

Evaluación de las propiedades que determinan la vida útil de la pulpa de mora con inclusión de polen apícola

Camila Bernal Castro, Yamile Buitrago Camargo, Cindy Rodríguez Camacho y Martha Quicazán de Cuenca

RESUMEN

Productos como el polen apícola y la mora han demostrado tener compuestos bioactivos más allá de los nutricionales. De acuerdo a la tendencia de alimentos funcionales desarrollar un producto que combine estas propiedades despierta un gran interés en el consumidor. Sin embargo, un nuevo alimento en el mercado, requiere determinar las mejores condiciones de almacenamiento que garanticen su seguridad y calidad al ser consumido. Por ello, este estudio tuvo como objetivo evaluar todas las propiedades que influyen en la determinación de la vida útil de una pulpa de mora con inclusión de polen apícola. Se trabajaron 3 condiciones de almacenamiento (temperatura de 30 °C, 4°C y -18°C) evaluando parámetros fisicoquímicos, funcionales, sensoriales y microbiológicos. Parámetros como pH y °Brix no tienen cambios significativos con el tiempo, mientras que aroma, color y compuestos funcionales sí muestran variación. Se recomienda temperaturas de conservación de 4°C y -18°C.

Palabras Clave—Estabilidad fisicoquímica, microbiológica, sensorial, compuestos funcionales.

I. INTRODUCCIÓN

Una tendencia en la industria alimentaria que ha tomado mayor interés por parte de los consumidores, es encontrar en los alimentos no solo un alto valor nutritivo, sino un aporte de componentes bioactivos que mejoren el funcionamiento del organismo. Este tipo de alimentos funcionales han estado tradicionalmente en la dieta de los colombianos, encontrándolos en productos apícolas como el polen y frutas como la mora [1].

El polen apícola se define como el resultado de compactar el polen de las flores con néctar y sustancias salivares de las

Camila Bernal Castro: caabernalca@unal.edu.co, estudiante de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia.

Yamile Buitrago Camargo: yibuitragoc@unal.edu.co, estudiante de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia.

Cindy Rodríguez Camacho: crodriguez@unal.edu.co, estudiante de Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia.

Martha Quicazán de Cuenca: mcquicazand@unal.edu.co, profesora Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), Universidad Nacional de Colombia.

Este trabajo se realizó dentro de la asignatura de Nuevos Tópicos en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Maestría de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

abejas obreras. Esta recolección se da en las corbículas de las patas traseras y queda atrapado en la entrada de la colmena con trampas de polen para después ser deshidratado hasta un nivel adecuado que evite la fermentación espontánea [2]. Es un producto rico en azúcares, proteínas, carbohidratos, fibra dietaria, antioxidantes, vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados [3]. El conjunto de antioxidantes está constituido por sustancias como tocoferoles, provitamina A, vitamina D y fitosteroles [4].

En el caso de la mora, se ha descrito que las especies del género *Rubus*, se caracterizan por presentar un importante potencial nutraceutico, debido a que esta fruta al tener una coloración morada casi negra presenta un alto contenido de antioxidantes, siendo así una buena fuente de antocianinas [5] [6]. Esta fruta tiene un gran contenido de humedad, en promedio 91%, lo que la hace muy succulenta, jugosa, frágil a la manipulación y susceptible a la contaminación con hongos, por lo que se considera altamente perecedera en su manejo de postcosecha. En consecuencia, la industria de alimentos busca alternativas para la comercialización de este tipo de frutas obteniendo una disminución de pérdidas postcosecha mediante su procesamiento, como la elaboración de pulpas y concentrados, los cuales tiene un papel importante en la fabricación de bebidas, jaleas, mermeladas, entre otros [7].

Basados en las propiedades bioactivas del polen y la mora se ha buscado el desarrollo de un producto con mayor valor agregado y con un potencial nutricional. Muchos estudios han realizado la inclusión de polen apícola en productos de panificación, barras energéticas, salsas y pulpas de frutas [8][9].

Sin embargo, el desarrollo de un nuevo producto conlleva intrínsecamente a la evaluación de la vida útil en relación a sus diferentes propiedades, con el fin de considerar algunas de ellas puntos críticos en el momento de establecer una fecha de vencimiento o de consumo preferente. Se entiende que la vida útil de un producto representa aquel período de tiempo durante el cual el alimento se conserva apto para el consumo desde el punto de vista sanitario, manteniendo las características sensoriales, funcionales y nutricionales por encima de los límites de calidad previamente establecidos como aceptables [10].

