

PROYECTO DE TESIS

UTILIZACIÓN DE AGENTES ANTIMICROBIANOS Y
ANTIOXIDANTES NATURALES EN LA ELABORACIÓN DE
ALCACHOFA IV GAMA.

María Sánchez Guijarro.
Doctorado en Ingeniería y Toxicología Ambiental.

PROYECTO DE TESIS: UTILIZACION DE AGENTES ANTIMICROBIANOS Y ANTIOXIDANTES NATURALES EN LA ELABORACIÓN DE ALCACHOFA IV GAMA.

1. RESUMEN DEL PROYECTO.

El presente proyecto de tesis pretende llevar a cabo la aplicación de agentes antimicrobianos y antioxidantes para el desarrollo de alcachofa en IV gama. Se estudiará la viabilidad del uso de estos agentes antioxidantes y compuestos antimicrobianos de origen natural con el fin de, aparte de proteger la integridad físico-química y microbiológica del alimento, poder alargar la vida útil del mismo. Se optimizarán todas las condiciones de proceso, realizando un riguroso análisis del tratamiento en todas las etapas sobre las cualidades y propiedades del producto mínimamente procesado. También se evaluará el uso de diferentes atmósferas modificadas protectoras. Una vez llevado a cabo el diseño del alimento de IV gama a nivel piloto, se procederá a la elaboración de protocolos de trabajo para su implantación a nivel industrial.

El producto pretende ser una alternativa a las alcachofas congeladas o en conserva que actualmente se ofertan en el mercado, para presentar un producto mínimamente procesado manteniendo las características originales del producto fresco. El consumidor demanda productos frescos, saludables, de calidad y de fácil preparación, conservando sus características en lo nutricional y organoléptico.

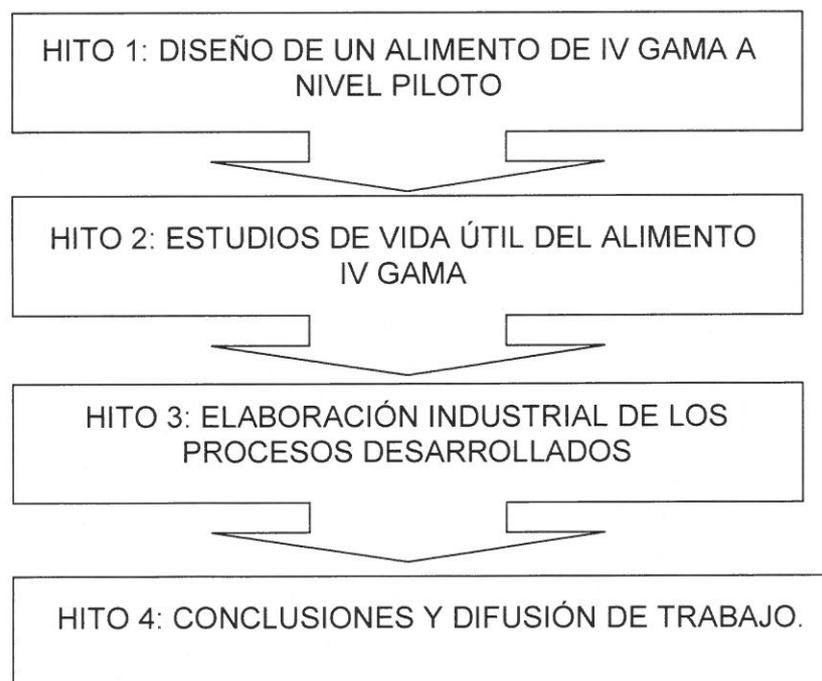


Figura 1. Esquema desarrollo del plan de trabajo del proyecto.

2. OBJETIVOS CIENTÍFICOS

El objetivo principal que se aborda en este proyecto es el diseño de un proceso integral de elaboración de alcachofa mínimamente procesada en envases plásticos, lista para su consumo, almacenadas en condiciones de refrigeración sin adición de ningún líquido de cobertura y con una vida útil suficiente para permitir la comercialización del mismo. Para tal fin, se estudiará la aplicación de agentes antimicrobianos y antioxidantes naturales, sustituyendo los de origen químico que se utilizan en la actualidad, sobre la alcachofa con el objeto de alargar la vida útil del producto ralentizando los fenómenos oxidativos implicados en el deterioro de los vegetales mínimamente procesados. Se trata de desarrollar una serie de estrategias combinadas con acciones sinérgicas que potencien el efecto conservador sobre la alcachofa mínimamente procesada (recubrimientos +antioxidantes/antimicrobianos + atmósferas modificadas).

