

# DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE FRESA (*Fragaria ananassa Duch.*) FORTIFICADA CON VITAMINA E

## SHELF LIFE OF STRAWBERRY (*Fragaria ananassa Duch.*) FORTIFIED WITH VITAMIN E

ANA MARIA RESTREPO

*Ingeniera Química, Universidad Nacional de Colombia- Medellín, amretr0@unalmed.edu.co*

MISAEEL CORTÉS

*PhD. Ingeniería de Alimento, Universidad Nacional de Colombia- Medellín, mcortesro@unalmed.edu.co*

BENJAMÍN ROJANO

*PhD. Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Colombia- Medellín, brojano@unalmed.edu.co*

Recibido para agosto 21 de 2008, aceptado diciembre 15 de 2008, versión final febrero 12 de 2009

**RESUMEN:** Las frutas fortificadas por la técnica de impregnación al vacío (IV) representan una expectativa mundial en el desarrollo de productos mínimamente procesados con características funcionales. El presente estudio evalúa el tiempo de vida útil de fresa *Fragaria ananassa Duch.* fortificada con vitamina E, en función del color, textura y estabilidad de la vitamina E a diferentes condiciones de almacenamiento. El dl- $\alpha$ -tocoferol acetato fue cuantificado por HPLC en extractos hexánicos y sus niveles son registrados en función de mg dl- $\alpha$ -tocoferol acetato /100 g fresa fresca y del % de recomendación diaria de consumo (RDC). Se evaluó el color en las coordenadas CIE-L\*a\*b\* y la firmeza por ensayos de punción. El proceso de IV influyó en la respuesta del color (muestras más oscuras), mientras que no hubo influencia en el tiempo ni en el tipo de envasado (con y sin vacío). La textura está afectada por la IV (menos duras), mientras que las variaciones con respecto al tiempo de almacenamiento y el tipo de envasado se consideraron más por variaciones propias del fruto fresco. Los niveles de fortificación fueron  $19.1 \pm 3.0$  mg dl- $\alpha$ -tocoferol acetato  $\cong$   $86.9 \pm 13,7$  %RDC en Colombia, con un tiempo de vida útil de 9 días.

**PALABRAS CLAVE:** Alimentos funcionales, fresa, impregnación al vacío, vitamina E.

**ABSTRACT:** The fruits fortified by the technique of vacuum impregnation (IV) represent word expectation product development minimally prosecuted with functional characteristics. This study evaluates the useful lifetime of strawberry (*Fragaria ananassa Duch.*) fortified with vitamin E, depending on the colour, texture and stability of vitamin E at different storage conditions. The dl- $\alpha$ -tocopherol acetate was quantified by HPLC hexane extracts and their levels are registered according to mg dl- $\alpha$ -tocopherol acetate / 100 g fresh strawberry and Recommendation% Consumer Daily (RDC). We evaluated the color coordinates CIE-L\* a\* b\* and firmness by puncture tests. The process IV influenced the response of color (darker samples), while there was no influence on the time nor the type of packaging (with and without vacuum). The texture is affected by the IV (less harsh), while variations with respect to storage time and type of packaging were considered by most variations of fresh fruit. The  $86.9 \pm 13.7\% \cong$  fortification levels were  $19.1 \pm 3.0$  mg dl- $\alpha$ -tocopherol acetate %RDC in Colombia, with a shelf life of 9 days.

**KEYWORDS:** Functional foods, strawberry, vacuum impregnation, vitamin E.

### 1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día el concepto de alimento y nuestros hábitos de alimentación están cambiando, siendo

cada vez más exigentes. La explicación se atribuye al reconocimiento del papel que pueden tener los alimentos actuando como agentes protectores de la salud, debido a sus propiedades

funcionales, además de las nutritivas [1]. Esta gama de alimentos conocida como alimentos funcionales se refiere a “cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado que pueda proporcionar beneficios a la salud que van más allá de los nutrientes tradicionales que contiene” [2]. Son amplias las expectativas que a nivel mundial se generan alrededor del tema de los alimentos funcionales, no solo por su impacto en los hábitos de nutrición y consumo, sino por que involucra áreas tan importantes como la salud, la economía, la investigación científica, la legislación, el comercio y desarrollo de mercados.

Algunos estudios demuestran que el consumo de frutas y hortalizas está relacionado con una reducción en el riesgo de varias enfermedades crónicas, en enfermedades coronarias y algunos tipos de cáncer [3,4,5]. Las frutas y hortalizas pueden proporcionar una mezcla óptima de componentes fisiológicamente activos (CFA): antioxidantes naturales (polifenoles, tocoferoles, carotenoides y vitamina C) y fibras [6, 7].

