

EVALUACIÓN DEL PROCESAMIENTO POR ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS SOBRE EL POTENCIAL BIOACTIVO DE BATIDOS FRUTALES

Ocampo, Renata¹

¹Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA), FIQ, UNL
Director/a: Vignatti, Charito

Área: Ingeniería

Palabras claves: Compuestos fenólicos, Vitamina C, *Smoothies*

INTRODUCCIÓN

Los batidos vegetales o *smoothies* constituyen una opción atractiva para consumir frutas y hortalizas. Debido a su elevada concentración de nutrientes, son productos altamente susceptibles al deterioro microbiano y a la acción de enzimas, por lo que requieren la aplicación de un proceso de conservación para prolongar su vida útil. En contraposición a los tratamientos térmicos convencionales (TTC), las tecnologías que emplean altas presiones hidrostáticas (APH) inactivan las células microbianas sin alterar la calidad sensorial ni los nutrientes de los alimentos manteniendo las características de producto fresco. El tratamiento no térmico por APH consiste en aplicar presiones de entre 100 y 900 MPa durante tiempos cortos sobre un líquido, generalmente agua, que contiene los alimentos sólidos y líquidos envasados, a una temperatura más baja en comparación con los TTC y sin provocar la pérdida de calidad de los alimentos (sabor, aroma, color, nutrientes, compuestos bioactivos) (Pokhrel et al., 2022; Song et al., 2022).

Entre los compuestos bioactivos (CB) aportados por los batidos vegetales se destacan los compuestos fenólicos (CF) y el ácido ascórbico total (AAT), también conocido como vitamina C. Los CF son metabolitos secundarios presentes en vegetales y comprenden una amplia variedad de compuestos simples o polimerizados formados por uno o varios anillos aromáticos unidos a uno o más grupos hidroxilos (Quideau et al., 2011). Estos compuestos se pueden clasificar en diferentes grupos en función del número de anillos fenólicos que contienen y de los elementos estructurales que se unen a estos últimos. Estos grupos son: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos (hidrolizables y condensados), estilbenos y lignanos (Ignat et al., 2011).

Título del proyecto: ESTRATEGIAS TECNOLOGICAS SUSTENTABLES EN EL MINIMO PROCESAMIENTO DE FRUTAS Y EN EL APROVECHAMIENTO DE DESCARTES

Instrumento: CAI+D

Año convocatoria: 2020

Organismo financiador: UNL

Director/a: Pirovani, María Elida



Tanto los CF como el AAT son reconocidos antioxidantes a los cuales se les atribuye propiedades benéficas para la salud. En este sentido, algunos autores han señalado su capacidad para reducir el riesgo de padecer cáncer y enfermedades cardiovasculares (Esmeeta et al., 2022; Li y Schellhorn, 2018). En este sentido resulta interesante conocer el efecto del procesamiento por AHP sobre el contenido de compuestos bioactivos en batidos elaborados empleando frutas de interés regional como las frutillas, manzanas y naranjas.

OBJETIVO

- Evaluar el efecto de la aplicación de APH (450 y 600 MPa/ 3 min) sobre el contenido de compuestos fenólicos y vitamina C en batidos frutales.

METODOLOGÍA

Se formuló un batido frutal de manera que una porción de consumo (250 mL \cong 240 g) aporte el 100 % de los requerimientos diarios de vitamina C (90 mg) (Jacob y Sotoudeh, 2002) a base de frutilla congelada, jugo de naranja, manzana verde sin cáscara y banana (40,40,10,10%, respectivamente). Las frutas frescas, limpias y desinfectadas, fueron trituradas y homogeneizadas en un procesador de alimentos. El batido fue envasado en botellas de polietileno tereftalato (PET) de 50 mL y tratado por APH a 450 y a 600 MPa, durante 3 min en una planta Uhde (modelo HPP D6090, Uhde High Pressure Technologies GmbH, Alemania). Tanto la muestra sin tratar como las tratadas fueron liofilizadas para poder realizar la identificación y cuantificación de CF y vitamina C.

Los sólidos solubles (SS) y el pH de la muestra sin tratar fueron $10,2 \pm 0,1\%$ y $3,4 \pm 0,1$, respectivamente. Después del tratamiento con APH, los valores de SS y pH se mantuvieron sin modificaciones significativas.

Se verificó la ausencia de patógenos (*Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*) y recuento de microorganismos de descomposición por debajo de 100 UFC/g (aeróbicos mesófilos, levaduras, mohos y bacterias ácido lácticas), cumpliendo con los requisitos del Reglamento nº 2073 (2005) de la Comisión Europea y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA).