2.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Para alcanzar este objetivo principal se han establecido los siguientes objetivos específicos:

- Diseño de formulados que integren principios activos naturales antioxidantes y/o antimicrobianos en el procesado de elaboración de la alcachofa IV Gama, con el fin de evitar posibles podredumbres postcosecha así como oxidaciones enzimáticas intensas tras el troceado de alcachofa fresca.
- Determinación de las condiciones óptimas de empleo de estos agentes naturales en su uso a nivel industrial: Concentración umbral; Temperatura; Modo y Tiempo de aplicación; Tiempo y temperatura de secado, Rendimiento.
- Caracterización de la estabilidad (físicoquímica y microbiológica) de los formulados diseñados y comprobación de la mejora de la eficacia desarrollada, comparando con procesos en los que se utilizan agentes antimicrobianos y antioxidantes de origen químico.
- Estudio del efecto de la aplicación de los agentes naturales antioxidantes y antimicrobianos sobre las características sensoriales de las alcachofas mínimamente procesadas: Color; Sabor; Aroma y sobre las características físico-químicas. Se analizarán los siguientes parámetros físico-químicos de este nuevo tipo de alimento: Textura, Peso y calibre; Color; Acidez valorable, gases en el espacio de cabeza y pH.
- Caracterizar desde un punto de vista microbiológico y físicoquímico la estabilidad del producto acabado.

3. ANTECEDENTES.

Debido a las nuevas tendencias y cambios en los hábitos de consumo y la constante aparición en el mercado de nuevos alimentos, la problemática de la conservación de un producto como la alcachofa en fresco ó mínimamente procesada, y la importancia de la producción agrícola e industrial de este cultivo en España, hace necesario el desarrollo de proyectos de investigación que aborden la innovación y desarrollo tecnológico de nuevas presentaciones y elaborados de alcachofa.

El uso de agentes antimicrobianos y antioxidantes naturales es una nueva herramienta para frutas y verduras frescas cortadas ya que pueden modificar el intercambio gaseoso del producto, controlar la pérdida de agua y deshidratación superficial de los tejidos vivos, ser buenos portadores de agentes conservantes, además de ser una alternativa de envasado natural y biodegradable, lo que los convierte en una técnica innovadora para la conservación de la calidad y extensión de la vida útil de este tipo de alimento.

Aunque el estudio de agentes naturales en frutas y verduras mínimamente procesadas ha tenido un creciente auge en los últimos años, el interés se centra actualmente en la búsqueda de compuestos que interaccionen efectivamente con la superficie del producto cortado, que permitan una modificación de los gases internos, y sobre todo, que no interaccionen con las características sensoriales del producto.

El mercado carece de alcachofas frescas mínimamente procesadas, debido a que presentan un pardeamiento enzimático especialmente intenso y las tecnologías que han funcionado para otros productos, no han resultado aplicables a la alcachofa hasta el momento. Por tanto, el desarrollo resulta especialmente difícil para este producto y requiere de un estudio más exhaustivo para poder disponer de un proceso de elaboración eficaz para las alcachofas de IV Gama y con fechas de caducidad aceptables.

No todos los alimentos pueden, por sus características, ser utilizados para su distribución como "cuarta gama", destacando principalmente hortalizas (lechugas, zanahorias, tomates, espinacas, rábanos, espárragos, ajos, alcachofas, apios y puerros) y, aunque en menor medida, algún tipo de frutas (sandías, naranjas o manzanas).

De toda la producción de productos de "cuarta gama", las mezclas de ensaladas constituyen actualmente un 80%, y el 20% restante corresponde a otros productos como la col blanca y roja, apio rallado, zanahoria y ensaladas de frutas. El mercado carece de algunos productos como es el caso de la alcachofa en fresco, laminada o en cascos. Las alcachofas que se encuentran en el mercado son alcachofas congeladas

o en conserva, pero, estas elaboraciones nada tienen que ver con el producto fresco y son además diferentes en sabor y textura. También los productos de “cuarta gama” elaborados a partir de frutas se encuentran en la actualidad poco desarrollados, mostrando, sin embargo, un amplio abanico de posibilidades.

