lab se encontró que no hubo diferencia significativa en los valores encontrados de a y b. Los valores L sí mostraron una variación con respecto al tiempo, con un grado de significancia de 0,05%. Estos valores van disminuyendo, lo que implica un oscurecimiento de la pulpa de guayaba con el tiempo de almacenamiento (Cuadro 7).

Cuadro 6. Color (abs a 440 nm) de la pulpa en el nivel industrial, según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo almacenamiento, días				
	0	33	65	79	165
1	0,455	-	0,159	0,140	0,148
2	0,379	-	0,121	0,108	0,109
3	0,615	-	0,173	0,112	0,133
4	0,259	0,165	0,157	0,139	0,126

Cuadro 7. Color (Hunter Lab) de la pulpa en el nivel industrial, según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento		Tiempo almacenamiento, días				
		0	33	65	79	165
1	L	46,6	-	44,00	38,25	39,93
	a	11,5	-	12,34	12,81	11,32
	b	20,3	-	20,84	18,56	19,00
2	L	43,3	-	40,24	38,52	36,83
	a	12,7	-	12,66	13,71	12,49
	b	18,6	-	19,29	18,84	17,95
3	L	43,9	-	38,37	43,04	37,17
	a	12,5	-	14,39	12,08	14,33
	b	19,6	-	18,91	20,12	18,64
4	L	47,8	44,17	42,75	42,40	41,30
	a	12,2	11,95	12,43	12,71	12,36
	b	19,6	20,45	19,91	20,51	19,75

A los 165 días de almacenamiento, las pulpas sometidas a los cuatro tratamientos presentaron recuentos microbiológicos aceptables (Cuadro 8). Estos valores y los encontrados para las características: humedad, °Brix, pH y acidez muestran un comportamiento similar al encontrado en el estudio precedente en el plano de planta piloto.

En el Cuadro 9 se reportan los valores reales y los proyectados según las ecuaciones, para los 165 días de almacenamiento. Como puede observarse no existen diferencias significativas al 0,05% entre ellos, salvo para las características de color y vitamina C.

Cuadro 8. Recuento microbiano de la pulpa en el nivel industrial, según tratamiento y tiempo de almacenamiento

Tratamiento		Tiempo almacenamiento, días				
		0	33	65	79	165
1	R T	1,6x10 ²	-	9,9x10 ¹	5,0x10 ¹	6,0x10 ¹
	H L	<10	-	3,8x10 ²	<10	5,0x10 ¹
	Col	<3	-	<3	-	<3
2	R T	2,1x10 ²	-	6,0x10 ¹	3,0x10 ¹	4,0x10 ¹
	H L	<10	-	7,6x10 ⁵	<10	<10
	Col	<3	-	<3	-	<3
3	R T	1,0x10 ¹	-	<10	6,5x10 ²	6,9x10 ²
	H L	<10	-	1,0x10 ¹	4,1x10 ²	<10
	Col	<3	-	<3	-	<3
4	R T	2,8x10 ²	3,5x10 ²	4,7x10 ²	<10	3,7x10 ²
	H L	<10	2,6x10 ²	2,7x10 ²	<10	2,0x10 ²
	Col	<3	<3	<3	-	<3

R T: Recuento total de bacterias mesófilas aeróbicas UFC/g.

H L: Recuentos de hongos y levaduras UFC/g.

Col: NMP de coliformes totales/g.

Cuadro 9. Comparación entre los resultados prácticos y los proyectados*

	1	2	3	4
% Humedad	85,8 (84,61)	72,2 (74,50)	75,2 (78,37)	86,9 (87,33)
*Brix	9,0 (97,8)	22,5 (21,97)	22,0 (20,70)	9,01 (8,50)
pH	3,6 (3,54)	3,5 (3,41)	3,5 (3,44)	3,5 (3,56)
Acidez	1,2 (0,91)	1,1 (1,03)	1,1 (1,16)	1,3 (1,02)
Vit. C	0,0 (1,057)	7,6 (0,8712)	21,6 (0,689)	18,4 (0,836)
Color	0,148 (0,0881)	0,109 (0,0881)	0,133 (0,1286)	0,126 (0,1286)
Log R T	1,0 (1,6)	1,0 (1,2)	2,0 (1,1)	2,0 (1,4)
Log H L	1,0 (1,6)	1,0 (1,2)	1,0 (1,0)	2,0 (1,4)

* según modelos matemáticos entre paréntesis a los 165 días de almacenamiento.

Cuadro 10. Indicadores técnico-económicos de los tratamientos ensayados

Tratamiento	Costo/Kg de producto US\$	% de distribución del costo por insumo	
1	0,078	guayaba	90,4
		benzoato	1,2
		mano de obra	8,4
2	0,120	guayaba	51,2
		azúcar	43,2
		benzoato	0,6
3	0,116	mano de obra	5,0
		guayaba	51,1
		azúcar	44,5
4	0,074	mano de obra	4,4
		guayaba	91,5
		mano de obra	8,5

ANÁLISIS CINÉTICO ULTRAESTRUCTURAL DE LA LIPOLISIS DE LOS GLOBULOS GRASOS LACTEOS

CONCLUSIONES

1. Los cuatro tratamientos ensayados en el ámbito industrial mostraron recuentos microbiológicos aceptablemente bajos a los 165 días de almacenamiento.
2. Los valores predictivos de las ecuaciones matemáticas derivadas no fueron significativamente diferentes a los obtenidos en la realidad, salvo para los valores de color y vitamina C. Ello es debido posiblemente a que las ecuaciones correspondientes a estas variables explican en un grado considerablemente bajo la variabilidad de las respuestas.
3. Las ecuaciones de regresión mostraron validez para proyectar tratamientos efectuados bajo similares condiciones de proceso. A pesar de las diferencias propias del escalamiento, las ecuaciones fueron confiables y aplicables en el nivel de industria. La técnica de superficies de respuesta constituye, por lo tanto, un método eficiente, seguro y económico para pronosticar el efecto de los factores en el escalamiento del proceso.
4. En el caso específico de la pulpa de guayaba, los resultados ofrecen a la industria varias alternativas de combinación de factores que logran mantener el producto en condiciones adecuadas a temperatura ambiente por un período mínimo de 165 días, con lo cual se podrían eliminar o reducir las pérdidas por concepto de deterioro de producto almacenado, que se presentan con los métodos tradicionalmente utilizados.

BIBLIOGRAFIA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis. 15th Ed. V. 2. Virginia.
- BOX, G. E. P. & DRAPER, N. R. 1987. Empirical model-building and response surfaces. New York; John Wiley.
- COX, H.E. & PEARSON, D. 1962. The chemical analysis of foods. Cap. 7. New York. Chemical Publishing Co.
- DIAZ, D. 1974. Conservación de pulpas de frutas tropicales mediante un aditivo químico. Tecnología n. 88:7-19.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. 1978. Microorganismos de los alimentos. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Ed. Acribia. V.2.
- GRANADOS, G. 1980. Industrialización de la guayaba. In Bol. Técnico Labal 1(1): 14-19.
- VARGAS, M. 1983. Diferentes métodos de conservación de pulpas de frutas tropicales. Tecnología. 24(144):34-48.

_____. 1984. Conservación de pulpas de frutas tropicales en bolsas flexibles esterilizables. *Tecnología*. 25(150):37-51.

VIQUEZ, F. 1994. La preservación de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) por métodos combinados. En prensa.

ANALISIS CINETICO ULTRAESTRUCTURAL DE LA LIPOLISIS DE LOS GLOBULOS GRASOS LACTEOS

Teresita Rodríguez-Salas*; Francisco Hernández-Chavarría**; Julio Francisco Mata-Segreda ***

ABSTRACT

Ultrastructural kinetic analysis of milk fat globules lipolysis

The action of pancreatic lipase on natural (cow and human) and homogenized milk fat was analyzed kinetic and ultrastructurally, studying the milk fat globules and their membranes.

It was found that *in vitro* reaction of the enzyme with homogenized milks was faster than with the natural ones. Also a larger proportion of ruptured or perforated milk fat globules was observed in homogenized milk. However, the non homogenized cow milk, showed a greater proportion of perforated milk fat globules than the human milk; this due to natural autolysis during post-excretion time.

The majority of the homogenized milk fat globules presented alterations at 180 min of reaction, or only their membranes were left. Meanwhile on the natural samples there was a higher proportion of complete globules, although, with cryofracture, in the scanning electron microscope, it was possible to observe hydrolysis in the lipidic core.