Los extractos de CF fueron preparados a partir de 0,5 g de batido liofilizado al cual se añadieron 3,5 mL de solución de extracción para CF (0,5 % ácido acético glacial en 80 % metanol: 20 % agua desionizada) y se homogeneizó la mezcla. Posteriormente, la mezcla fue tratada en baño de ultrasonido a temperatura ambiente por 15 min. Luego, se centrifugó a 4°C y 12000 g durante 15 min. Finalizado dicho procedimiento, se tomó el sobrenadante y se lo vertió en matraz de 25 mL. A continuación, se repitió el procedimiento dos veces más agregando 8 mL de solución de extracción para CF al sedimento remanente. Por último, se enrasó el volumen de extracto a 25 mL con solución de extracción para CF y se conservó a -80 °C en recipiente adecuado. Los CF se separaron e identificaron por HPLC de acuerdo con el protocolo publicado por Simirgiotis y Schmeda-Hirschmann (2010) utilizando un cromatógrafo de líquidos (LC) Prominence LC-20AT (Shimadzu Co., Kyoto, Japón) equipado con un detector de matriz de fotodiodos (PAD) y con software LabSolution para control y procesamiento de datos. La separación se realizó utilizando una columna Phenomenex Gemini de fase reversa, 25 mm x 4,6 mm, con tamaño de partícula de 5 μ m (Phenomenex, Torrance, CA, EE.UU.) y un sistema de elución con solvente en gradiente con ácido fórmico (A) al 1 % y acetonitrilo (B) según el siguiente programa: 90-75 % A durante 30

min; y luego, 75-40 % A durante 30 min a un caudal de 1 mL min⁻¹. La identificación de los compuestos fenólicos se realizó por comparación de tiempos de retención y espectros PAD con compuestos estándar puros. La cuantificación de compuestos fenólicos se realizó mediante el método del patrón externo y los resultados se expresaron en mg · 100 g⁻¹ batido.

Los extractos de AAT se prepararon a partir de 0,2 g de batido liofilizado al que se agregaron 5 mL de solución de extracción para vitamina C (30 g/L de ácido metafosfórico + 80 g/L de ácido acético glacial). La mezcla fue homogeneizada, tratada en baño de ultrasonido a 10°C durante 15 minutos y centrifugada a 4°C y 12000 g durante 15 min. A 1 mL de sobrenadante se le agregaron 0,2 mL de solución de DTT (0,005 g DTT L⁻¹ preparado en fosfato de potasio dibásico 2,58 M). La mezcla se homogeneizó usando vórtex y se dejó reposar a temperatura ambiente, en oscuridad, durante 1,5 h. Finalmente, se agregaron 4,8 mL de fase móvil de vitamina C (buffer acetato de sodio/ácido acético 0,03 M; 5% metanol) y se homogeneizó. Seguidamente, cada extracto se filtró usando filtro jeringa de Nylon de 45 µm y se conservó a -18 °C. Cada extracto se preparó por duplicado. La cuantificación se realizó mediante HPLC de fase reversa, con columna Phenomenex Gemini 5 µm, C18, a temperatura ambiente y a 266 nm. La fase móvil, en condiciones isocráticas, consistió en un buffer de acetato de sodio/ácido acético 0,03M, metanol al 5%, cuyo pH se ajustó a 5,8.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y las diferencias significativas entre medias se determinaron mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% ($p \leq 0,05$) para evaluar el efecto del tratamiento no térmico sobre los parámetros evaluados. En todos los casos, se utilizó el software estadístico Statgraphics Centurion XV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El batido sin tratar y las muestras tratadas a 450 y 600 MPa mostraron un variado perfil de compuestos fenólicos (antocianinas, flavonoides, flavanonas y ácido clorogénico). Entre las antocianinas se destacaron pelargonidin-3-O-glucósido y pelargonidin-3-O-rutinósido y entre los flavonoides, dos compuestos del tipo flavonoles, kaempferol-3-O-glucósido y kaempferol-3-O-glucurónido, que fueron aportados por la frutilla. Entre las flavanonas, se identificaron naringenin-7-O-rutinósido y hesperidin-7-O-rutinósido y su presencia se atribuye al jugo de naranja. El ácido clorogénico fue aportado por la manzana y, en menor medida, por la naranja. La Tabla 1 presenta los contenidos de los CF identificados en el batido sin tratar y tratado a 450 y 600 MPa. Los resultados muestran que la aplicación de APH no produce modificaciones significativas en los contenidos de hesperidin-7-O-rutinósido y pelargonidin-7-O-rutinósido. En cambio, para la naringenin-7-O-rutinósido, hubo una disminución del 4,4%, aproximadamente en el batido tratado a 450 MPa con respecto al batido sin tratar; mientras que, en el batido procesado a 600 MPa se produjo un incremento de 4,2% que puede asociarse a que las APH provocan la ruptura de las paredes celulares lo que lleva a una mayor extractabilidad del compuesto (Wang et al., 2012). La retención de ácido clorogénico, kaempferol-3-O-glucósido y kaempferol-3-O-glucurónido fue superior en el batido sometido a 600 MPa.