La fresa (*Fragaria ananassa Duch*) es una planta perteneciente a la familia Rosaceae, considerada fruta de placer por excelencia [8]. Se destaca por su contenido de vitamina C, taninos, flavonoides, antocianinas, catequina, quercetina y kaempferol, ácidos orgánicos (cítrico, málico, oxálico, salicílico y elágico) y minerales (K, P, Ca, Na y Fe), además de pigmentos y aceite esencial [9,10]. Estos compuestos presentes en la fresa tienen un potente poder antioxidante y ayudan a disminuir el riesgo de eventos cardiovasculares, mejoran la función endotelial vascular y disminuyen la trombosis [11]. Por otra parte, se ha demostrado en varios sistemas experimentales la actividad anticancerígena de extractos de fresas, así como su bloqueo de iniciación de la carcinogénesis, y la supresión y la proliferación de tumores [12]. Estudios preliminares con animales indican que las dietas ricas en fresas también pueden tener el potencial para proporcionar beneficios para el envejecimiento cerebral [12,13,14].

La vitamina E pertenece al grupo de vitaminas liposolubles, es ampliamente utilizada como

antioxidante en la industria de alimentos, su función en el cuerpo humano es evitar la reacción de los radicales libres con cualquier otra molécula como ácidos grasos de las membranas de las células, grasas que circulan por la sangre, proteínas, vitaminas, ácidos nucleicos de los genes, etc. [15]. Existen evidencias científicas de que la vitamina E esta relacionada con la reducción de enfermedades cardiovasculares [16,17], prevención de cáncer [18,19], mejoramiento del sistema inmune [20]. Debido a que el cuerpo humano no puede generar su propia vitamina E se hace necesario consumirla con los alimentos y suplementos que la proporcionen [21].

La biodisponibilidad entendida como la proporción absorbida en el tracto intestinal y que es utilizada por el cuerpo [22,23], para el caso de los componentes con actividad de vitamina E como los tocoferoles y tocotrienoles es similar a las grasas y es en las proximidades del intestino delgado donde se da mayoritariamente la absorción [24]. Los ácidos biliares secretados por el hígado los solubilizan para que puedan atravesar el medio acuoso de la luz intestinal y alcanzar las células intestinales. Antes de la absorción, las esterasas pancreáticas y las de la mucosa intestinal hidrolizan los esterres de vitamina E [25]. No existe mucha diferencia en la fracción de absorción entre el  $\alpha$ - y  $\gamma$ - tocoferol mientras que son pobremente absorbidos el  $\beta$ - y el  $\delta$ -tocoferol [23]. De forma general la biodisponibilidad de los esterres de tocoferol es similar a la de las formas naturales [23,26]. En estudios en humanos, la eficiencia de absorción a las 24 horas para el  $\alpha$ -tocoferol y el  $\alpha$ -tocoferol acetato está en un intervalo del 21 al 86% [27].

La ingeniería de matrices, utiliza la técnica de (IV) sobre estructuras alimentarias porosas, para la incorporación de disoluciones, suspensiones o emulsiones con CFA, modificando su estructura física y composición química, mediante una rápida transferencia de masa y mayor ganancia de solutos en tiempos cortos, con el fin de obtener productos con las características de color, sabor y textura propias del alimento fresco [28]. La IV es un proceso de transporte de materia en un sistema sólido poroso-líquido que

utiliza la acción del mecanismo hidrodinámico (HDM). El acople del HDM y el mecanismo de deformación-relajación (MDR) están muy afectados por la microestructura, las propiedades mecánicas del sólido y la viscosidad de la solución externa. [29,30,31].

El desarrollo de alimentos mínimamente procesados con características funcionales a partir de fresa se convierte en una alternativa muy interesante para la industria alimentaria y para sectores de la población con deficiencia nutricional ya que su estructura permite la incorporación de CFA, conservando sus características de fruta fresca.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un producto de fresa mínimamente procesada, fortificada con vitamina E, utilizando la ingeniería de matrices como metodología de obtención de alimentos funcionales.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Materias primas