It is concluded that the protein membrane of milk fat globules in homogenized milk is more permeable to the enzyme than the fat globule membrane in natural milks, which might be due to the ruptures presented.

RESUMEN

Se analizó cinética y ultraestructuralmente la acción de la lipasa pancreática sobre la grasa de leches naturales (de vaca y humana) y homogeneizadas, mediante el estudio de los glóbulos grasos lácteos y sus membranas.

Se encontró que la reacción *in vitro* de la enzima con las leches homogeneizadas fue más rápida que con leches naturales. Además se observó una proporción mayor de glóbulos grasos lácteos con perforaciones o rupturas en las leches homogeneizadas. Sin embargo, la leche no homogeneizada de vaca, mostró una mayor proporción de glóbulos grasos lácteos perforados que la leche humana; esto debido a la autólisis natural ocasionada por el tiempo post-excreción.

La mayoría de los glóbulos grasos lácteos de las leches homogeneizadas presentaron alteraciones a los 180 min de reacción, o bien sólo quedaron sus membranas. En tanto en las leches naturales hubo una mayor proporción de glóbulos lácteos íntegros, aunque con criofractura, en el microscopio electrónico de barrido fue posible observar hidrólisis en el corazón lipídico.

Se concluye que la membrana proteica del glóbulo graso lácteo homogeneizado es más permeable a la enzima que la membrana del glóbulo graso de las leches naturales, lo cual puede deberse a las rupturas que presentan.

INTRODUCCION

Los glóbulos grasos lácteos (GGL) están constituidos de un 97% a un 99% por triglicéridos, el resto corresponde a fosfolípidos y esteroides. Este núcleo lipídico que constituye el GGL, está recubierto por una membrana de tipo unitario denominada membrana del glóbulo graso lácteo (MGGL), cuya ultraestructura es similar a la de una membrana celular (Blackberg, 1981; Cheftel, 1980). Sin embargo, por autólisis natural de la leche, esas membranas se alteran tanto estructural como químicamente, al grado de ser sustituida por una membrana proteica, conocida como membrana secundaria (Bracco *et al*, 1972; Wooding,

* Escuela de Tecnología de Alimentos

** Unidad de Microscopía Electrónica

*** Escuela de Química

1971). Algo similar ocurre durante el proceso de homogeneización, pues las MGGL se rompen y son sustituidas por una capa proteica derivada del plasma lácteo (Brunner, 1976; Wooding, 1971). Así, la estructura de membrana unitaria de los GGL solo puede ser observada en muestras procesadas inmediatamente después de la excreción (Hernández & Akahori, 1983).

La MGGL protege el núcleo lipídico; sin embargo, para el proceso de la digestión representa una barrera física que obstaculiza el paso de enzimas. Ese bloqueo se manifiesta por ejemplo en la acción con la lipasa pancreática en la que se requiere que esta actúe sobre el corazón lipídico del GGL; (Blackberg, 1981; Mata-Segreda, 1981). Así, el objetivo de este estudio fue evaluar la acción de la lipasa pancreática sobre los GGL de leches naturales y homogeneizadas y definir el efecto que produce esta enzima en la MGGL.

MATERIALES Y METODOS

Muestras de leche

Se estudiaron las siguientes leches: leche homogeneizada de vaca de tres marcas comerciales (muestras A, B y C); leche sin homogeneizar de vaca, obtenida de un expendio comercial por lo que el tiempo de post-excreción no fue determinado (muestra D) y dos muestras de leche humana de diferentes fuentes (muestras E y F) recolectadas la primera a los quince días *post partum*, y la segunda a los 4 meses. Tales muestras fueron procesadas inmediatamente post-excreción.

Reacción enzimática

Se utilizó un preparado de lipasa pancreática de origen porcino (40 mg/mL de agua destilada), que se añadió a cada muestra de leche en solución amortiguadora de fosfatos (pH 7.2). La composición de la mezcla de reacción fue de tres partes de amortiguador por una parte de enzima y otra parte de leche. La mezcla de reacción se incubó a 37 °C y se tomaron alícuotas a los 0, 30, 60 y 180 min.

Extracción de la grasa

De cada mezcla de reacción se extrajeron alícuotas de 14 mL y se centrifugaron durante 15 min a 3000 rpm a 4°C, (centrífuga Hitachi OSPR-22). Los tubos se taparon con tapones de hule perforable y se colocaron invertidos en el rotor, de manera que la capa lipídica al centrifugarse flotó localizándose en el fondo de los tubos. Luego, sin invertir los tubos, se perforaron los tapones con una aguja hipodérmica para permitir la entrada de aire y con otra aguja y una jeringa hipodérmica se extrajo la fase acuosa del tubo, de manera que al colocarlos en posición normal la capa de grasa quedó en el fondo.

Microscopia electrónica de barrido

La grasa extraída de cada alícuota de la mezcla de reacción enzimática se fijó con glutaraldehído al 2,5% en solución amortiguadora de fosfatos (0,2 M, pH 7,2) durante 2 h a 4 °C; se postfijó con tetróxido de osmio al 2% en el mismo amortiguador por 1 h. Se deshidrató en una escala ascendente de alcohol etílico de 30 a 100%. Se depositó una gota en una membrana Millipore de 0,45 µm de porosidad y luego se secó en un secador de punto crítico (Hitachi HCP-2). Las membranas Millipore con la muestra adsorbida se colocaron sobre bases de aluminio; se cubrieron con oro en un cobertor iónico (Eiko IB-3), y se observaron en un microscopio electrónico de barrido (Hitachi S-570).

De la muestra F también se tomaron dos alícuotas a los 0 y 180 min de reacción, que se fijaron con glutaraldehído en la misma condición expresada anteriormente, se lavaron con amortiguador de fosfatos y se resuspendieron en glicerol al 5%, luego se congelaron en nitrógeno líquido, se criofracturaron y se observaron a -100 °C en el microscopio electrónico de barrido (Hitachi S-570), empleando un dispositivo de etapa criogénica.

Microscopia electrónica de transmisión

Se procesaron las alícuotas obtenidas a los 0 y a los 180 min de reacción de las muestras A, B, C y D; para ello la fracción lipídica, una vez deshidratada, se embebió en resina Epoxi (Tabb tipo Spurr) y se incubó a 70 °C durante 72 h. Se hicieron cortes ultrafinos de 50 y 90 nm de espesor, (Ultramicrotomo Sorvall MT2-2). Los cortes se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo y se observaron en un microscopio electrónico de transmisión (Hitachi HU-12A).

RESULTADOS Y DISCUSION

Ultraestructura del GGL

Al microscopio electrónico de barrido, los GGL aparecen como corpúsculos esferoides de diferente diámetro, algunos presentan una superficie lisa y otros corrugada (Bauer, 1972). En este trabajo esto se puede apreciar observando las Figuras 1a, 1b, 1c, 1d y 4a, para las diferentes leches estudiadas. Mediante cortes ultrafinos observados al microscopio electrónico de transmisión, se apreciaron diferencias en la MGGL. Las leches no procesadas presentaron MGGL tipo unitario con aspecto trilaminar como lo describió Wooding (1971). En la leche no homogeneizada de vaca, se aprecia un proceso de

vacuolización, observándose estructuras electrodensas emergiendo de la MGGL a manera de corpúsculos esferoides gemando, cuyo material parece provenir exclusivamente de la MGGL (Figura 2a). Por tal razón esas estructuras han sido denominadas plasmalemasomas (Wooding, 1972). En las leches homogeneizadas la MGGL ha sido sustituida por una membrana más gruesa, originada posiblemente por proteínas lácteas (Brunner, 1976). El aspecto ultraestructural granular de esta membrana es más acentuado que el observado en la leche sin procesar (Figura 2b). Las discontinuidades de la MGGL observadas en esta micrografía podrían corresponder a los agujeros que se presentan en la superficie de los GGL apreciadas en las micrografías electrónicas de barrido (Figura 2c).

El interior del GGL (corazón lipídico) es disuelto durante el procesamiento de la muestra para microscopia electrónica de transmisión y barrido, pues en el primer caso sólo se observan las MGGL y en el segundo caso los GGL aparecen como esferas vacías (Figuras 2a, 2b y 2c) presentando rupturas en las MGGL. De tal manera que una opción para observar el interior del GGL al microscopio electrónico es mediante estabilización de la estructura por ultracongelación y criofractura, como se observa en las Figuras 5a y 5b, en la cual el GGL ha sido dividido diametralmente mostrando una masa lipídica interna. Además, es posible apreciar la MGGL criofracturada como un casquete que envuelve al corazón lipídico.