Para este producto de mora con polen apícola se podría pensar en tomar como referencia el tiempo de vida útil de la

mayoría de moras frescas destinadas a los mercados, el cual es de 2 ó 3 días a 0°C. Aunque otros autores han reportado una vida útil de algunos cultivos frescos de mora de hasta 7 días a 5 °C [11]. Sin embargo, al tener la inclusión de polen apícola el producto cambia completamente y se deben evaluar todos los puntos críticos que influyen en la vida útil. Este es el objetivo del presente estudio, determinar las propiedades microbiológicas, fisicoquímicas, sensoriales y funcionales de la pulpa de mora con polen apícola para conocer las condiciones específicas de almacenamiento sin que el producto pierda su seguridad y calidad óptima.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La pulpa se realizó con moras frescas, las cuales fueron sometidas a procesos de acondicionamiento, limpieza y desinfección previos al proceso de elaboración de la pulpa [12]. Antecediendo al proceso de concentración por evaporación, se adicionó polen molido y tratado térmicamente. El producto terminado contó con las características determinadas por la normatividad actual colombiana (Acidez titulable mínimo 2% m/m expresada como ácido cítrico anhídrido y sólidos solubles de mínimo 6°Brix por lectura refractométrica a 20°C) [13]. Se utilizó como empaque una película extruida de 70 micras (polímero de baja densidad).

Tabla 1. Frecuencia de toma de datos

Temperatura de análisis	T ₁	T ₂	T ₃
	30 °C	4 °C	18 °C
Número de muestras	7	6	3
Tiempo de muestreo	12 horas	3 días	6 días

A. Determinación de características microbiológicas

Siguiendo los lineamientos explícitos en la tabla 1, se analizaron Coliformes totales y fecales por el método N.M.P N° 13 y N°14 emitidos por el INVIMA, recuento mesófilos aerobios por recuento en placa INVIMA N° 2 y recuento de esporas de *Clostridium* sulfito reductoras por recuento en placa INVIMA N° 10.

B. Determinación de características fisicoquímicas

La evaluación fisicoquímica consistió en determinar sólidos solubles totales [14], pH [15] y acidez titulable [16]. Cada análisis se realizó de acuerdo al tiempo de almacenamiento establecido con la temperatura asignada.

Tabla 2. Metodología características fisicoquímicas

	Metodología	Norma	Unidades
Sólidos solubles totales	Refractometría.	NTC 4624 Resolución 3929 de 2013	°Bx
pH	Potenciometría. Potenciómetro Metrohm referencia 704.	NTC 4592	pH
Acidez titulable	Titulación con NaOH por potenciómetro.	NTC 4623 Resolución 3929 de 2013	% m/m ácido cítrico anhídrido

C. Determinación de características sensoriales

Color: Para la determinación del color de la pulpa de mora en los diferentes tiempos de análisis, se utilizó el espacio de color CIELAB, usando un colorímetro. Cada una de las muestras se analizó por triplicado.

Aroma: La evaluación de la aroma se llevó a cabo con una Nariz electrónica portátil PEN3 (Airsense Analytics, Alemania). Este equipo es un sistema de olfato electrónico estándar compuesto por una unidad de muestreo, una unidad de detección dotada de un arreglo de sensores y un software de reconocimiento de patrones (Winmuster v. 3.0). El seguimiento de las muestras con nariz electrónica se realizó siguiendo la metodología descrita por Hartyáni et al [17]. Como gas de referencia para los sensores se usó aire del ambiente. El flujo de gas de la cámara y de inyección inicial se programó a 50 mL/min. El tiempo de residencia fue de 15 minutos para cada muestra a 23°C, el tiempo de lectura fue de 260 s y la limpieza de los sensores se llevó a cabo durante 370s [18]. Las muestras se hicieron por duplicado.

D. Determinación de compuestos funcionales

Preparación de extractos: Se pesaron 2 gramos de la pulpa en tubos falcón, se adicionaron 10 ml de etanol al 96%, posteriormente se dejaron los tubos en ultrasonido por 15 minutos, se procedió a centrifugar las muestras por un periodo de 10 minutos a 7000 R.P.M a una temperatura de 4°C con el fin de filtrar en un balón aforado de 25 ml. Las extracciones se realizaron por duplicado hasta llevar a volumen de 25ml con etanol al 96%. El extracto etanólico obtenido se almacenó a -15°C hasta su análisis.