Se utilizaron fresas enteras de la variedad Camarrosa, cultivadas en el municipio de Santa Rosa de Osos, Antioquia, ubicado a 2550 m.s.n.m. con una temperatura promedio de 13°C. Las fresas se recolectaron con un grado de madurez de 5 según la Norma Técnica Colombiana (NTC 4103, 1996) [32] presentando características homogéneas de color, con un peso aproximado entre  $12 \pm 2$  g y almacenadas a 4°C. Como componente fortificante con actividad de vitamina E se utilizó acetato de dl- $\alpha$ -tocoferol con una pureza 96,9%, el cual fue emulsificado en una fase acuosa de disolución isotónica de sacarosa con 14°Brix (igual actividad de agua ( $a_w$ ) que la fresa). Se utilizaron dos tensoactivos no iónicos: Tween 80 (Polioxietilen Sorbitan Monooleato, BHL=15) y Span 60 (Monoesterato de sorbitano, BHL=4.7) y además NaCl como estabilizante de las fuerzas electrostáticas de la emulsión [33]. Lotes de 500g de emulsión fueron preparados en un homogenizador Ultra-Turrax Tipo 45 S5 (Ultraturax - Janke & Kunkel IKA-Labortechnik), las condiciones de emulsificación

fueron 10000 rpm, durante 20 minutos, utilizando un recipiente de vidrio con baño de enfriamiento. La concentración teórica del dl- $\alpha$ -tocoferol acetato en la emulsión se determinó a partir de un balance de materia, con el propósito de fortificar el 100% de la Recomendación Diaria de Consumo (RDC) de vitamina E (0,022 g dl- $\alpha$ -tocoferol acetato) en 100 g de fresa fresca, según la norma colombiana del Ministerio de salud, 1984 [34].

### 2.2 Caracterización Físicoquímica

Las muestras frescas e impregnadas, se le realizaron pruebas de acidez por titulación con NaOH 0.1N, utilizando fenolftaleína como indicador (Norma técnica Colombiana: NTC 4103, 1996) [32]; el contenido de humedad se determinó según la norma oficial 7003 (AOAC. 1980) [35], el pH con un potenciómetro Schott CG840B, la actividad de agua ( $a_w$ ) con un higrómetro de punto de rocío a 25°C (Aqualab Decagón serie 3TE), los sólidos solubles se midieron a partir de los índices de refracción en un refractómetro Leica auto ABBE (escala de 0-32%) a 20 °C, la densidad aparente de las fresas ( $\rho_{apm}$ ) se determinó a partir de la relación de la masa de la muestra y el volumen desplazado por la muestra en una probeta y la densidad del líquido de impregnación se determinó por el método del picnómetro a 20°C, método oficial 945.06 (AOAC, 1990) [36].

El color se determinó utilizando el espectrocolorímetro X-RITE, modelo SP60, el iluminante D65 y el observador de 10° como referencia. A partir de los espectros de reflexión se obtuvieron las coordenadas de color del CIE- $L^*a^*b^*$ , tono o matiz ( $h_{ab}^*$ ) y el croma o saturación ( $C_{ab}^*$ ).  $L^*$  es un indicador de la luminosidad,  $a^*$  (cromaticidad verde (-) a rojo (+)) y  $b^*$  (cromaticidad azul (-) a amarillo (+)). Cada lectura de color representa el promedio de 3 lecturas realizadas a 120° en la zona ecuatorial de la fresa entera, donde el tono rojizo es más homogéneo. La textura se determinó a partir de ensayos mecánicos de punción en fresas enteras, utilizando un analizador de textura TA.XT2, de la firma Stable Micro Systems (SMS), software Texture Expert Exceed versión 2.64. Se utilizó una sonda metálica de 5 mm de diámetro, a una

velocidad de penetración de 2 mm/s hasta una distancia de 10 mm. En todos los casos se registró la curva de fuerza (F) - distancia (D).

La valoración de las propiedades fue realizada a partir de 3 lotes, de 6 muestras/lote para un total de 18 lecturas, en el caso del color y textura para cada condición de almacenamiento.

### 2.3 Estabilidad de la emulsión de impregnación

La estabilidad de la emulsión de impregnación se fundamentó en las propiedades de dispersión de la luz que esta relacionada con el tamaño promedio de las gotas. Se utilizó el criterio de índice de estabilidad (R), a partir de medidas de absorbancia (A) a dos longitudes de onda: 800 y 400 nm ( $R = A_{800} / A_{400}$ ) [37]. Las medidas se realizaron en un espectrofotómetro Thermospectonic Genesys 10UV. La muestra de emulsión recién preparada se diluyó con agua destilada en la proporción 99:1 (agua:emulsión) y se agitó antes de la medida espectrofotométrica. La evaluación de la estabilidad de la emulsión se realizó durante 4 días.