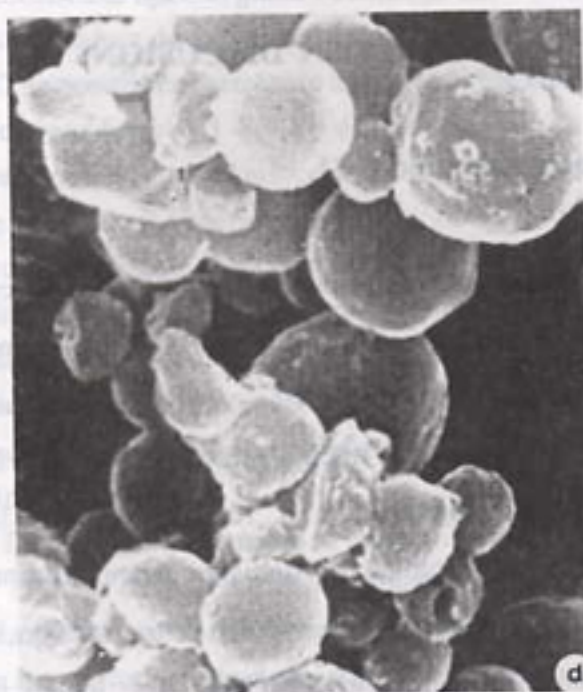
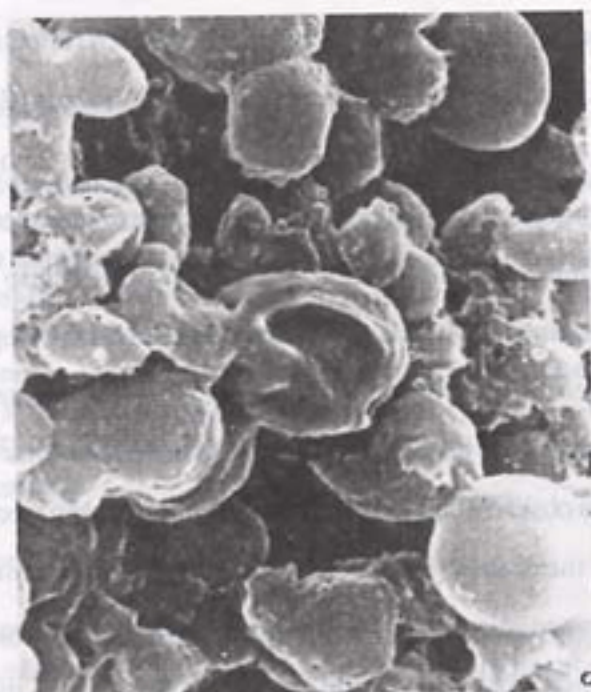
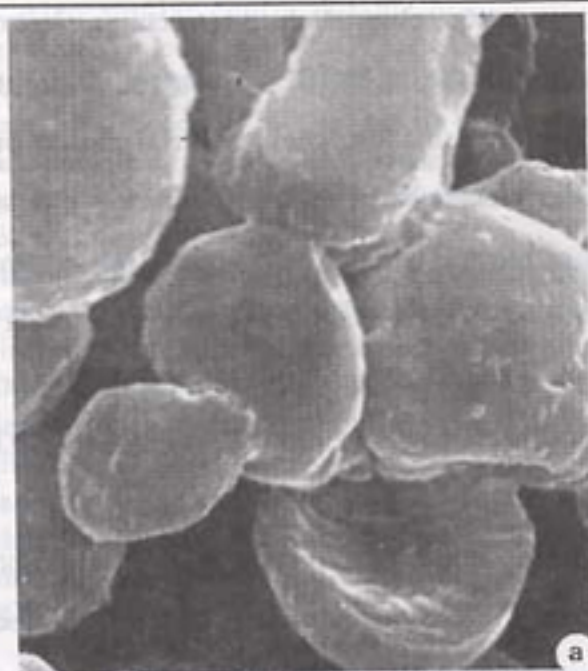


Figura 1. Micrografías electrónicas de barrido de GGL de leches de vaca

- a- Leche sin homogeneizar (14 000X)
 b- Leche homogeneizada A (14 000X)

- c- Leche homogeneizada B (15 500 X)
 d- Leche homogeneizada C (17 000 X)

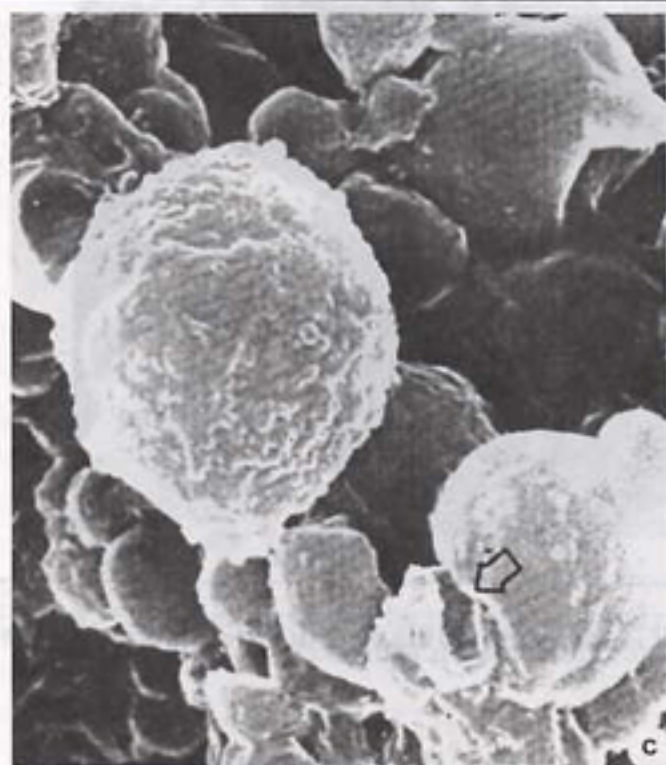
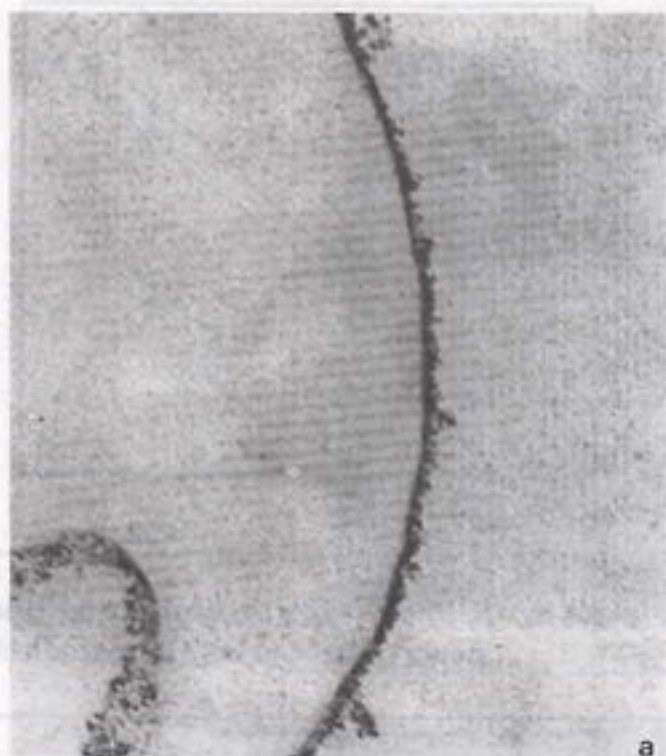


Figura 2. Micrografías electrónicas de GGL de leches de vaca

a- Transmisión, leche no homogeneizada (125 000 X)

b- Transmisión, leche homogeneizada (105 000 X)

c- Barrido, leche homogeneizada (14 000 X)

Análisis ultraestructural del la lipólisis de los GGL

En las curvas de la Figura 3, se observa que la lipasa pancreática actúa a una velocidad de reacción mayor sobre los GGL de la leche cruda (muestra D), seguida por la de los de las leches homogeneizadas (muestras A, B y C). En esta figura se observa que con la leche humana (muestra E) es con la que se presenta la menor velocidad de reacción. Aunque las micrografías electrónicas de barrido muestran que las MGGL de esta leche permanecen prácticamente sin alteración y que la proporción de los GGL es la misma durante las 3 h de reacción enzimática (Figuras 4a y 4b). Sin embargo, en las muestras procesadas por criofractura es posible observar que la enzima actúa sobre el corazón lipídico después de 180 min de reacción (Figuras 5a y 5b).