Las técnicas utilizadas para la determinación de los compuestos funcionales corresponden al método de Folin-Ciocalteu para detección de fenoles totales y método ABTS y FRAP como técnicas de medición indirectas de capacidad antioxidante.

Análisis estadístico

Los resultados de las determinaciones fisicoquímicas y funcionales fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA), a nivel de 5% de significancia. Los resultados de nariz electrónica se sometieron a un análisis de componentes principales PCA.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la determinación de la vida útil de la pulpa de mora con inclusión de polen se debe tener en cuenta que es un producto perecedero vegetal procesado que requiere estar almacenado a bajas temperaturas para su conservación. El primer criterio a evaluar en un producto de estas características, es su microbiología, seguido de la evaluación de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales que determinan en gran medida la aceptación por parte del consumidor.

Asimismo, la determinación de los componentes funcionales tiene gran relevancia ya que, de una homóloga a los productos farmacéuticos, la vida útil depende de la presencia de los

componentes bioactivos, los cuales le dan un mayor valor agregado al producto.

A. Características microbiológicas

El recuento microbiológico se llevó a cabo para una temperatura de 30°C que se consideraría un punto crítico de evaluación. El producto almacenado a temperaturas de 4°C y -18°C no tiene riesgos por inocuidad.

No se presentaron recuentos de microorganismos indicadores de contaminación fecal (Coliformes totales) ni de patógenos de alto impacto como (*Clostridium* sulfito reductor) debido al procesamiento de la pulpa de mora que incluyó pasteurización. Este tipo de proceso, es un método muy eficaz para alargar la vida útil de un alimento y consiste en el calentamiento entre 62 a 65°C, por un periodo de 30 minutos [19].

Adicionalmente el proceso de escaldado ayuda a fijar el color de la fruta, ya que atrapa los pigmentos en los tejidos y ayuda a eliminar posibles enzimas que aceleran el deterioro de la calidad del producto [20]. A pesar de esto, se encontraron recuentos de microorganismos adulteradores como mohos y levaduras y en menor medida mesófilos; sin embargo, como se observa en la fig.1 los resultados a lo largo del tiempo no presentan gran variación.

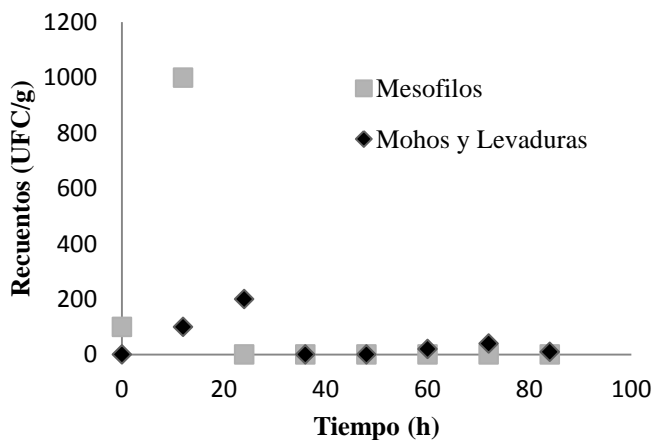


Fig 1. Recuento microbiológico a 30°C

Con respecto a estos recuentos, según la legislación y normativa actual (Resolución 3929 y NTC 5468) se cumplen con los parámetros de inocuidad durante todo el proceso de evaluación de la vida útil a una temperatura de 30 °C [13]. No se puede descartar la influencia de estos microorganismos en relación a la calidad sensorial de producto, debido a que son considerados agentes biológicos adulteradores [21].

B. Características fisicoquímicas

pH: La fig. 2, muestra las mediciones de pH evaluadas para cada una de las temperaturas, las cuales se encuentran dentro del rango de pH de 3.0 – 3.5 que la clasifica como fruta ácida [22]. Estadísticamente no hay diferencias significativas entre los valores para cada una de las temperaturas de almacenamiento lo que coincide con lo descrito por Galvis, B [23].