Una de las características que presentan estos nuevos alimentos de IV Gama es que no han sufrido un tratamiento térmico por lo que su fecha de caducidad no sobrepasa los 10 días habitualmente, lo que obliga a su conservación en refrigeración (a temperaturas inferiores a 10°C). Sin embargo, el desarrollo de este nuevo tipo de productos está siendo frenado por la existencia de diversos problemas que serán abordados en este proyecto de tesis de investigación.

4. METODOLOGÍA

La metodología a seguir en el proyecto la he dividido en dos grandes grupos:

- Metodología para la elaboración de alcachofa en cuarta gama.
- Metodología analítica según los tres tipos de análisis principales que se van a realizar: sensorial, físico-químico y microbiológico; y acorde con los objetivos marcados previamente

4.1. METODOLOGÍA DE ELABORACIÓN DE ALCACHOFA EN CUARTA GAMA.

4.1.1. Elección de los agentes naturales para su aplicación en la elaboración de alcachofas en IV Gama

Se realizará una selección inicial de los agentes antimicrobianos y antioxidantes comerciales, ya existentes en el mercado más apropiados. En cada caso, se dedicará especial atención a la puesta a punto de la metodología o técnicas para la correcta aplicación de los agentes naturales a utilizar, así como de los films, temperatura de proceso y condiciones de secado (humedad y temperatura).

4.1.2. Diseño y optimización de protocolos para la manipulación y preparación de corazones con una incidencia mínima sobre sus características químico físicas.

Puesto que en este tipo de preparados no se va a realizar el tratamiento tradicional de choque térmico o escaldado para prevenir oxidaciones, si no que se pretende estudiar el uso de agentes naturales que eviten estas oxidaciones, sin variar las características sensoriales de la alcachofa, será preciso diseñar las condiciones y maquinaria para

una manipulación cuidadosa de las alcachofas, rediseñando líneas de transporte, máquinas de pelado, sistema de almacenamiento en tanque pulmón, entre otros procesos, así como fijar los parámetros de proceso, tiempos, temperaturas aplicación de los recubrimientos, gases a emplear, etc.

Para la comprobación de la eficacia del uso de agentes naturales antimicrobianos y antioxidantes naturales sobre la vida útil de la alcachofa IV Gama, se elaborará una alcachofa mínimamente procesada utilizando la tecnología convencional de procesado en IV Gama con la utilización de antimicrobianos químicos, como los hipocloritos y sus derivados, y como agente antioxidante químico el ácido ascórbico.

4.1.3. Selección de los envases y atmósferas de envasado.

Se estudiará el comportamiento de distintos tipos de envase tanto en su adecuación para la conservación del producto, como en cuanto a su presentación comercial, así como los gases a utilizar en el espacio de cabeza para alargar al máximo la vida comercial del alimento.

4.1.4. Comportamiento durante el almacenamiento y estudio de la vida útil del producto.

Se realizará el estudio de las características químico-físicas y de la potencial microbiota contaminante, relacionadas con la calidad organoléptica y nutricional, en el primer caso, y con la seguridad microbiológica para el consumidor, en el segundo. La definición de estos parámetros, combinados con las condiciones de almacenamiento y transporte, permitirán definir la vida útil del producto.

4.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA:

4.2.1. Análisis sensorial del producto.

Cuando se desea dar respuesta a un problema relacionado con las características sensoriales de un alimento, se elegirán aquellas pruebas que mejor se adecuen a la resolución del problema planteado^I. Las pruebas que se utilizarán para analizar las propiedades sensoriales de los productos hortofrutícolas así como las preferencias del consumidor por estos productos serán las siguientes:

- **PRUEBAS DISCRIMINATIVAS:** permiten establecer si existen diferencias entre dos o más muestras, pero sin indicar la magnitud ni el sentido de la diferencia^{II}. Están especialmente indicadas para las siguientes determinaciones^{III}:
 - Establecer si existen diferencias entre dos o más muestras
 - Controlar la calidad de un producto
 - Determinar el efecto de las cambio en el proceso de elaboración en las materias primas, en la sustitución de un ingrediente, etc.