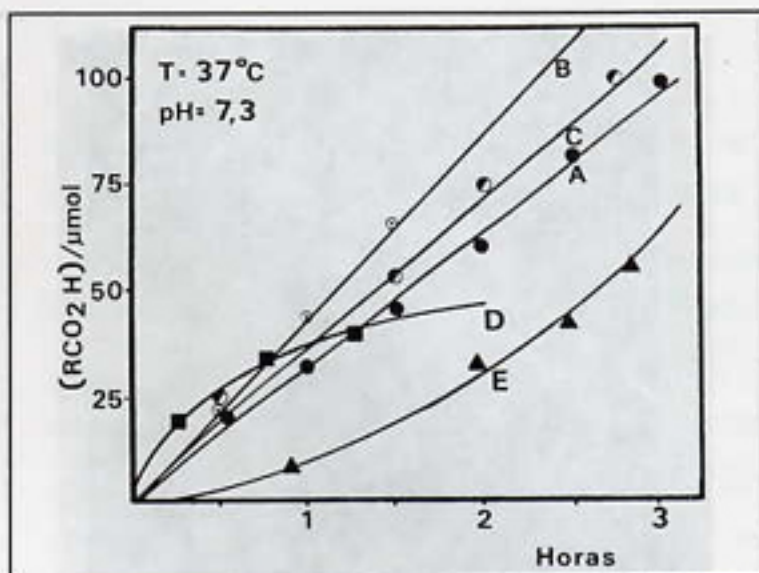


Figura 3. Curvas de reacción de la lipasa pancreática con las diferentes leches

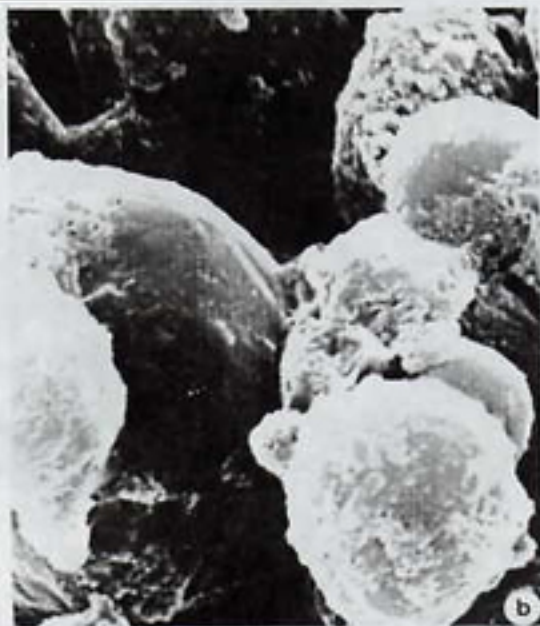
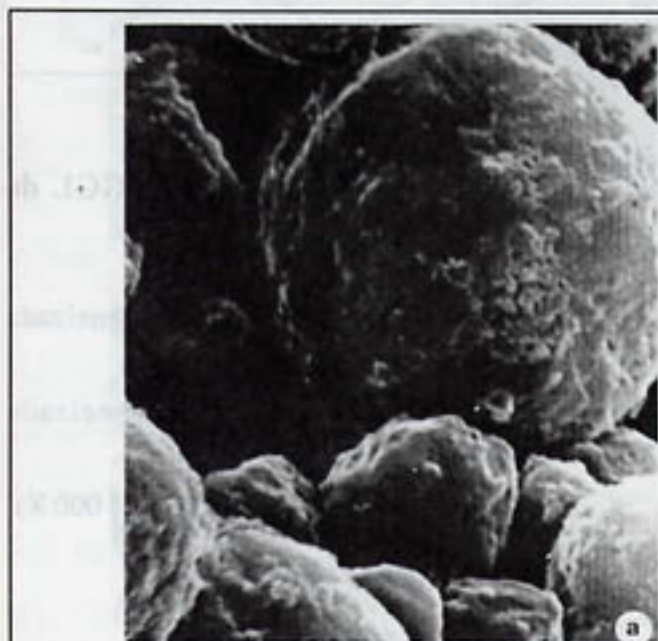


Figura 4. Micrografías electrónicas de barrido de GGL de leche humana a dos tiempos extremos de reacción con la lipasa pancreática

- a- 0 min, (15 000 X)
- b- 180 min, (12 000 X)

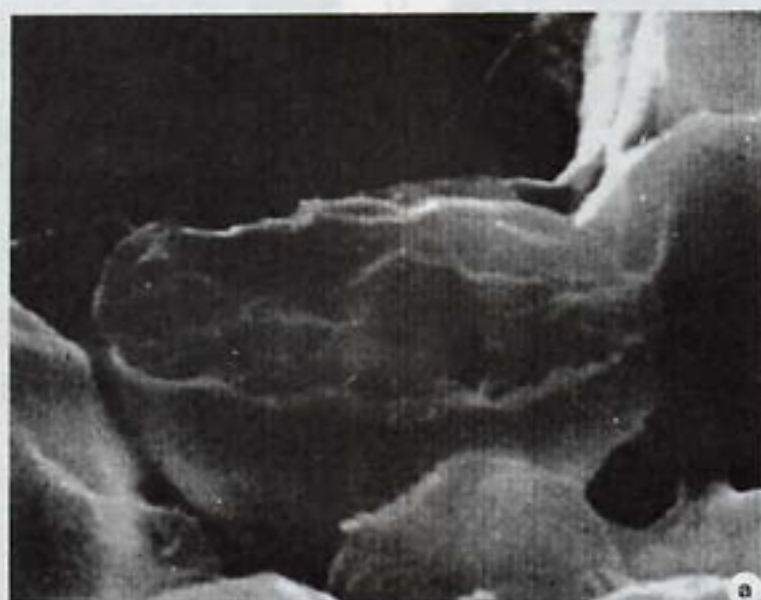


Figura 5. Micrografías electrónicas de barrido de GGL de leche humana crio fracturados a dos tiempos extremos de reacción con lipasa pancreática

a- 0 min, (11 500 X)

b- 180 min, (10 000 X)

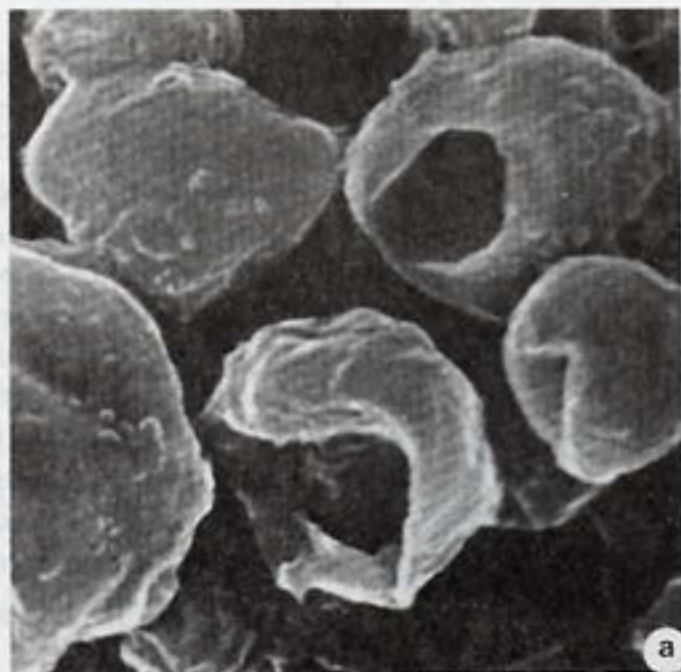


Figura 6. Micrografías electrónicas de barrido de GGL de leche sin homogeneizar

a- Barrido (14 000 X)

b- Transmisión (25 000 X)

Los GGL de la leche sin homogeneizar de vaca, observados al microscopio electrónico de barrido, (Figura 6a), presentan agujeros en sus membranas desde el principio de la reacción debido a la autólisis natural de los mismos (Wooding, 1972), que es comprobada por la observación de gran cantidad de plasmalemasomas en las micrografías electrónicas de transmisión (Figura 6b).

Las leches homogeneizadas fueron las que reaccionaron más rápidamente con la lipasa pancreática; las diferencias estadísticas entre estas velocidades de reacción, fueron altamente significativas entre sí ($P < 0,04$). Las diferencias ultraestructurales entre estas leches se pueden observar en las Figuras 7a, 7b y 7c, en donde se aprecia que en la leche A, la reacción fue más drástica, al grado de que en la alícuota tomada a los 180 min sólo quedaron fragmentos de GGL a manera de cascarones vacíos. Las leches B y C, ultraestructuralmente presentaron un panorama muy similar; aunque como se mencionó la diferencia en las velocidades de reacción fue altamente significativa.