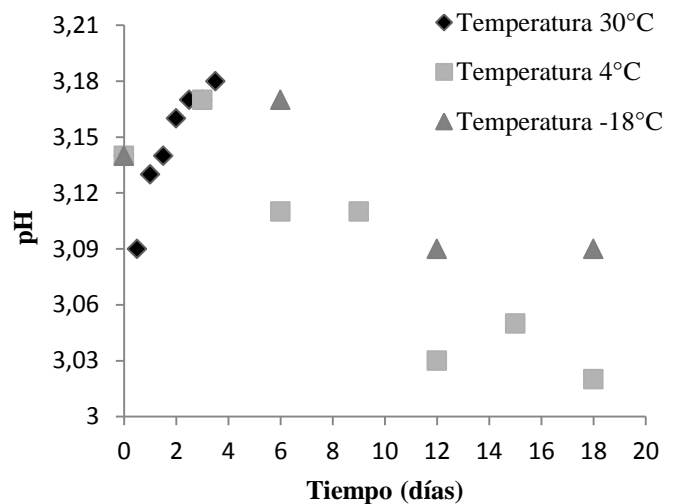


Fig 2. Mediciones de pH en temperaturas de almacenamiento

Existe la tendencia que para una temperatura de almacenamiento de 30°C la concentración de hidronios va disminuyendo mientras que a 4°C y -18°C se da un incremento. Este comportamiento se correlaciona con el crecimiento microbiológico ya que un pH menor, logrado a una baja temperatura, se garantiza un crecimiento casi nulo de microorganismos indicadores de deterioro.

°Brix: Con la carga microbiológica que tiene el producto, la hipótesis que a mayor tiempo, hay una disminución de los grados Brix se refleja en la fig. 3 [23]. No obstante, en este parámetro no hay una variación significativa dentro del rango y las condiciones estudiadas de tiempo, por lo cual para la determinación de la vida útil del producto no sería un factor determinante o se tendría que ampliar el rango de evaluación.

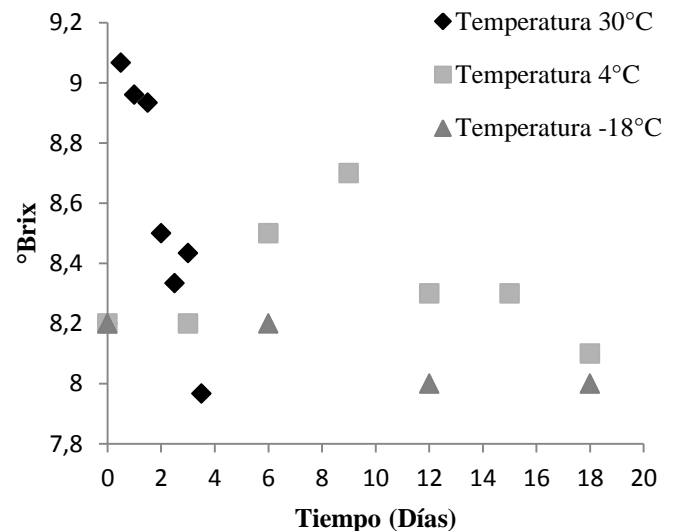


Fig 3. Mediciones de °Brix en temperaturas de almacenamiento

Acidez: Los cambios observados en la acidez del producto evaluado, mostrados en la fig. 4, si presentan diferencias significativas de acuerdo a la temperatura de almacenamiento.

Se da un aumento en la concentración de ácidos [23], que se hace evidente para las temperaturas de 4°C y -18°C. La temperatura de 30°C fue la que presentó mayores variaciones debido a la interacción con microorganismos adulteradores en el producto.

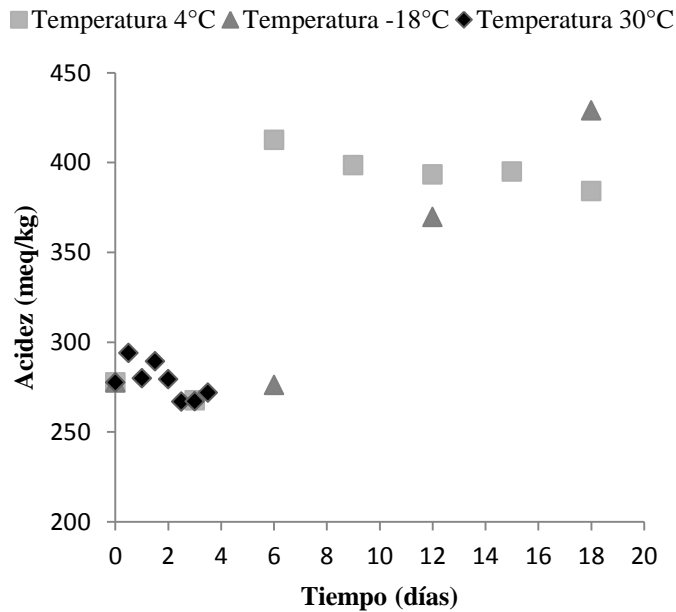


Fig 4. Mediciones de Acidez en temperaturas de almacenamiento

C. Características sensoriales

Color: A lo largo del tiempo y con las reacciones a los cuales se ve sometida la pulpa de fruta con inclusión de polen, el color es un factor crítico para el producto como se observa en la fig. 5.