Las pruebas discriminativas más frecuentes son las siguientes (UNE 87-001-94):

- Prueba de comparación por parejas. Prueba en la que se presentan las muestras agrupadas por parejas, con objeto de compararlas entre sí según atributos definidos.
- Prueba triangular . Prueba de diferencias en la que se presentan tres muestras marcadas en clave, dos de las cuales son idénticas. El juez deberá indicar cuál de las muestras es diferente.
- Prueba dúo-trío . Prueba de diferencias en la que se presenta en primer lugar una muestra de referencia. A continuación se presentan dos muestras, una de las cuales es la de referencia; el juez debe identificar ésta.
- Prueba “dos de cinco”. Prueba de diferencias en la que se presentan cinco muestras marcadas en clave, de las cuales dos pertenecen a un lote y tres a otro. El juez debe agrupar los dos juegos de muestras.
- Prueba “A/noA” . Prueba en la que varias muestras que puedan ser “A” o no serlo se presentan a los jueces consultados una vez que estos han aprendido a reconocer la muestra “A”. Estos han de indicar si cada una de las muestras es “A” o no lo es.

- PRUEBAS DESCRIPTIVAS: son las que permiten establecer no sólo si hay diferencias entre dos o más muestras, sino también el sentido o magnitud de la mismas ^{IV}, a la vez que establecen un verdadero perfil de identidad sensorial^V. AENOR^{VI}, contempla dos normativas, en función de si el perfil sensorial a establecer es olfato-gustativo (flavor) o de textura:

- La norma UNE 87017-92 describe una metodología para establecer el perfil olfato gustativo (flavor) a partir de una serie de métodos que permiten describir evaluar las propiedades olfato-gustativas de los alimentos por medio de catadores entrenados y cualificados.

- La norma UNE 87025-96 describe una metodología para realizar el perfil de textura e incluye las diferentes etapas del proceso a seguir para describir completamente la textura de un producto.

Otros perfiles que en función del objetivo planteado podremos utilizar son:

- Perfil cuantitativo del flavor^{VII}
- Perfil de textura
- Perfil de libre elección
- Método de tiempo-intensidad^{VIII}.

- CARTOGRAFÍA DE PREFERENCIAS: permiten establecer una relación entre la identidad sensorial del producto analizado (perfil sensorial) y las preferencias del

consumidor, de modo que se puedan identificar que atributos son los más relevantes en el comportamiento del consumidor^{IX}.

4.2.2. Metodología a emplear en el análisis físico-químico.

▪ Determinación de la textura.

Los ensayos de medida instrumental de la textura de los vegetales empleados en la elaboración de los productos de cuarta gama se realizarán con un analizador de textura TA-XT2i (Aname, Madrid) con una célula de carga de 25 kg, conectado a un ordenador. Se efectuarán, en principio, dos tipos de ensayos^X:

1) Ensayo de punción (TP). Se realizará con sondas cilíndricas de 2.5 ó 5.0 mm. Se trabajará con velocidades de deformación de 10 mm min⁻¹ hasta una deformación relativa del 75 %.

2) Ensayo de compresión-cizalla (TCC). Se llevará a cabo con la sonda Kramer y consiste en la aplicación combinada de un esfuerzo de presión-cizalla. Se trabajará con una velocidad de deformación de 100 mm min⁻¹ hasta corte total de la muestra.

Otros ensayos físico-químicos:

▪ Determinación del pH

La medida del pH consiste en el cálculo de la concentración de iones hidrógeno libres de la muestra a través de una medida potenciométrica y su posterior conversión a una escala logarítmica. El equipo utilizado es un pH metro Crison basic 20 (Barcelona), con una precisión de 0,01 unidades de pH. La verificación se efectúa antes de comenzar el ensayo, siguiendo las instrucciones del fabricante ^{XI}.

▪ Medida gases

Determinación de los gases contenidos en el envase utilizando un equipo Ccheckmate 9900 (Gomensoro-Barcelona). Mide el % de O₂ y de CO₂.

▪ Determinación de la acidez

Se define la acidez valorable como la medida del contenido en ácidos minerales y orgánicos determinada por valoración potenciométrica con solución volumétrica patrón de hidróxido de sodio hasta viraje del indicador fenolftaleína. Los reactivos utilizados son una solución valorada de hidróxido sódico 0,1N, y una solución indicadora de fenolftaleína (1% m/v)^{XII}.

4.2.3. Metodología a emplear en el análisis microbiológico.

▪ Recuento de microorganismos aerobios mesófilos.

Basado en el recuento total de la flora microbiana presentes en el alimento, capaz de multiplicarse en aerobiosis a temperatura entre 25°C y 40°C, pero sin especificar tipos de gérmenes.

Procedimiento: a partir de la serie de diluciones decimales y por duplicado, depositar con pipeta estéril, 1 mL de cada dilución en otras tantas placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro.

Añadir a cada placa 15-20 mL de PCA (Plate Count Agar) previamente licuado y atemperado a 47°C.