### 2.4 Proceso de impregnación

Los ensayos de IV se realizaron en un sistema conformado por cámara de impregnación en vidrio, acoplada a través de mangueras sanitarias a un eyector, el cual proporcionó un vacío de 8.4"Hg (Presión barométrica = 25.4"Hg). Se registró la masa al inicio y final del proceso. Las fresas se sumergieron en una disolución isotónica de sacarosa de 14 °Brix (DS14°) ( $a_w$  DS14° =  $a_w$  de la fruta) y sometidas en una primera etapa a vacío durante 10 minutos en la cámara de impregnación, posteriormente en la segunda etapa se restableció la presión atmosférica por 5 minutos. A cada muestra impregnada se le determinaron los parámetros de impregnación: fracción volumétrica de impregnación,  $X$  ( $m^3_{emulsión} / m^3_{fresa\ fresca}$ ); fracción másica de impregnación,  $X_{HDM}$  ( $kg_{emulsión} / kg_{fresa\ impregnada}$ ) y porosidad efectiva a la IV,  $\epsilon$  ( $m^3_{gas} / m^3_{fruta\ fresca}$ ) ( $\epsilon = X r / (r-1)$ ), donde  $r = P_{atm} / P_{vacío}$ . La valoración de  $X$  y  $X_{HDM}$  se determinó a partir de las masas antes y después

de la impregnación [38,39]; además se consideró que en el proceso de IV la deformación en las etapas a presión de vacío y atmosférica son despreciables [30].

La composición de la emulsión de impregnación se determinó en el sistema de impregnación bajo las siguientes consideraciones: Los niveles de vitamina E en la fresa fresca son despreciables, no existe degradación de la vitamina E durante el proceso de IV debido a las condiciones y tiempos de proceso, la masa del sistema fresa - disolución no cambia durante el proceso IV y la composición de la vitamina E en la disolución de impregnación y sus características fisicoquímicas se mantienen constantes. Las ecuaciones 1 y 2, resultado del balance de materia, permiten determinar la fracción másica de la vitamina E en la emulsión de impregnación ( $Y_{Vit.E}$ ) ( $g_{Vit.E} / g_{emulsión}$ ) y la fracción másica de la vitamina E en la fresa impregnada,  $x_{Vit.E}^{IV}$  ( $g_{Vit.E} / g_{fresa\ impregnada}$ ) [39].

$$Y_{Vit.E} = \frac{x_{Vit.E}^{IV} (\rho_{apm} + X\rho_{emulsión})}{X\rho_{emulsión}} \quad (1)$$

$$x_{Vit.E}^{IV} = \frac{100\% RDC}{(100 + 100X \frac{P_{emulsión}}{\rho_{apm}})} \quad (2)$$

### 2.5 Almacenamiento

Las muestras fortificadas fueron almacenadas a una temperatura de 4°C y envasadas en bolsas plásticas multicapa de poliamida-polietileno marca ALICO S. A., con barrera al vapor de agua ( $< 15 g/m^2/24hr/atm$ ,  $T=38\ ^\circ C$ ),  $O_2$  ( $60 cc/m^2/24hr/atm$ ,  $23\ ^\circ C$ ),  $N_2$  y  $CO_2$ . El envasado se realizó en condiciones atmosféricas (SV) y con aplicación de vacío (CV). Se evaluó la evolución de la estabilidad de las muestras en cuanto a la degradación del dl- $\alpha$ -tocoferol acetato y cambios de color y textura. El contenido de dl- $\alpha$ -tocoferol acetato fue evaluado en la fruta fresca a tiempos de almacenamientos de 0 y 9 días; los atributos color y textura a tiempos de almacenamiento de 0, 3, 6 y 9 días.

## 2.6 Extracción y cuantificación de CFA

En la referencia [38] se describe el proceso de extracción modificado del método realizado en [40], el cual incluye procedimiento de ultrasonido. La cuantificación de la vitamina E en las muestras frescas y fortificadas se determinó en un HPLC Agilent 1100. Condiciones de operación: columna Synergi 4  $\mu\text{m}$  Hydro-RP 80 (código 00G-4375-E0), dimensiones 250 x 4.6mm ID., fase móvil (Acetonitrilo/metanol: 75/25), velocidad de flujo 2mL/min, método: Isocrático, temperatura: ambiente (25°C), detector: U.V visible a 280 nm. La recta de calibración se determinó a partir del estándar de referencia dl- $\alpha$ -tocoferol acetato 99.9% (Supelco).