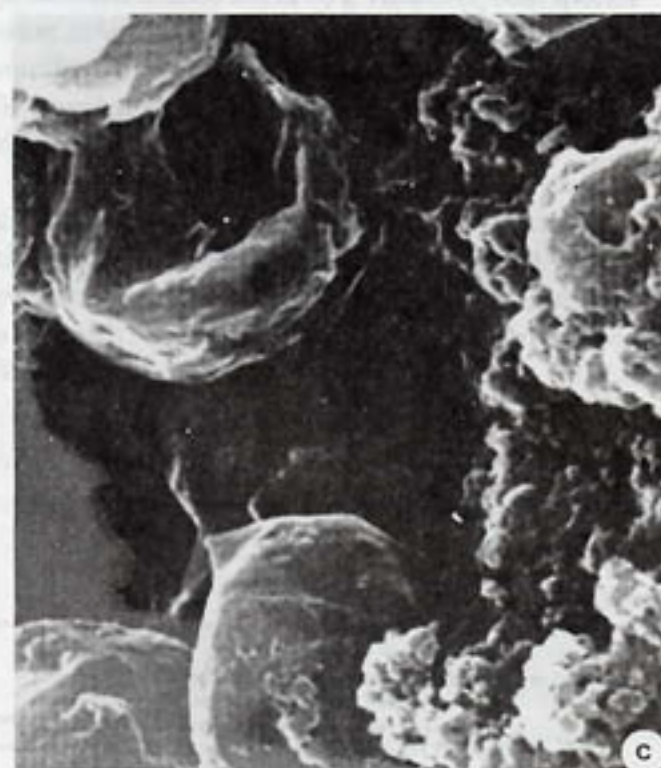
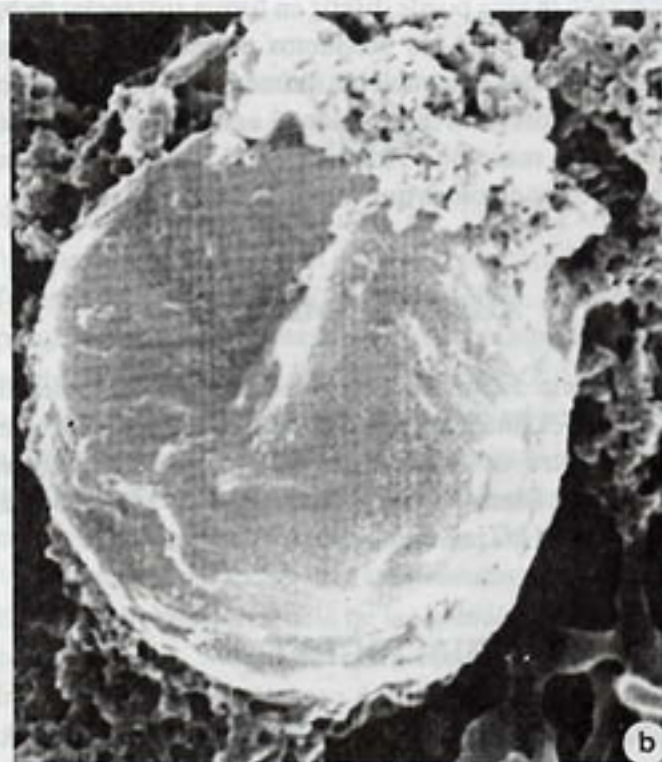


Figura 7. Micrografías electrónicas de barrido de GGL de leche homogeneizada de vaca a 180 min de reacción con la lipasa pancreática

a- Muestra A, (31 000 X)

b- Muestra B, (22 000 X)

c- Muestra C, (15 000 X)

CONCLUSIONES

La acción de la lipasa pancreática sobre la MGGL depende del proceso a que se haya sometido la leche después de excretada.

Las leches homogeneizadas presentaron una velocidad de reacción mayor con la lipasa pancreática que las leches naturales, o sea que de alguna manera el proceso de homogeneización facilita la acción *in vitro* de esta enzima.

La reacción *in vivo* puede diferir en forma sustancial de lo expuesto aquí, pues los productos de reacción estarían siendo removidos del ambiente químico, y el peristaltismo intestinal favorecería la reacción al agitar continuamente la mezcla de reacción. Además, en el intestino estarían presentes otras enzimas que intervendrían en la reacción.

AGRADECIMIENTO

A la Agencia Japonesa de Cooperación Internacional (JICA), por el financiamiento para la elaboración de este trabajo dentro del marco del IV Curso Regional de Microscopia Electrónica en la Unidad de Microscopia Electrónica de la Universidad de Costa Rica.

BIBLIOGRAFIA

- BAUER, H. 1972. Ultrastructural observations on the milk fat globule envelope of cow's milk. *J. Dairy Sci.* 55:1375.
- BLACKBERG, L., HERNELL, O. & OLIVECRONA, T. 1981. Hydrolysis of human milk fat globules by pancreatic lipase. *J. Clin. Invest.* 67:1748.
- BRACCO, U., HIDALGO, J. & BOHREN, H. 1971. Lipid composition of the fat globule membrane of human and bovine milk. *J. Dairy Sci.* 55:165.
- BRUNNER, J.R. 1976. Characteristics of edible fluids of animal origin: milk. In Fennema, O.R. Principles of Food Science, Part I. Food Chemistry. New York, Marcel Dekker.
- CHEFTEL, J.C. & CHEFTEL, H. 1976. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Vol. I. Zaragoza. Acribia.
- HERANDEZ, F. & AKAHORI, H. 1983. Análisis ultraestructural de glóbulos lácteos de calostro y leche humana. *Rev. Biol. Trop.* 31:245.
- MATA-SEGREDÁ, J.F. 1985. Lipólisis de los glóbulos grasos lácteos. Trabajo no publicado. Escuela de Química. Universidad de Costa Rica.
- WOODING, F.B.P. 1971. The structure of milk fat globule membrane. *J. Ultrastruct. Res.* 37:388.
- _____, 1972. Milk microsomes, viruses and the milk fat globule membrane. *Experientia.* 28:1077.

Supervivencia del *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus* en el ceviche*

Priscilla Alvarado-Marengo**; Vera García-Cortes***

ABSTRACT

Survival of *Vibrio cholerae* and *V. parahaemolyticus* in ceviche

The survival of *Vibrio cholerae* and *V. parahaemolyticus* was studied in ceviche (raw marinated fish), prepared with a standard formulation. Fish pieces were previously inoculated to obtain 10^3 or 10^6 CFU/g for each bacteria.

Ceviche was prepared with the inoculated fish and incubated at 4°C. Samples for analyses were taken before incubation and at different intervals up to 24 hrs.

In all experiments the *Vibrio* populations decreased rapidly. In all cases the pathogens could not be isolated after 24 hrs incubation by the presence/absence test in 10g. However, both species were able to survive in ceviche at least for 6 h in numbers that depended on the amount inoculated. *V. parahaemolyticus* showed a more accelerated death rate than *V. cholerae*.

Based on these results it is concluded that ceviche can be a potential health hazard if contaminated with these vibrios, when eaten during the first 6-10 hrs of preparation. After 24 h ceviche does not represent a health hazard by *V. cholerae* or *V. parahaemolyticus*.

RESUMEN

Se estudió la supervivencia de *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus*, en ceviche preparado con una formulación estandarizada en Costa Rica. Se inoculó el pescado troceado para obtener cargas aproximadas, de cada microorganismo por separado, de 10^3 y 10^6 UFC/g en el ceviche preparado. Las pruebas se realizaron en ceviche elaborado a partir del pescado contaminado e incubado a 4°C hasta su análisis. Las muestras se tomaron al tiempo cero y a diferentes intervalos, hasta por 24 h.

En general, en todos los experimentos se observó una clara y acelerada tendencia de las poblaciones a decrecer con el tiempo, independientemente de la carga inicial inoculada. En ningún caso fue posible aislar los *Vibrio* después de 24 h, utilizando la técnica de presencia/ausencia en 10g. Sin embargo, los resultados indican que ambas especies son capaces de sobrevivir en el ceviche al menos por 6 h en cantidades que dependen de la carga inoculada; siendo, el *V. parahaemolyticus* el que presenta la tasa de muerte más acelerada.