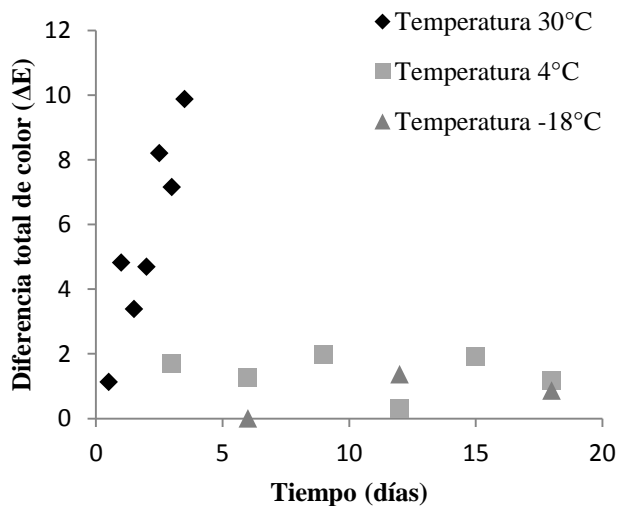


Fig 5. Mediciones de diferencia total de color (ΔE) en el tiempo para las temperaturas de almacenamiento 30°C, 4°C y -18°C

Con el paso del tiempo el color no va registrando variaciones significativas para temperaturas bajas. En el caso de 30°C hay un incremento acelerado en la diferencia total de

color a medida que transcurre el tiempo, causado por una acumulación de pigmentos y azúcares [24].

Aroma: Para analizar los resultados obtenidos en la nariz electrónica se llevó a cabo un análisis de componentes principales PCA, en el cual se hace evidente una tendencia que varía en cada temperatura de almacenamiento (30°C ■ 4°C ■ 18°C ▲).

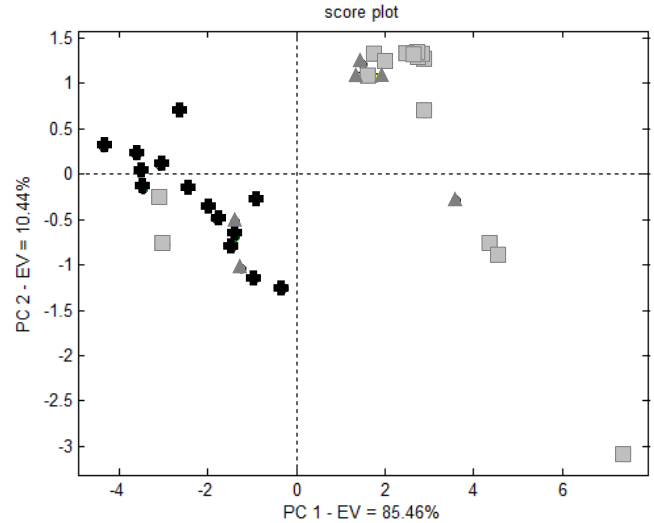


Fig 6. Score Plot diferencias entre temperaturas

(PC1: Componente principal 1, PC2: Componente principal 2)