## 2.7 Análisis de datos

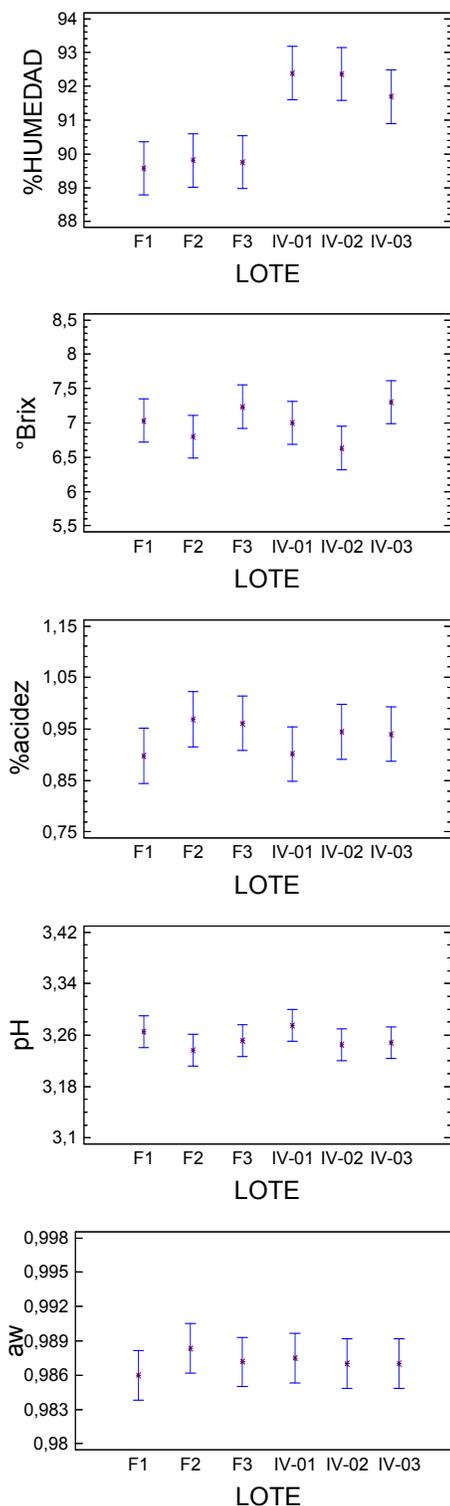
Los resultados fueron analizados a partir de ANOVA, utilizando el método LSD (mínimas diferencias significativas) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0.05$ ). El análisis de varianza fue realizado con el paquete estadístico STATGRAPHICS PLUS versión 5.1.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Caracterización fisicoquímica de la fresa

La Figura 1 presenta los valores medios con intervalos LSD (95%) del % humedad, °Brix, % acidez, pH y  $a_w$ , de los lotes de fresa fresca (F1, F2, F3) y recién impregnados (IV-01, IV-02, IV-03).

El ANOVA no presenta diferencias significativas ( $p<0,05$ ) en el % humedad por efecto de los lotes, pero si por efecto del tratamiento de impregnación, esto debido a que la cantidad de emulsión incorporada en la estructura interna del fruto según su formulación tiene una composición de agua del 84.8 %. Los valores promedio de todas las muestras para la fruta fresca e impregnada son respectivamente:  $89.71 \pm 0.74$  y  $92.15 \pm 1.66$ . Los otros parámetros no presentaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ), por efecto de los lotes ni por el proceso de impregnación; los mínimos



**Figura 1.** Valores medios con intervalos LSD (95%) de los parámetros de caracterización de los lotes de fresas

**Figure 1.** Mean values with LSD (95%) intervals of characterization parameters of strawberries batches

cambios son absorbidos por la misma variabilidad de las muestras y en el caso de la  $a_w$ , el resultado es acorde con el criterio de impregnar a partir de una solución isotónica de sacarosa, para evitar la transferencia de masa por mecanismos diferentes al HDM [41,42].

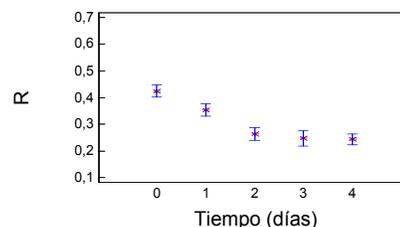
Los resultados encontrados son coherentes con algunos autores que han caracterizado la fresa fresca en términos de propiedades fisicoquímicas como: humedad,  $a_w$ , acidez, °Brix, densidad aparente [43,44,45], en frutas impregnadas con solución isotónica de glucosa [46] y en frutas impregnadas con solución isotónica de sacarosa [41].