Por lo anterior, se concluye que el ceviche puede ser un riesgo potencial para la salud en relación con estos dos patógenos, y en especial con el *V. cholerae*, dependiendo, entre otros factores, del tiempo que tiene de preparado y la cantidad del producto que se ingiera. De acuerdo con los datos obtenidos no existe riesgo si el ceviche se consume luego de 24 h de preparado.

INTRODUCCION

El ceviche es un platillo muy popular en Costa Rica, así como en varios países latinoamericanos. Su preparación a base de pescado y condimentos crudos, sumergidos en jugo de limón y sin ningún tratamiento térmico, ha suscitado especulaciones en cuanto a la capacidad de éste y otros

* Tesis de Grado de la primera autora para obtener el grado de Lic. en Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, 1992.

** Actualmente en Industrias Buenos Aires, S.A.

*** Facultad de Microbiología, UCR Actualmente en CITA-UCR.

platillos similares, para servir como vehiculador de patógenos.

Un estudio realizado por Fernández y Ryan (1983) demuestra que de 66 muestras de «ceviche de chuchecas» (coctel de bivalvos), el 93% no eran aptas para consumo humano por su alto grado de coliformes fecales, de *Staphylococcus aureus* y por la presencia de *Salmonella* spp. Jiménez (1991) encontró que, en ceviche, la *Salmonella typhimurium* mantiene su población constante por 72 hrs y *S. aureus*, aunque disminuye su población con el tiempo, puede encontrarse en números considerables aún después de 48 hrs.

Dos patógenos, el *Vibrio parahaemolyticus* y el *V. cholerae*, representan un riesgo especial en relación con el ceviche debido a que ha sido demostrada su presencia en pescado. Es ampliamente conocido que, debido a su hábitat marino, el *V. parahaemolyticus* constituye frecuentemente parte de la flora normal del pescado y otros mariscos. En Costa Rica se ha informado sobre la presencia de esta bacteria en diversos tipos de pescado (Murillo, 1983; García, *et al.*, 1986).

Por otra parte, cabe destacar que, durante la reciente epidemia de cólera ocurrida en Perú, se logró aislar *V. cholerae* del 20% de peces recién capturados y de 100% de muestras de pescado obtenidas en el mercado; verificándose, además, la presencia de *Vibrio cholerae* en 57.2% de las muestras de ceviche obtenidas en El Callao y en 30% de las obtenidas en Lima (OMS, 1991).

En forma posterior, en un estudio retrospectivo de la epidemia antes mencionada, se logró establecer que al inicio, el contagio más frecuente fue por la ingestión de pescado y, posteriormente, por verduras y frutas mal lavadas (Romero *et al.*, 1991).

En Costa Rica, Mata *et al.* (1994) realizaron experimentos que demuestran que *V. cholerae* muere al ser inoculado directamente en el ceviche, y por otro lado, estudios realizados en 1991 en el Hospital Nacional de Niños señalan que el limón no es garantía para eliminar el *V. cholerae* del mismo (Herrera, Marco Luis; Comunicación personal). Debido a los datos, aparentemente contradictorios, y a que existen muchas variables (formulación del alimento, forma de inocular con los

patógenos, condiciones de almacenamiento y técnicas de recuperación) que pueden incidir en este tipo de estudio, se llevó a cabo la siguiente investigación con el fin de estudiar la supervivencia de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en ceviche preparado con una formulación estandarizada en Costa Rica y bajo condiciones controladas.

MATERIALES Y METODOS

Cepas y preparación del inóculo

Se utilizó la cepa ATCC No 17802 de *Vibrio parahaemolyticus* suministrada por la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica y una cepa de *Vibrio cholerae* No 1800-82 biotipo el Tór, serotipo Inaba, proveniente del "Center for Disease Control" (Georgia, USA), suministrada por el Instituto Nacional de Investigaciones en Salud (INISA, Universidad de Costa Rica). El *V. cholerae* fue mantenido en agua peptonada alcalina con pH 8.2 (APA) y el *V. parahaemolyticus* en agua peptonada con 3% de NaCl (AP - 3%).

Para preparar los inóculos se utilizó, en cada caso, el mismo medio de cultivo que se utilizó para el mantenimiento. La concentración de los cultivos se ajustó utilizando los estándares de Mc Farland (Mc Faddin, 1981), y en cada determinación se incluyó una cuantificación en agar tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa (TCBS).

Inoculación del ceviche

Las pruebas se llevaron a cabo para cada microorganismo por separado, realizándose, para cada uno, repeticiones en tres oportunidades. En todos los casos, el ceviche fue preparado siguiendo la formulación promedio descrita por Jiménez y García (1993).

Los trocitos de pescado (de ± 1 cm de arista) se inocularon con la cantidad de cultivo necesaria (determinada previamente) para obtener, en el ceviche ya preparado, cargas aproximadas de 10^6 y 10^3 UFC/g. El

pescado inoculado se dejó en reposo durante 3 hrs a 4 °C y luego se añadió el resto de los ingredientes.

Toma y preparación de las muestras

En cada caso una vez preparado el ceviche, se procedió a tomar una muestra para el análisis correspondiente al tiempo cero y luego se almacenaron a 4°C. De los ceviches inoculados con *V. cholerae* se tomaron muestras a los 30 min y después de 2, 4, 6 y 10 h. En el caso de *V. parahaemolyticus* se incluyó, además, una muestra a las 8 h.

En todos los casos la muestra consistió en 10g de producto, en donde se mantuvo la relación sólido/líquido establecida por Jiménez y García (1993). La muestra se pesó directamente en frascos de licuadora estériles y se homogenizó, por 1-2 min con 90 ml de APA o AP-3% según el caso. Una vez licuada, se ajustó el pH de la mezcla a 7,0-7,5 con NaOH 3M estéril (Wallace *et al.*, 1984) y se procedió a realizar las diluciones decimales necesarias utilizando tubos con 9 ml de diluyente (APA o AP-3%).

Métodos de cuantificación

Se utilizó la técnica de esparcimiento sobre agar descrita por Vanderzant y Splittstoesser (1992) usando agar TCBS con incubación a 35°C por 18 a 24 h. Cuando se esperaban concentraciones muy bajas de las bacterias, la técnica se modificó de la siguiente manera: se sembró 0.2 ml de la dilución 10^{-1} en cada una de cinco placas de agar TCBS, tomándose, para estimar el resultado, el número de colonias típicas presentes en las 5 placas. En tales casos se utilizó, además, la técnica de número más probable (NMP, series de 3 tubos) simultáneamente con la prueba de esparcimiento en placa. Para *V. cholerae* se usó como medio para la prueba presuntiva APA y para *V. parahaemolyticus* AP-3%, con

incubación a 35°C por 6-8 h (De Paola, 1987). En ambos casos la prueba confirmada se realizó rayando una asada tomada de la superficie del caldo a placas de agar TCBS, incubándolas a 35°C por 18-24 h.

En todos los experimentos se realizó, a las 24 hrs, una prueba de presencia/ausencia para lo cual se tomó 10 g de ceviche, se adicionó 90 mL de diluyente, se homogenizó en licuadora y se ajustó el pH a 7.0-7.5. Se incubó por 6-8 h a 35 °C y luego se tomó una asada de la superficie del caldo y se rayó sobre placas de agar TCBS el cual se incubó a 35°C por 18-24 h.

Supervivencia en jugo de limón

Se realizaron pruebas de supervivencia de ambos vibrios en jugo de limón mandarina (*Citrus jambiri*) puro y diluido 1/10 y 1/100. A 25 ml de cada uno se agregó 2.5 ml del inóculo inicial (10^8 UFC/ml) y se procedió a rayar una asada sobre placas de agar TCBS al tiempo 0 y a los 30 min. Las placas se incubaron a 35 °C por 18 h.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos (Figuras 1, 2, 3 y 4) demuestran que el comportamiento del *V. cholerae* y del *V. parahaemolyticus* en el ceviche es similar, presentando una tendencia a disminuir en un tiempo relativamente corto. En la Figura 5 se aprecia que la reducción, en ciclos logarítmicos, es mayor en las primeras 2 h para el *V. parahaemolyticus* en ambas cargas de inoculación (0.86 ciclos para 10^6 y 1,14 para 10^3), que para el *V. cholerae* (0,84 y 0,52 ciclos respectivamente). Lo anterior es notorio al observarse que en todos los experimentos fue posible recuperar algunas células de *V. cholerae* a las 10 h de almacenamiento, no así del *V. parahaemolyticus*.