Mezclar perfectamente medio e inóculo sobre la mesa de trabajo, haciendo movimientos circulares con la placa, a favor y en contra del sentido de las agujas del reloj y en forma de cruz, evitando al mismo tiempo que el medio impregne la tapa.

Dejar solidificar el agar de las placas sobre una superficie horizontal.

Cuando se ha solidificado perfectamente el agar, se invierten las placas y se introducen en la estufa, evitando que se apilen en exceso y que entren en contacto con sus paredes. Incubar a $31\pm 1^\circ\text{C}$ durante un periodo de 72 horas.

Transcurrido el tiempo de incubación, se cuentan las colonias en aquellas placas que muestren entre 30 y 300 colonias aisladas.

El número total de colonias contadas, multiplicado por el factor de dilución de la placa elegido, da como resultado el recuento total de gérmenes por gramo o mililitro de la muestra analizada^{XIII}.

▪ **Recuento de hongos filamentosos y levaduras.**

Se estima la flora total de hongos filamentosos y levaduras presentes en el alimento. Procedimiento igual que el recuento de aerobios mesófilos pero utilizando el medio de cultivo RB, rosa de bengala^{XIV}.

5. PLAN DE TRABAJO Y CRONOGRAMA

El plan de trabajo propuesto para la realización del proyecto se estructura según los siguientes hitos que llevan asociadas unas actividades que a continuación se detallan:

HITO 1: DISEÑO DE UN ALIMENTO DE IV GAMA A NIVEL PILOTO.

El desarrollo de este hito tiene como finalidad la formulación y aplicación de distintos agentes naturales antimicrobianos y antioxidantes que permita la elaboración de corazones de alcachofa minimamente procesada. Para ello, se estudiarán distintas composiciones comerciales de agentes naturales y se determinarán cuales de ellas son susceptibles para su utilización industrial determinando las condiciones de procesado y envasado de la alcachofa, comparándola siempre con elaboraciones de alcachofa IV Gama en la que se utilizarán agentes antimicrobianos y antioxidantes convencionales, como derivados de los hipocloritos y ácido ascórbico, que se están utilizando en la actualidad para el procesado de alimentos minimamente procesados (IV Gama). Se estudiarán distintos tipos de films de envasado con distintas permeabilidad a los gases, así como distintos tipos de gases que aumenten la vida útil del alimento.

H1A1. Elección de los agentes naturales.

H1A2. Optimización de las condiciones de proceso.

H1A3.- Procesado y envasado de alcachofa IV Gama.

HITO 2: ESTUDIOS DE VIDA ÚTIL DEL ALIMENTO IV GAMA

En esta fase del proyecto se realizará la determinación de la vida útil de la alcachofa elaborada con agentes naturales y conservada en condiciones de refrigeración. La comprobación de la eficacia del uso de recubrimientos se llevará a cabo comparando la vida útil obtenida para la alcachofa procesada con agentes naturales, con la vida útil de la alcachofa procesada de forma convencional (utilizando agentes antioxidantes y antimicrobianos químicos).

H2A1. Análisis sensorial

H2A3. Análisis físico-químico

H2A4. Análisis microbiológico

HITO 3: ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE LOS PROCESOS DESARROLLADOS

Elaboración de unos protocolos de trabajo que permitan la aplicación directa de los resultados de investigación realizados para la implantación industrial del proceso de formulación, elaboración y envasado de los alimentos listos para su distribución comercial.

Obtención de cantidades escaladas de los agentes naturales seleccionados necesarias para la realización de los ensayos a nivel industrial.

HITO 4: CONCLUSIONES Y DIFUSIÓN DE TRABAJO.

Difusión en congresos

Publicación de artículos sobre los resultados del proyecto.

CRONOGRAMA

		CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES, HITOS Y EVENTOS (Diagrama de Gantt)																							
		AÑO 1												AÑO 2											
		E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
HITOS	1.- DISEÑO DE UN ALIMENTO DE IV GAMA A NIVEL PILOTO																								
	2.- ESTUDIO DE VIDA UTIL DEL ALIMENTO IV GAMA																								
	3.- ELABORACION INDUSTRIAL DE LOS PROCESOS																								
	4.- CONCLUSIONES Y DIFUSION DE TRABAJO																								