### 3.2 Diseño de las emulsiones de impregnación

La composición teórica de vitamina E ( $Y^E$ ) necesaria para la emulsión, se determinó a partir de valores preliminares de X, por ensayos de impregnación con disoluciones isotónicas de sacarosa correspondiente a 14°Brix y según la ecuación 1. Los valores de X preliminar,  $X_{IV}^E$  y  $Y^E$  fueron respectivamente:  $0,02570 \text{ m}^3_{DS14^\circ} / \text{m}^3_{\text{fresa fresca}}$ ,  $0,00021 \text{ kg}_{\text{vit.E}} / \text{kg}_{\text{fresa impregnada}}$ ,  $0,00759 \text{ kg}_{\text{vit.E}} / \text{kg}_{\text{emul}}$  y permitieron determinar la composición de la emulsión: dl- $\alpha$ -tocoferol acetato (96,9%) (0,785 %), Tween 80 (0,168 %), Span 60 (0,162 %), Sal (0,051%), azúcar (14,000 %) y agua (84,834%).

### 3.3 Caracterización de la emulsión de impregnación

La Figura 2 presenta la evolución del índice de estabilidad R con respecto al tiempo en la emulsión preparada con una disolución de sacarosa a 14°Brix, utilizada en la impregnación de fresas. Se observa una tendencia de disminución hasta el día 2, a partir del cual R se estabiliza, convergiendo a valores en un intervalo 0,23 y 0,29. Este comportamiento puede atribuirse a una reorganización en la distribución del tamaño de gota en la emulsión tendiendo a un valor de equilibrio relacionado con el tamaño óptimo de las micelas de tensoactivos, dada que la pequeña cantidad de fase oleosa podría ubicarse en el *core* lipófilo de las mismas.



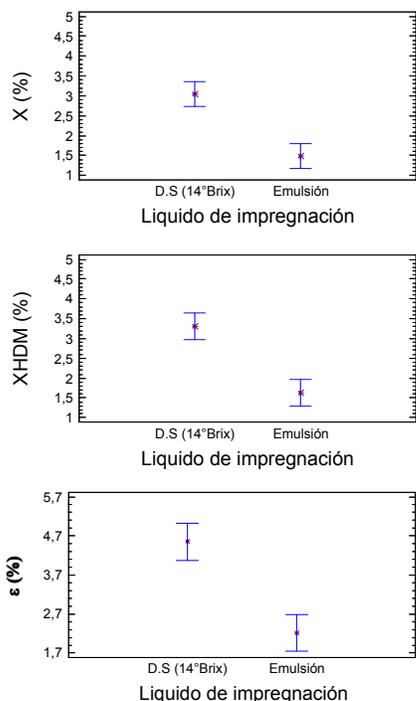
**Figura 2.** Evolución del índice de estabilidad R con respecto al tiempo en las emulsiones de impregnación para las fresas.

**Figure 2.** Evolution of R stability index with respect to time in the impregnation emulsions for strawberries

### 3.4 Caracterización de la respuesta a la impregnación

La Figura 3 presenta los parámetros de impregnación: X%,  $X_{HDM}$ % y  $\epsilon$  (%), para la fresa con la DS14° y con la emulsión de fortificación con vitamina E.

El ANOVA presentó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la respuesta a la impregnación con respecto al tipo de líquido de impregnación, los cuales tienen diferente composición y propiedades. Esta respuesta está afectada por diversos factores como: composición, tamaño y distribución de poro, presiones y tiempos de proceso, tamaño, forma y propiedades mecánicas de la muestra; además por desplazamiento del líquido de impregnación durante la acción del HDM que a su vez depende de la viscosidad del líquido [42,47]. Las diferencias encontradas se asocian, principalmente a la resistencia al flujo de la emulsión de fortificación al interior de la matriz alimentaria, causado por las gotas oleosas emulsificadas de vitamina E recubiertas en su *core* lipofílico por los tensoactivos. Por otro lado, la diferencia en la viscosidad entre los 2 líquidos de impregnación potencia el efecto anteriormente mencionado. Estos niveles bajos de impregnación se explican desde un punto de vista microestructural por una alta densidad de empaquetamiento de la fresa y poros muy pequeños [48]. Algunos autores [49,50] han reportado niveles de impregnación para la fresa con diferentes soluciones isotónicas del orden de  $X \cong 1.9 \%$  y porosidad  $\cong 6.4\%$ .



**Figura 3.** Valores medios con intervalos LSD (95%) de los parámetros: X (%), X<sub>HDM</sub> (%) y ε (%) en función del tratamiento de impregnación.

