



INACTIVACIÓN TÉRMICA DE PECTINMETILESTERASA: VALIDACIÓN DE MODELOS OBTENIDOS EN BATIDOS A BASE DE NARANJA Y TOMATE

Gomila, Micaela

Instituto de Tecnología de Alimentos – FIQ - UNL
Director: Van de Velde, Franco

Área: Ingeniería

Palabras claves: Inactivación de pectinmetilesterasa, Tratamientos térmicos, Batidos de naranja y tomate.

INTRODUCCIÓN

Los batidos son productos vegetales formados por una fase líquida -que tiene pectina y otros compuestos en solución- y una matriz dispersa (pared celular). La obtención de la textura característica de un batido implica romper la estructura celular vegetal, esto favorece el contacto de las enzimas con sus sustratos. La pectinmetilesterasa (PME; EC3.1.1.11) hidroliza los enlaces éster de la pectina ocasionando pérdida de turbidez, separación de fases y ruptura de la nube característica de las bebidas frutales. La aplicación de tratamientos térmicos contribuye a minimizar la actividad de esta enzima favoreciendo la aceptación del consumidor.

En este trabajo se determinó la cinética de inactivación de PME con el objetivo de mejorar la estabilidad de batidos a base de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y naranja (*Citrus sinensis*).

METODOLOGÍA

Se utilizaron frutos, tomate (*Lycopersicon esculentum*) y naranja (*Citrus sinensis*), adquiridos en comercios de la ciudad de Santa Fe.

La extracción de PME se realizó aplicando variantes de la técnica propuesta por Vicente et al. (2005). Los extractos fueron tratados térmicamente en baño termostático a temperaturas constantes ($T \pm 0,5$ °C) entre 55 y 80 °C, durante un tiempo total de 1 a 60 minutos, dependiendo de la temperatura. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

La actividad enzimática inicial y residual (AR) de los extractos tratados térmicamente se determinó a partir de la disminución de absorbancia en el tiempo, a 620 nm, en una mezcla de reacción compuesta por 300 μ L pectina 0,5 %, 300 μ L azul de bromotimol 0,01% preparado en buffer 3 mM y 400 μ L extracto según la Ec. (1):

$$AR[\%] = \frac{A}{A_0} \cdot 100 \quad (1)$$

donde: A, es la actividad enzimática del extracto sometido a un tratamiento térmico a la temperatura T [°C] durante t [min]; y, A₀, es la actividad enzimática inicial.

Las curvas experimentales de inactivación térmica fueron ajustadas considerando dos modelos, uno, donde la actividad residual sigue una cinética de primer orden (Ec. (2)) y, otro, bifásico, que supone la presencia de dos isoenzimas, una lábil y otra resistente (Ec. (3)).

$$AR[\%] = e^{-kt} \cdot 100 \quad (2)$$

Título de la PEI: "Cinética de inactivación térmica de la enzima pectinmetilesterasa en frutas".

CAID PJ 50020150100032LI "Impacto de Nuevas Tecnologías de Conservación Postcosecha sobre los Atributos de Calidad y el Aporte de Compuestos Bioactivos de Frutas Finas del Centro-Este de Santa Fe" 2016

Organismo financiador: UNL

Director: Van de Velde, Franco

siendo: k , la constante de inactivación térmica;

$$AR[\%] = \left[\frac{A_{lo} \cdot e^{-k_l t}}{(A_{lo} + A_{ro})} + \frac{A_{ro} \cdot e^{-k_r t}}{(A_{lo} + A_{ro})} \right] \cdot 100 \quad (3)$$

$$f = \frac{A_{lo}}{(A_{lo} + A_{ro})} \quad (4)$$

$$AR[\%] = [f \cdot e^{-k_l t} + (1-f) \cdot e^{-k_r t}] \cdot 100 \quad (5)$$

donde: k_l , es la constante de inactivación térmica para la fracción lábil; k_r , es la constante de inactivación térmica para la fracción resistente; y, f , es el parámetro que indica la relación entre las actividades de la fracción lábil y de la enzima.

A partir de las constantes de inactivación térmica (k), correspondientes al modelo seleccionado, para cada producto se calcularon los valores de energía de activación (E_a) realizando la regresión lineal de la expresión de Arrhenius.