En relación con el contenido de vitamina C en el producto tratado por AHP, se observa que la retención de este compuesto es 62,1% cuando es tratado a 600 MPa; mientras que, para el producto sometido a 450 MPa la retención es 48,9%. Si bien hay una disminución importante de AAT con respecto al batido sin tratar, es importante destacar que se sigue manteniendo la premisa que una porción de la bebida (240 g) tendría un contenido superior a la dosis mínima requerida (151,4 y 192,5 mg AAT/ porción para el batido procesado a 450 y 600 MPa, respectivamente).

Tabla 1. Contenido de compuestos bioactivos identificados en el batido frutal sin tratar y tratado por APH.

Compuesto bioactivo (mg CF /100 g batido)	Tratamiento aplicado		
	Sin tratamiento	450 MPa/3 min	600 MPa/3 min
Naringenin-7-O-rutinósido	4,06 ± 0,12 b	3,88 ± 0,07 a	4,23 ± 0,07 c
Hesperedin-7-O-rutinósido	14,85 ± 0,59 a	14,20 ± 0,02 a	14,35 ± 0,06 a
Ácido clorogénico	3,73 ± 0,07 c	2,29 ± 0,22 a	3,29 ± 0,05 b
Kaempferol-3-O-glucósido	0,27 ± 0,01 b	0,18 ± 0,01 a	0,20 ± 0,03 a
Kaempferol-3-O-glucurónido	0,56 ± 0,06 b	0,48 ± 0,01 a	0,51 ± 0,03 a
Pelargonidin-3-O-glucósido	9,14 ± 0,62 b	6,39 ± 0,07 a	6,44 ± 0,07 a
Pelargonidin-3-O-rutinósido	0,62 ± 0,03 a	0,61 ± 0,01 a	0,61 ± 0,01 a
Ácido ascórbico total	129,1 ± 11,0 b	63,1 ± 0,1 a	80,2 ± 10,8 a

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre la muestra tratada y sin tratar.

CONCLUSIONES

El tratamiento con altas presiones a 450 y 600 MPa de un batido frutal a base de frutilla, jugo de naranja, manzana y banana, retiene en un 100 % el contenido de hesperidin-7-O-rutinósido y pelargonidin-7-O-rutinósido y una porción del mismo aseguraría los requerimientos diarios de vitamina C para un adulto (90 mg). Estos resultados forman parte de un trabajo integral que determinará también la estabilidad en el almacenamiento refrigerado de los compuestos bioactivos evaluados en este estudio.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Esmeeta, A., Adhikary, S., Dharshnaa, V., Swarnamughi, P., Ummul Maqsummiya, Z., Banerjee, A., Pathak, S., Duttaroy, A.K., 2022. Plant-derived bioactive compounds in colon cancer treatment: An updated review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113384.
- Ignat, I., Volf, I., Popa, V.I., 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- Jacob, R.A., Sotoudeh, G., 2022. Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutrition in clinical care*, 5(2), 66-74.
- Li, Y., Schellhorn, H.E., 2007. New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *The Journal of Nutrition*, 137(10), 2171-2184.
- Pokhrel, P.R., Boulet, C., Yildiz, S., Sablani, S., Tang, J., Barbosa-Cánovas, G.V., 2022. Effect of high hydrostatic pressure on microbial inactivation and quality changes in carrot-orange juice blends at varying pH. *LWT*, 159, 113219.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., Pouységú, L., 2011. Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621.
- Simirgiotis, M.J., Schmeda-Hirschmann, G., 2010. Determination of phenolic composition and antioxidant activity in fruits, rhizomes and leaves of the white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp. *chiloensis* form *chiloensis*) using HPLC-DAD-ESI-MS and free radical quenching techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 545-553.
- Song, Q., Li, R., Song, X., Clausen, M.P., Orlie, V., Giacalone, D., 2022. The effect of high-pressure processing on sensory quality and consumer acceptability of fruit juices and smoothies: A review. *Food Research International*, 157, 111250.
- Wang, H.Y., Hu, X.S., Chen, F., Wu, J.H., Liao, X.J., Wang, Z.F., 2006. Kinetic analysis of non-enzymatic browning in carrot juice concentrate during storage. *European Food Research and Technology*, 223(2), 282-289.