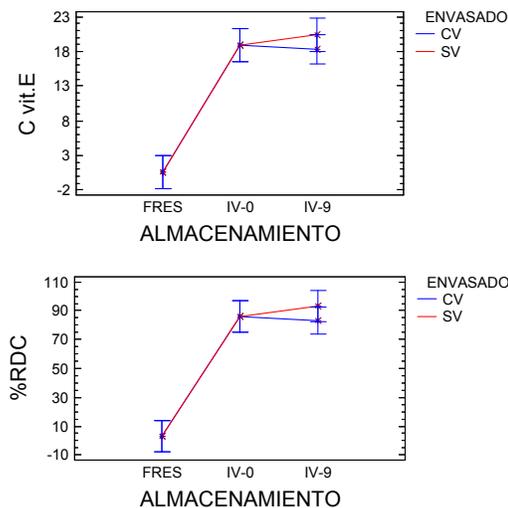
**Figure 3.** Mean values with LSD (95%) of the parameters: X (%), X<sub>HDM</sub> (%) and ε (%) depending of impregnation treatment

### 3.5 Estabilidad de la vitamina E durante el almacenamiento

El método de determinación analítica por HPLC permitió determinar en la fresa dos componentes con actividad de vitamina E: el RRR α-tocoferol (vitamina E natural) y dl-α-tocoferol acetato (vitamina E sintética) en los tiempos de retención: 11.56 ± 0.14 y 13.06 ± 0.05 min., respectivamente. La fresa fresca presentó un contenido de vitamina E natural de: 0.24 ± 0.01 mg/100g fresa, que corresponde a 0.53 ± 0.15 mg dl-α-tocoferol acetato/100g fresa y a 2.42 ± 0.15 %RDC/100g fresa. La cuantificación de las muestras impregnadas registraron un contenido de vitamina E natural de: 0.26 ± 0.00 mg/100g fresa, lo que corresponde a 0.56 ± 0.01 mg dl-α-tocoferol acetato/100g fresa (2,61 ± 0.90 %RDC/100g fresa). Estos resultados permiten concluir que no existen diferencias significativas entre los dos tipos de muestras, es decir no hay degradación de la vitamina E natural a las

condiciones de almacenamiento, por lo que se tomo un promedio global de todas las muestras: 0.26 ± 0.08 mg vitamina E natural /100g fresa (0.56 ± 0.17 mg dl-α-tocoferol acetato/100g fresa, 2.56 ± 0.76 %RDC/100g fresa).

La Figura 4 presenta los valores medios con intervalos LSD (95%) de la concentración de vitamina E (C<sub>Vit.E</sub>), expresados como mg dl-α-tocoferol acetato/100 g fresa fresca. El ANOVA registró diferencias significativas (p<0,05) debido al proceso IV, que permitió incorporar el CFA en la estructura, mientras que los factores envasados (CV y SV) y el tiempo de almacenamiento no presentaron diferencias significativas; esto se atribuye a la misma estabilidad de la vitamina y a la protección que ofrece la matriz de la fresa al servir como medio de encapsulamiento del CFA ante los factores externos de degradación (oxidación, luz, temperatura, etc.) [51]. Para el análisis de la influencia del tiempo, la C<sub>Vit.E</sub> se evaluó sobre valores unificados a partir de los datos de las muestras CV y SV. Esto nos permite obtener un producto minimamente procesado con un contenido de 19.12 ± 3.01 mg dl-α-tocoferol acetato/100 g de fresa fresca (86.91 ± 13.68 %RDC/100 g fresa fresca), con un tiempo de vida útil de 9 días.



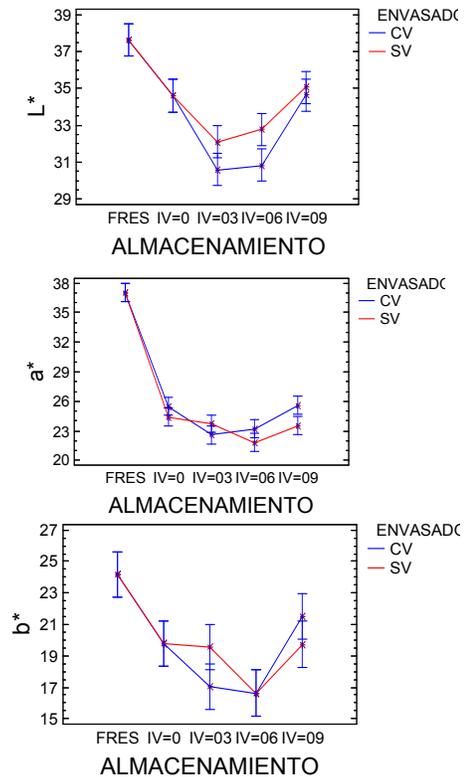
**Figura 4.** Valores medios con intervalos LSD (95%) de la C<sub>Vit.E</sub>, (mg dl-α-tocoferol acetato /100 g fresa fresca) durante el almacenamiento a 4°C