6. APORTACIÓN ORIGINAL

La sociedad española actual sufre una evolución notable en los hábitos alimentarios como consecuencia del impacto de los nuevos estilos de vida que han condicionado la organización familiar. Teníamos hasta ahora, tres diseños emergentes, hogares formados por adultos independientes (6,6% de la población) que compran comida preparada y mínimamente procesada; parejas adultas sin hijos (9,2% de la población) sensibles a los precios bajos y, el grupo de jóvenes independientes (4,5% de la población) con un menor peso poblacional y, que están dispuestos a pagar por soluciones que les ahorren tiempo. En cuanto al consumo diferencial en los hogares mayoritarios, los retirados (21,5% de la población) son sensibles a los precios bajos, las parejas con hijos de edad media (19,5% de la población) y, las parejas con hijos pequeños que suponen el 17% de la población (los niños presentan un importante papel prescriptor en la compra familiar) generan el ticket de alimentación más elevado, eligiendo sus comidas por placer y, pagarían a cambio de tiempo (M.A.P.A., 2006).

Sin embargo, los datos del 2007 recogen que los hogares españoles están experimentando cambios significativos en los últimos años. Aparecen más hogares con adultos mayores de 50 años, más personas viviendo solas y, más hogares sin niños. Se observa como, en el estudio realizado por el M.A.P.A, la nueva tipología de consumidores repercute también en los hábitos, todos ellos valoran el tiempo y la comodidad a la hora de comprar y, se muestran preocupados por su salud. A la hora de elegir alimentos aumenta la importancia de que éstos sean sanos, saludables, rápidos y cómodos de preparar, en relación a años anteriores (M.A.P.A., 2007).

La introducción de nuevas variedades y nuevos formatos se traduce en un incremento del consumo, como ha sucedido con diferentes variedades de lechuga. Así, como la mejora en la presentación y la higiene de productos tradicionales como espinacas y la acelga, cuyo consumo se ha revitalizado gracias a la presentación que ofrecen los productos de IV Gama.

Al no existir competencia actual en el mercado de productos mínimamente procesados, elaborados a base de alcachofa, que se diferencien de la conserva tradicional, este proyecto supondría la incorporación de un nuevo producto en un sector de gran auge en la actualidad, que es el de la cuarta gama.

6. BIBLIOGRAFIA

^I Carpenter, P.R. 2002. Análisis Sensorial en el Desarrollo y Control de la Calidad de Alimentos. Ed. Acribia (Zaragoza). Capítulo I(pp1-9), Capítulo III(pp388), Capítulo VI (pp87 -109).

^{II} Costell, E.; Durán, L. (2000). Análisis sensorial en hortofrutícolas. En: *Análisis sensorial de productos alimentarios. Metodología y aplicación al mercado español*. Madrid, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

^{III} Fischer, U.; Dupin, I. (2000). Sensory properties. II. Great difference-no effect?. *Deutsche Winmagazin*. 14: 32-36.

^{IV} • Velez, C., Izquierdo, L. y Costell, E. (1990). Análisis sensorial del aroma de los zumos de frutas. *Rev. Agroquím. Technol. Aliment.* 30 (1): 23-40.

^V • Urdapilleta I. (2001). Les épreuves descriptives et discriminatives. En: *Traité d'évaluation sensorielle*. Urdapilleta I, Ton Nu C, Saint Denis C, Huon de Dermadec F. (eds). Dunod, París.

^{VI} AENOR. Análisis sensorial. Tomo 1. Alimentación Recopilación normas UNE. Edita AENOR 1997.

^{VII} • Stampanoni C (1993). The "Quantitative Flavor Profiling Technique". *Perfumer & Flavour*, 18: 19-24.

^{viii} • Stampanoni-Koeferli C, Piccinali P, Sigrist S (1996). The influence of fat, sugar and non-fat milk solids on selected taste, flavor and texture parameters of a vanilla ice cream. *Food Qual Prefer*, 7(2): 69-79.

^{ix} • Belin-Batard, E. (2001). Expliquer les préférences des consommateurs par l'identité sensorielle des produits. En : *Traité d'évaluation sensorielle. Aspects cognitifs et métrologiques des perceptions*. Urdapilleta, I. ; Ton Nu, C. ; Saint denis, C. ; Huon de Dermadec, F. (Eds). Paris, Dunod.

^x *Textura de los alimentos. Medida y percepción* Andrew J. Rosenthal. Edit. Acribia 2001.

^{xi} (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1985).

^{xii} (Norma EN 1133, 1994)

^{xiii} Ministerio de Sanidad y Consumo, 2000.

^{xiv} Ministerio de Sanidad y Consumo, 2000.