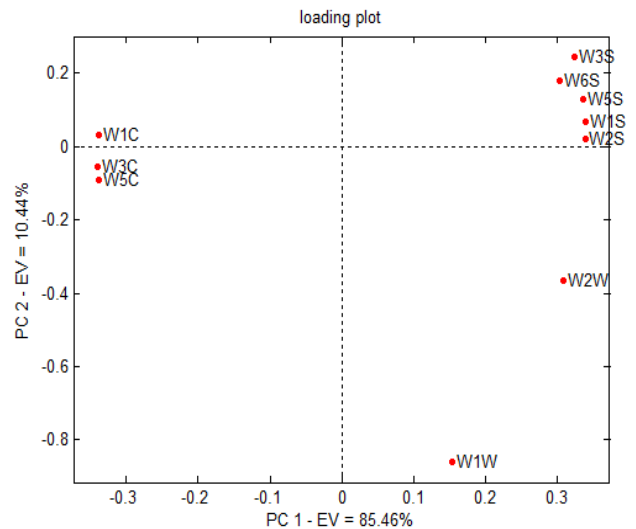


Fig 7. Loading Plot diferencias entre temperaturas

Los sensores que tuvieron mayor respuesta para la temperatura de almacenamiento de 30°C fueron los de terminación C que son sensibles a compuestos aromáticos con estructura de anillo. Para las temperaturas de almacenamiento de 4°C y -18°C tuvieron mayor respuesta los sensores W3S, W6S, W5S, W1S y W2S sensibles a alifáticos de cadena corta, hidrógeno, amplio rango, metano y alcoholes respectivamente. Los sensores W2W, azufre - cloro y W1W azufre - orgánicos no tienen tanta incidencia en el perfil aromático [25]. Con la

temperatura el aroma varía a través del tiempo siendo considerado un parámetro para la estimación de la calidad de la pulpa de mora con polen apícola.

D. Compuestos funcionales

Evaluación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de un alimento es la expresión de los diferentes compuestos polifenólicos, los cuales emplean diferentes mecanismos de acción para neutralizar las especies reactivas de oxígeno (ERO's). Esta medida antioxidante ha tenido cada vez más relevancia porque permite conocer la resistencia del producto a la oxidación de un producto, la contribución de sustancias antioxidantes aportadas por la fruta para estabilizar un alimento rico en grasas y la actividad antioxidante producida por la fruta en el organismo al momento de consumirla [27]. La capacidad antioxidante del extracto de la pulpa de mora se evaluó mediante los métodos de ABTS y FRAP, los resultados se presentan en las fig. 8 y 9.

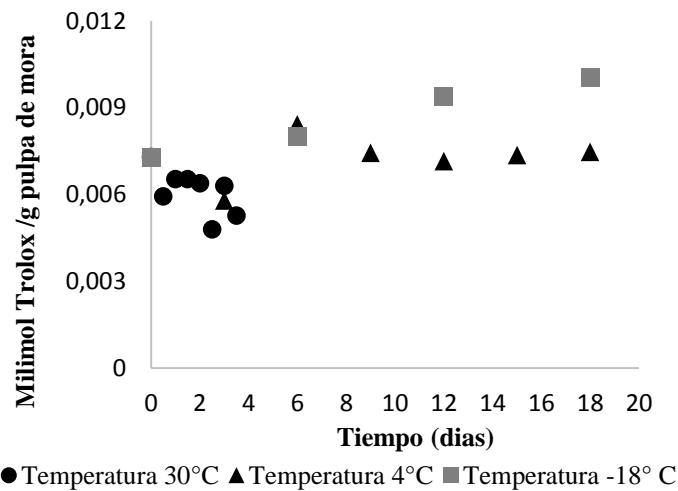


Fig. 8. Evaluación de la actividad antioxidante ensayo ABTS para temperaturas de almacenamiento

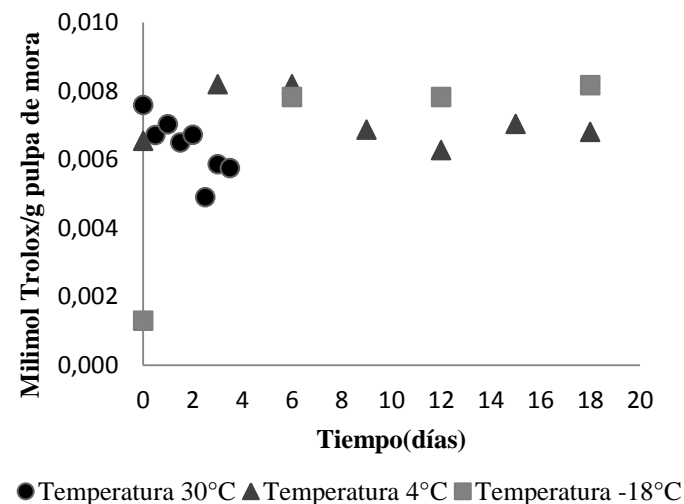


Fig. 9. Evaluación de la actividad antioxidante ensayo FRAP para temperaturas de almacenamiento

Los valores de FRAP fueron ligeramente menores que los obtenidos por ABTS lo cual radica en la metodología, además que ninguna técnica es capaz de replicar las condiciones para evaluar un buen antioxidante como son una alta solubilidad en el medio, una correcta orientación para interactuar los radicales libres, protección a los lípidos oxidables, ser un buen reductor, funcionar con alta reactividad, y tener efectividad a diferentes pH [26].