El tiempo de reducción decimal (D_T) representa el tiempo necesario, a una temperatura dada, para reducir en un 90 % la actividad enzimática inicial. Para las reacciones de primer orden, el valor D_T es inversamente proporcional a la constante de inactivación a una dada temperatura, Ec. (6). Las constantes de resistencia térmica (z) se determinaron a partir de la representación gráfica de $\log D_T$ en función de la temperatura.

$$D_T = \frac{\ln 10}{k_T} \quad (6)$$

La validación de los modelos obtenidos se realizó tratando batidos de tomate, jugo de naranja y batidos formulados con una parte de tomate y dos partes de naranja envasados en botellas de vidrio de 250 mL en equipo *ad hoc* con baño de agua a 80 °C. Durante el tratamiento térmico, el seguimiento de la temperatura en el punto frío del producto permite verificar el valor de inactivación enzimática de proceso ($I_{proceso}$, Ec. (7)), y compararlo al requerido ($I_{requerido}$). El valor de inactivación requerido se define como el tiempo de tratamiento térmico necesario para reducir la actividad enzimática a una temperatura constante de referencia (T_R), según Ec. (8). Para los tres productos, el $I_{requerido}$ fue calculado para reducir la actividad enzimática de PME en un 90 %.

$$I_{proceso} = \int_0^t 10^{\frac{(T-T_R)}{z}} dt \quad (7)$$

$$I_{requerido} = D_{T_R} (\log A_o - \log A) \quad (8)$$

donde: T , es la temperatura a un tiempo dado t ; T_R , es 80 °C; y, D_{T_R} , es el tiempo de reducción decimal a la temperatura constante de referencia.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

En las Figuras 1 y 2 se presenta la actividad residual de la enzima PME en función del tiempo en tomate y naranja, respectivamente.

La inactivación térmica de PME en tomate se describió mejor usando el modelo bifásico, donde las constantes cinéticas, k , para la fracción lábil se encontraron entre 0,124 y 0,920 min^{-1} ; y, entre 0,000 y 0,062 min^{-1} para la fracción resistente (Tabla 1). A partir de los valores de k se calcularon los tiempos de reducción decimal para cada fracción a cada temperatura.

Tabla 1. Constantes cinéticas de inactivación térmica de PME para los modelos de primer orden y bifásico y tiempos de reducción decimal para modelo bifásico en extracto enzimático de tomate.

T [°C]	Modelo 1 ^{er} orden			Modelo bifásico					
	k [min ⁻¹]	R ²	k _r [min ⁻¹]	D _r [min]	k _r [min ⁻¹]	D _r [min]	f	1-f	R ²
55,0	0,004	0,485	0,124	19,2	0,000	-	0,246	0,753	0,774
57,5	0,038	0,861	0,250	9,2	0,009	230,3	0,523	0,476	0,997
60,0	0,018	0,926	0,511	4,5	0,015	115,1	0,211	0,788	0,976
72,5	0,192	0,671	0,920	2,5	0,007	230,3	0,992	0,007	0,983
80,0	0,200	0,795	0,880	2,6	0,062	38,4	0,975	0,025	0,996

En cuanto a la naranja, la inactivación térmica siguió una cinética de primer orden y las *k* se incrementaron desde 0,005 a 0,102 min⁻¹ con el aumento de temperatura (Tabla 2). Los valores de *D* obtenidos varían entre 460,5 y 22,6 min en el rango de temperatura estudiado. Aghajanzadeh et al. (2016) informaron valores de *D* entre 152 y 22 min cuando la temperatura varía entre 60 y 90 °C para una cinética de primer orden.

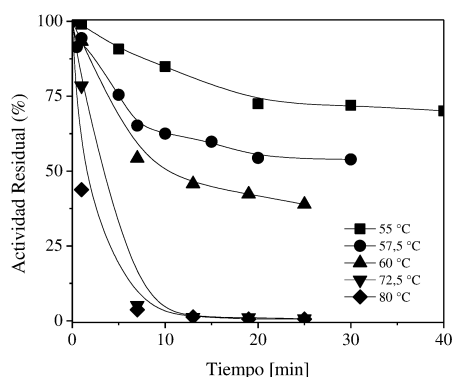


Fig.1. Actividad residual de PME en extracto de tomate.

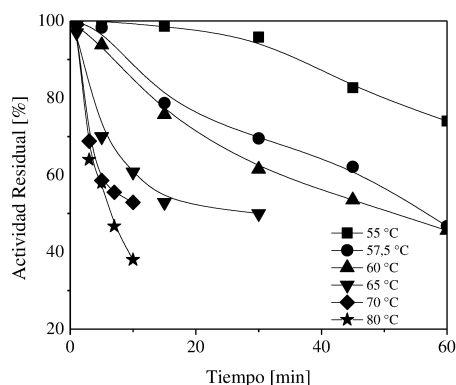


Fig.2. Actividad residual de PME en extracto de naranja.

Tabla 2. Constantes cinéticas de inactivación térmica de PME para los modelos de primer orden y bifásico y tiempos de reducción decimal para modelo de primer orden en extracto enzimático de naranja.