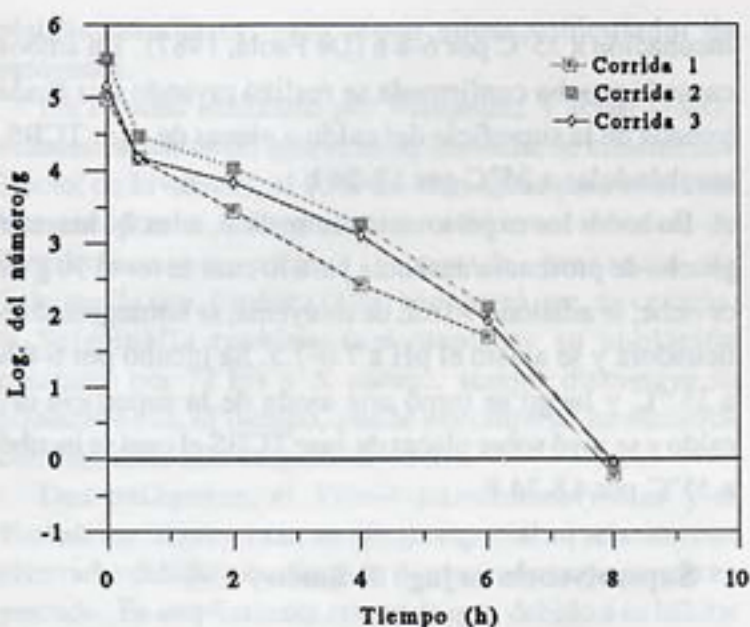


Figura 1. Supervivencia del *Vibrio parahaemolyticus* en ceviche inoculado con 10^6 UFC/g ($T=4^\circ\text{C}$; $\text{pH}=3,5-4,0$)

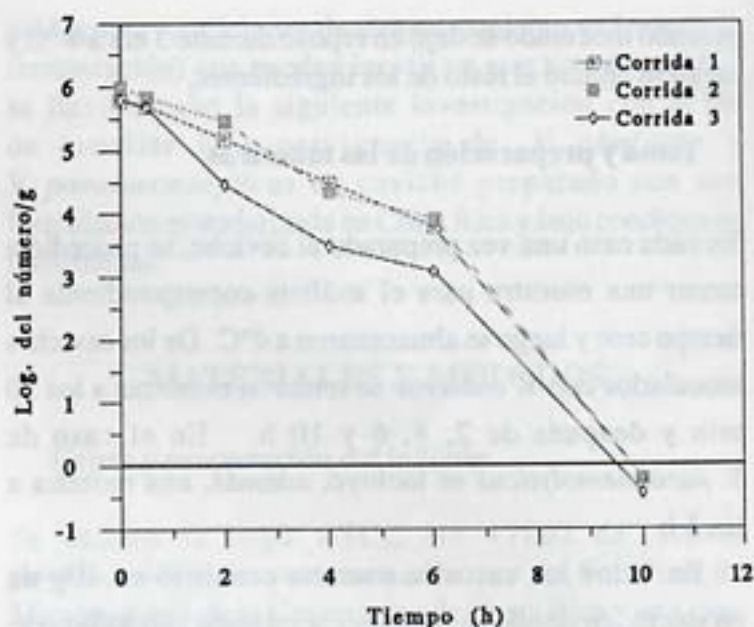


Figura 3. Supervivencia del *Vibrio cholerae* en ceviche inoculado con 10^6 UFC/g ($T=4^\circ\text{C}$; $\text{pH}=3,5-4,0$)

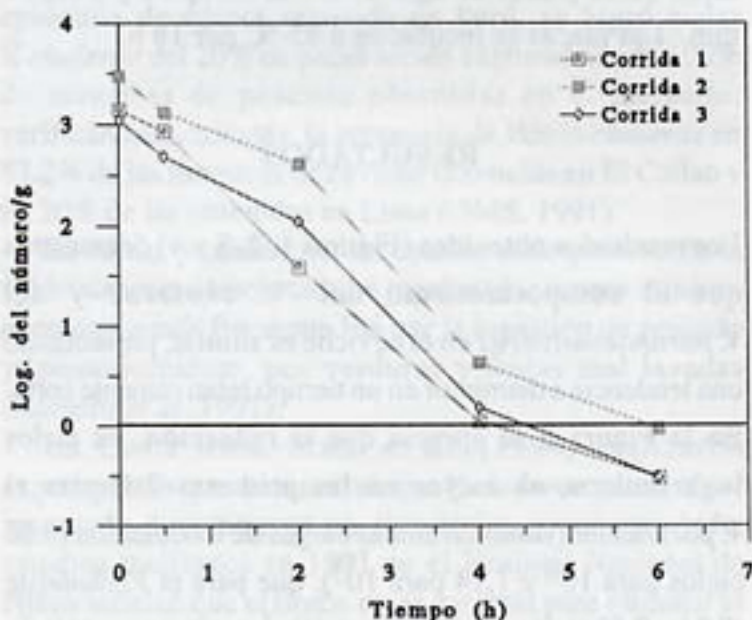


Figura 2. Supervivencia del *Vibrio parahaemolyticus* en ceviche inoculado con 10^3 UFC/g ($T=4^\circ\text{C}$; $\text{pH}=3,5-4,0$)

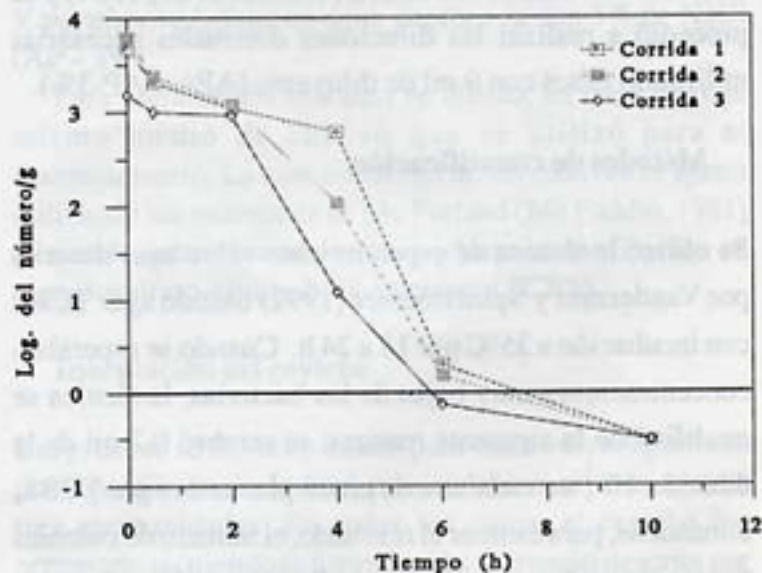


Figura 4. Supervivencia del *Vibrio cholerae* en ceviche inoculado con 10^3 UFC/g ($T=4^\circ\text{C}$; $\text{pH}=3,5-4,0$)

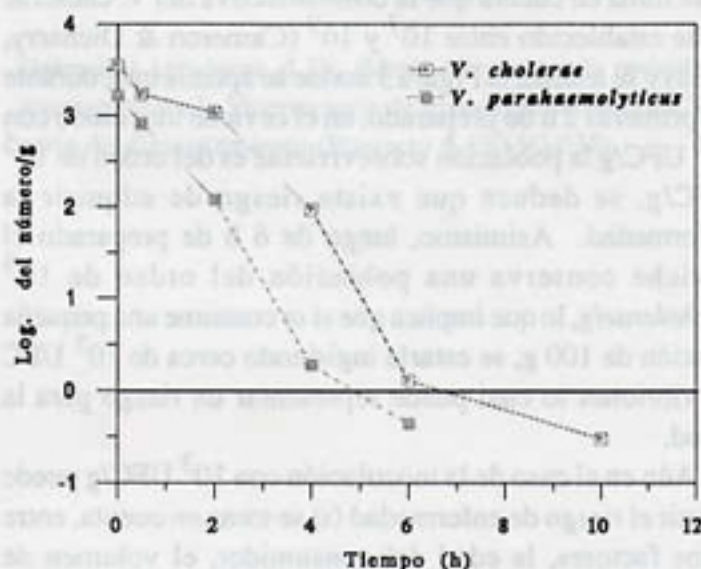
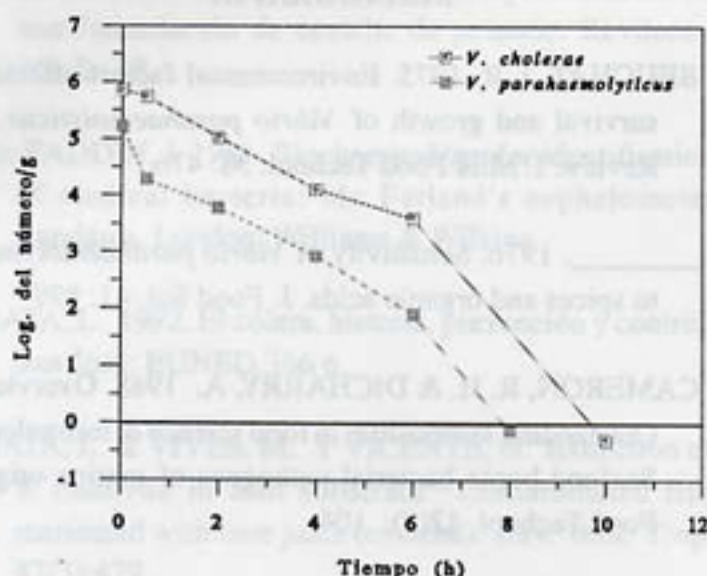