Sin embargo, para ambos casos hay una clara tendencia que temperaturas bajas tienen una menor incidencia en la pérdida de la actividad antioxidante, de acuerdo al análisis estadístico de ANOVA. Por ello, la temperatura de 30°C presenta una mayor pérdida de actividad antioxidante.

Contenido de fenoles totales

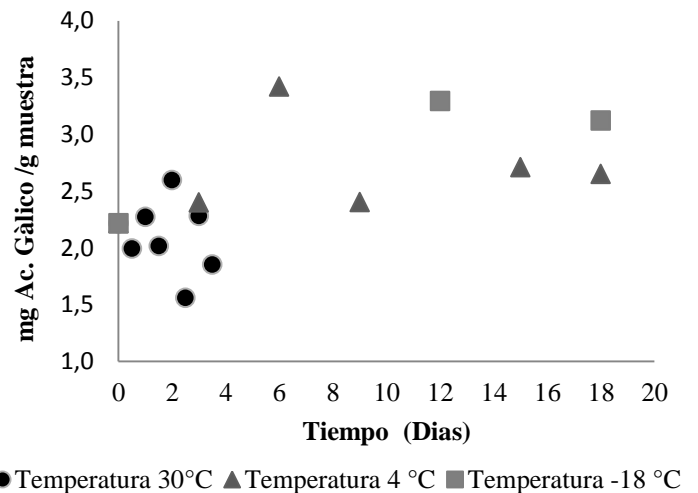


Fig. 10. Ensayo de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

Las muestras evaluadas presentan un mayor contenido de fenoles con un almacenamiento a bajas temperaturas. Las muestras de más bajo contenido de fenoles se presentaron para 30°C, como se puede apreciar en la fig. 10. Esto concuerda con Jacques et al. (2010), quienes encontraron que el contenido de compuestos fenólicos totales permanece inalterado para la pulpa de mora durante 4 meses de almacenamiento a -10°C, -18°C y -80°C [21].

IV CONCLUSIONES

- El parámetro microbiológico no es el único factor que influye para establecer los parámetros de calidad de la pulpa con inclusión de polen.
- Existe una relación entre la presencia de microorganismos adulteradores y su acción en las diferentes propiedades fisicoquímicas evaluadas.
- El pH y los grados Brix no son características críticas a tener en cuenta para la determinación de la vida útil del producto. La acidez si varía considerablemente en el tiempo.
- El incremento de la temperatura de almacenamiento cambia la variación del color y el perfil aromático a través del tiempo.

- Temperaturas de 4°C y -18°C conservan la calidad y seguridad de la pulpa con inclusión de polen apícola.
- Los compuestos funcionales presentaron un comportamiento relativamente estable a bajas temperaturas.
- Se recomienda realizar estudios sobre la influencia de las condiciones y materiales de empaque sobre la calidad sensorial y microbiológica de este alimento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la ingeniera Lizeth Castro por toda la asesoría y soporte durante la experimentación y la obtención del producto. Además, al personal de laboratorio de microbiología y análisis fisicoquímico del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA de la Universidad Nacional de Colombia.