T [°C]	Modelo 1 ^{er} orden			Modelo bifásico				
	k [min ⁻¹]	D [min]	R ²	k _r [min ⁻¹]	k _r [min ⁻¹]	f	1-f	R ²
55,0	0,005	460,5	0,893	No ajusta a datos experimentales.				
57,5	0,012	188,7	0,974	No ajusta a datos experimentales.				
60,0	0,013	174,4	0,982	No ajusta a datos experimentales.				
65,0	0,023	99,2	0,763	0,250	0,000	0,509	0,491	0,982
70,0	0,070	32,8	0,852	0,480	0,000	0,496	0,504	0,915
80,0	0,102	22,6	0,956	0,230	0,020	0,612	0,388	0,938

En la Tabla 3 se presentan los valores de *E_a* calculados a partir de la linealización de la expresión de Arrhenius. Para tomate, las *E_a* para las fracciones lábil y resistente fueron 68,1 y 48,8 kJ/mol, respectivamente. Los valores *z* obtenidos fueron 32,9 °C (lábil) y de 45,3 °C (resistente). En bibliografía, las constantes de resistencia térmica informadas varían entre 4,5 y 32,0 °C (Anthon et al., 2002; Nath et al., 1983). Por otra parte, para naranja, la *E_a* y el valor *z* resultaron 113,9 kJ/mol y 19,6 °C, respectivamente. Ingallinera et al. (2005) reportaron valores *z* similares, 21,5; 16,7 y 17,2 °C, en jugo de naranja de variedades Navel, Sanguinello y Moro.

Los $I_{requerido}$ para que la actividad de PME en batidos de tomate, jugo de naranja y batidos mezcla tomate/naranja sea inferior a 10 % se calcularon usando los tiempos de reducción decimal a 80 °C determinados a partir de los datos experimentales, según la Ec. (8). En el caso de los batidos formulados a base de tomate se empleó el D de la fracción resistente ($D_{r80^{\circ}C} = 38,4$ min); mientras que, para el jugo de naranja se empleó $D_{80^{\circ}C} = 22,6$ min. El monitoreo de la temperatura en el punto frío de cada producto durante el tratamiento térmico permitió realizar el seguimiento del $I_{proceso}$ (Ec. (7)), las constantes de resistencia térmica utilizadas fueron 32,9 °C para los batidos de tomate y tomate/naranja y 19,6 °C para el jugo de naranja. En todos los casos, los $I_{proceso}$ fueron superiores a los $I_{requerido}$ (Tabla 4). La actividad residual de PME en los batidos a base de tomate pasteurizados fue inferior al 3 %. Sin embargo, en jugo de naranja, la actividad residual enzimática fue 10,8 %. Probablemente, la termorresistencia de la enzima en el jugo sea superior a la correspondiente del extracto.

Tabla 3. Energías de activación y parámetros z.

TOMATE		Fracción lábil			Fracción resistente			
Modelo	E_a [kJ/mol]	R^2	z [°C]	R^2	E_a [kJ/mol]	R^2	z [°C]	R^2
bifásico	68,1	0,761	32,9	0,748	48,8	0,397	45,2	0,408
NARANJA		E_a [kJ/mol]	R^2	z [°C]	R^2			
Modelo 1 ^{er} orden	113,9	0,926	19,6	0,926				

Tabla 4. Valores de inactivación enzimática requeridos y de proceso.

	Tomate	Naranja	Tomate/Naranja
$I_{requerido}$ [min]	38,4	22,6	38,4
$I_{proceso}$ [min]	39,7	22,8	40,6
AR [%]	2,9 ± 0,2	10,8 ± 0,1	2,8 ± 0,1

Conclusiones

A partir del estudio de la cinética de inactivación térmica de PME, en tomate, se determinó la presencia de una fracción lábil y otra resistente de la enzima siendo el modelo de primer orden bifásico el que mejor describió los resultados experimentales. En cambio, en naranja, se verificó una cinética de inactivación de primer orden. Con los parámetros termocinéticos obtenidos a partir de los modelos propuestos, se calcularon valores de inactivación térmica requeridos que permitieron monitorear el tratamiento térmico de batidos a base de tomate y naranja de manera tal de reducir la actividad enzimática en más de un 90 %.

Referencias

- Aghajanzadeh, S., Ziaifar, A.M., Kashaninejad, M., Maghsoudlou, Y., Esmailzadeh, E.** (2016). *Thermal inactivation kinetic of pectin methylesterase and cloud stability in sour orange juice*. J. Food Eng., 185, 72.
- Anthon, G. E., Sekine, Y., Watanbe, N., Barret, D. M.** (2002). *Thermal inactivation of pectin methylesterase, polygalacturonase and peroxidase in tomato juice*. J. Agricultural and Food Chem., 50, 6153.
- Ingallinera, B., Barbagallo, R.N., Spagna, G., Palmeri, R., Todaro, A.** (2005). *Effects of thermal treatments on pectinesterase activity determined in blood oranges juices*. Enzyme Microb. Technol., 36 (2), 258.
- Nath, N., Rao, A., Gupta, R.** (1983). *Thermal resistance of pectinmethylesterase in juice of pusa-ruby tomatoes*. Indian Food Packer, 37, 30.
- Vicente, A.R., Costa, M.L., Martínez, G.A., Chaves, A.R., Civello, P.M.** (2005). *Effect of heat treatments on cell wall degradation and softening in strawberry fruit*. Postharvest Biol. Technol., 38, 213.