Figura 5. Supervivencia promedio del *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* en ceviche (cargas inoculadas con 10^6 y 10^3 UFC/g; $T=4^\circ\text{C}$; $\text{pH}=3,5-4,0$)

DISCUSION Y CONCLUSION

Cuando una población microbiana es expuesta a un agente letal, ésta presenta una tasa de muerte que es constante y exponencial. La tasa de muerte se ve afectada por un gran número de factores, entre ellos el tipo de microorganismo, la cepa, el estado fisiológico, así como las características físicas y químicas del medio en que se encuentre. En el caso del ceviche, el principal efecto antimicrobiano lo ejerce la acidez y su acción se ve influida por la composición física y química del medio, destacándose que el medio está constituido por dos fases: una líquida y otra sólida. Esta última compuesta, principalmente, por los trozos de pescado y por lo tanto, con gran poder amortiguador.

En este caso, debe recordarse que el pescado troceado fue inoculado antes de preparar el ceviche, por lo que las

bacterias se encuentran en íntimo contacto con el pescado, existiendo la posibilidad de que penetren entre las láminas que componen el tejido muscular del pescado.

El comportamiento que presentan ambos *Vibrio* ante la alta acidez ($\text{pH } 3,5 - 4,0$) del ceviche concuerda con los resultados de varios investigadores, quienes señalan que los ácidos tienen acción bactericida sobre éstos (Beuchat, 1975; Felsenfeld, 1971; Mata, 1992). Sin embargo, en el ceviche también es válido lo encontrado por Beuchat (1976) quien informó del efecto protector que ejerce el tejido de los camarones en un coctel ácido inoculado con *V. parahaemolyticus*. Las pruebas de supervivencia en jugo de limón, las cuales fueron negativas desde el tiempo cero para ambos microorganismos, parecen corroborar lo anterior.

Si se toma en cuenta que la dosis infectiva del *V. cholerae* se ha establecido entre 10^7 y 10^9 (Cameron & Dicharry, 1988) y se analiza la Figura 3 donde se aprecia que, durante las primeras 2 h de preparado, en el ceviche inoculado con 10^6 UFC/g la población sobreviviente es del orden de 10^5 UFC/g, se deduce que existe riesgo de adquirir la enfermedad. Asimismo, luego de 6 h de preparado el ceviche conserva una población del orden de 10^3 *V. cholerae*/g, lo que implica que si se consume una pequeña porción de 100 g, se estaría ingiriendo cerca de 10^5 UFC de vibriones lo cual puede representar un riesgo para la salud.

Aún en el caso de la inoculación con 10^3 UFC/g puede existir el riesgo de enfermedad (si se toma en cuenta, entre otros factores, la edad del consumidor, el volumen de ceviche ingerido y la susceptibilidad individual), pues la población del *V. cholerae* no llega a grados no detectables sino hasta pasadas unas 6 h.

Lo anterior toma importancia en Costa Rica, pues según Jiménez y García (1993), en algunos casos, el tiempo de almacenamiento entre la preparación del ceviche y su consumo es tan corto como 15 min.

Además, es importante señalar que al encontrarse células viables, el alimento puede constituirse en fuente de contaminación cruzada con otros alimentos y como fuente de contaminación de aguas residuales. Al respecto, un estudio realizado en Lima, durante la epidemia reveló que el 66,7% de las tablas de cocina empleadas para limpiar y cortar el pescado estaban contaminadas con *V. cholerae*; encontrándose, además, la bacteria en 9,1% de los platos y el 7,14% del agua usada para el «lavado» de platos por los vendedores ambulantes (OMS, 1991).

De acuerdo con los resultados y dada la dosis infectiva de *V. parahaemolyticus*, (10^5 - 10^7), si bien la población decrece muy rápidamente, el ceviche también puede ser, eventualmente, un vehículo de infección.

No fue posible demostrar cualitativamente la presencia de ninguno de los dos *Vibrio* en 10g del producto luego de 24 h de almacenamiento a 4 °C, lo que indica que, después de este tiempo, la población ha disminuido a un grado tal que no representa riesgo para la salud.

BIBLIOGRAFIA

- BEUCHAT, L.R. 1975. Environmental factors affecting survival and growth of *Vibrio parahaemolyticus*. A Review. J. Milk Food Technol. 38: 476.
- _____. 1976. Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. J. Food Sci. 41: 899.
- CAMERON, R. H. & DICHARRY, A. 1988. Overview: Outstanding symposium in food science & technology: Seafood borne bacterial pathogens of marine origin. Food Technol. 42(3): 104.
- DE PAOLA, A., et al., 1987. Elevated temperature method for recovery of *Vibrio cholerae* from oysters (*Crassostrea gigas*). Appl. Environm. Microbiol. 53 (5): 1181.
- FELSENFELD, O. 1974. The Survival of Cholera Vibrios. In *Cholerae*. Eds. Barua, D.; Burrows, W. Cholera. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 438 p.
- FERNANDEZ, B. & RYAN M. 1983. Estudio bacteriológico de bivalvos del Golfo de Nicoya, Costa Rica. II Condición del molusco al momento de comerlo. Rev. Biol. Trop. 31 (3): 311.
- GARCIA, V.; ANTILLON, F. & GONZALEZ, L. 1986. Aislamiento de *Vibrio parahaemolyticus* en corvina (*Cynoscion squamipennis*) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. Rev. Latinoamer. Microbiol. 28: 85.
- JIMENEZ, A. V. 1991. Supervivencia y crecimiento de *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus* en ceviche de pescado. Tesis Lic. en Tecnología de Alimentos. San José: Universidad de Costa Rica.

JIMENEZ, A.V. & GARCIA, V. 1993. Determinación de una formulación de ceviche de pescado. *Reviteca* . 2(1-2): 18.

Mc FADDIN, J. 1981. Biochemical test for identification of medical bacteria: Mc Farland's nephelometer standards. London: Williams & Wilkins.

MATA, L. 1992. El cólera, historia, prevención y control. San José: EUNED 366 p.

MATA, L. & VIVES, M. Y VICENTE, G. Extinction of *V. cholerae* in acid substrata. Contaminated fish marinated with lime juice (ceviche). *Rev. Biol. Trop.* 42(3):479.

MURILLO, N. 1983. Presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en pescados del Golfo de Nicoya. Tesis Lic. en Tecnología de Alimentos. San José: Universidad de Costa Rica.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 1991. Riesgo de transmisión del cólera por los alimentos. VII Reunión Interamericana de Salud Animal a Nivel Ministerial. Washington DC OMS-OPS.

ROMERO, J.; SUAZO, R.; ESPICHAM, M. & SÁNCHEZ, R. 1991. Epidemia del cólera en el Perú: Estudio retrospectivo en el Hospital Eduardo Rebagliati Matins de Lima. *Rev. Farmacop. Terap.* (Lima). 1(1): 13-16.

WALLACE, H.; POELMA, P. & WILSON, C. 1984. Isolation and identification of *Salmonella* species. En: *Bacteriological Analytical Manual*, 6th ed, FDA.

VANDERZANT, M., & SPLITTSTOESER, V. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd ed. APHA.

Agradecimiento

Deseamos agradecer al Dr. Mario Vargas por la revisión del manuscrito y a la Vicerrectoría de Investigación de la UCR por parte del financiamiento (Proyecto # 430-90-035).