REFERENCIAS

- [1]. S. C. D. C. Q. M. Pulido N, «Cuantificación de vitamina E en muestras comerciales de polen apícola,» *Vitae*, pp. 357 - 359, 2012.
- [2]. V. P, «Productos de la colmena recolectados y procesados por la abejas: Miel, polen y propóleos,» *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, vol. 35, n° 2, 2004.
- [3]. D. O. B. S. D. A. D. T. LeBlanc BW, «Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen, » *Food Bioprocess*, vol. 1, n° 89, pp. 47 - 52 , 2011.
- [4]. Q. M. F. J. Fuenmayor C, «Desarrollo de un suplemento nutricional mediante la fermentación en fase sólida de polen de abejas empleando bacterias ácido lácticas probióticas,» *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, vol. 20, n° 23, pp. 18-40, 2011.
- [5]. H. J. C. C. a. Cerón IX, «Design and analysis of antioxidant compounds from Andes Berry fruits (*Rubus glaucus* Benth) using an enhanced-fluidity liquid extraction process with CO₂ and ethanol,» *J Supercrit Fluids* , n° 62, pp. 96 - 101, 2012.
- [6]. F. A. A. O. P. A. V. F. Gancel A-L, «Impact of industrial processing and storage on major polyphenols and the antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus*),» *Food Res Int* , n° 44, pp. 2243-51, 2011.
- [7]. B. L, «Evaluación de las Propiedades Bioactivas de Mora (*Rubus glaucus*) y Agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en fresco y durante procesos de transformación,» Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2012.
- [8]. L. D, «Desarrollo de una pulpa de fruta con inclusión de polen apícola como alimento funcional,» Universidad de la Amazonia, Florencia - Caquetá, 2014.
- [9]. M. C, «Efecto de la Inclusión de Polen Apícola en la Textura y Color de Panes,» Universidad de Córdoba, Montería, 2013.
- [10]. F. S. Houhg G, Estimación de la vida sensorial de los alimentos, 2005.
- [11]. L. N. A. R. H. J. A. E. Joo M, «Comparative shelflife study of blackberry fruit in bio-based and petroleum-based containers under retail storage conditions,» *Food Chem Elsevier Ltd* , vol. 126, n° 4, pp. 1734-40, 2011.
- [12]. Corpoica, Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado, Cundinamarca - Colombia: Barrero Ls, editor, 2009.
- [13]. Ministerio de Salud y Protección Social, Resolución 3929, Colombia: 2013.
- [14]. ICONTEC, Norma Técnica Colombiana 4624, Jugos de frutas y horalizas. Determinación del contenido de sólidos solubles. Método refractométrico, Bogotá-Colombia: ICONTEC, 1999.
- [15]. ICONTEC, Norma Técnica Colombiana 4592, Productos de frutas y verduras. Determinación del pH, Bogotá-Colombia: ICONTEC, 1999.
- [16]. ICONTEC, Norma Técnica Colombiana 4523, Productos de frutas y verduras. Determinación de la acidez titulable, Bogotá-Colombia: ICONTEC, 1999.
- [17]. Hartyáni P, et al. Physical-chemical and sensory properties of pulsed electric field and high hydrostatic pressure treated citrus juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 12, 255-260, 2011
- [18]. Quicazán M, Díaz A, Zuluaga C. La nariz electrónica, una novedosa herramienta para el control de procesos y calidad en la industria agroalimentaria. *Vitae* 18(45):209–17, 2011.
- [19]. Villareal Y, Mejía D, Osorio O, Cerón A. Efecto de pasteurización sobre características sensoriales y contenido de vitamina c en jugos de frutas. *Biotecnol en el Sect Agropecu y Agroindustrial.*; 11(2):66–75, 2013.
- [20]. Suárez D. Guía para la elaboración de néctares, mermeladas, uvas pasas y vinos. Primera Ed. Siglo Del Hombre Editores S.A.; 2003.
- [21]. C. J, et, al. Estabilidades de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*Rubus fruticosos*). *Quim. Nova*, Vol. 33, N° 8, 1720-1725, 2010.
- [22]. INCOTEC, NTC 404 Cuarta Actualización. Frutas procesadas, jugos y pulpas de frutas, Bogotá – Colombia.
- [23]. Galvis B. Estudio de la durabilidad de la pulpa de mora Castilla y San Antonio. Universidad Nacional de Colombia, Manizales, 2003. <http://www.bdigital.unal.edu.co/1056/1/beatrizsirleygalvismurillo.2003.pdf>
- [24]. Duque A, Giralgo G, Quintero V. Caracterización de la fruta, pulpa y concentrado de uchuva (*Physalis peruviana* L.) *Temas Agrarios* 16(1): 75-83, 2011.
- [25]. Ruales V. Seguimiento de la producción del aroma del yogurt durante la fermentación ácido láctica mediante nariz electrónica y evaluación sensorial. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia, 2012.
- [26]. A. Vanegas, C. Gaviria, F. Cardona, J. Sáez, S. Blair y B. Rojano, «Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*,» *Revistas Médicas Cubanas* , pp. 20-25, 2009.
- [27]. K. Zapata, F. Cortes y B. Rojano, «Polifenoles y Actividad Antioxidante del fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*),» *Información Tecnológica* , vol. 24, n° 5, pp. 103-112, 2013