**Figure 4.** Mean values with LSD (95%) of the C<sub>Vit.E</sub>, (mg dl-α-tocopherol acetate /100 g fresh strawberries) at 4°C during storage

### 3.6 Evolución del color durante el almacenamiento

La Figura 5 presenta los valores medios con intervalos LSD (95%) para la evolución del color en términos de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  durante el almacenamiento. El ANOVA reportó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en todos los parámetros de evaluación del color por efecto del proceso de impregnación. Este fenómeno se asocia al incremento de la homogeneidad del índice de refracción del tejido en los espacios intercelulares llenados con emulsión de impregnación, lo que potencia la absorción de la luz en la superficie y que hace ver las muestras impregnadas más oscuras ( $<L^*$ ). La disminución en  $a^*$  y  $b^*$  en las muestras impregnadas se atribuye principalmente a la dilución de los pigmentos rojos y amarillo respectivamente, que alcanzan a lixiviar hacia la emulsión de impregnación. Iguales tendencias en los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  han sido observados con fresas variedades Chandler y Camarrosa, manzana, papaya, albaricoque, banana y kiwi, impregnadas con disolución isotónica de glucosa [48,52,53].

El ANOVA no mostró diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en los parámetros de color por efecto del tipo de envasado durante el almacenamiento, aunque se observa que los valores de  $L^*$  en las muestras CV fueron ligeramente menores que en los de SV, lo cual se atribuye al fenómeno de compresión mecánica de la superficie que hace ver las muestras menos claras. El factor tiempo de almacenamiento, influyó en las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , siendo su comportamiento muy similar: Inicialmente presentan una ligera tendencia a disminuir hasta el día 3, sosteniendo su valor aproximadamente hasta el día 6 y posteriormente refleja un incremento en las muestras del día 9. Lo inicial se atribuye al fenómeno de pardeamiento enzimático debido a las alteraciones producidas por la enzimas polifenoloxidasas localizada fundamentalmente en el tejido parenquimático del cortex y la enzima peroxidasa ubicada en los haces vasculares del xilema [54]. Lo último se considera, que es por el efecto del estado de maduración de éste lote, el cual presentó valores de  $^{\circ}\text{Brix}$  de  $6.63 \pm 0.94$

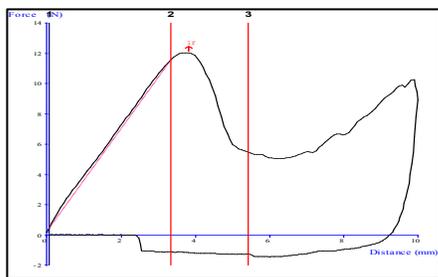


**Figura 5.** Evolución los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  en fresa fortificada con vitamina E en función del tiempo de almacenamiento a  $4^{\circ}\text{C}$

**Figure 5.** Evolution of color parameters  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  in strawberry fortified with vitamin E as a function of storage time at  $4^{\circ}\text{C}$

### 3.7 Evolución de la Textura durante el almacenamiento

La Figura 6 presenta una curva típica de la fuerza-distancia obtenida para la fresa impregnada. Se observa el punto donde la fuerza es máxima ( $F_{\text{max}}$ ) (tramo 2-3), que corresponde a la fuerza requerida para fracturar la piel (pericarpio) a una distancia de ruptura ( $D_r$ ). En el tramo 1-2 se observa una linealidad, cuya pendiente ( $E^*$ ) está relacionada con el módulo de elasticidad o coeficiente de Young del producto. En el tramo 3-4 se observa una zona donde la fuerza tiene un comportamiento constante, que corresponde a la fuerza media de la pulpa. Finalmente el tramo 4-5, se observa un comportamiento lineal creciente, cuya pendiente corresponde en cierta medida a la dureza de la pulpa del fruto.

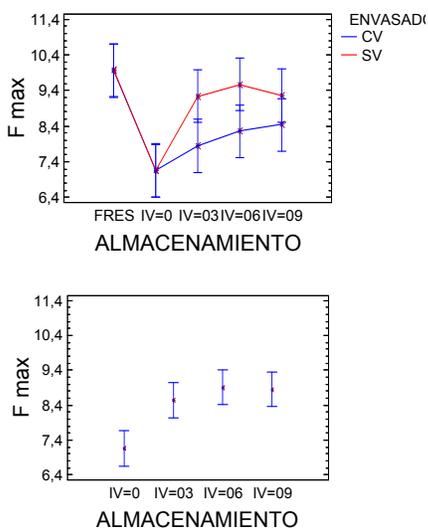


**Figura 6.** Curvas típica fuerza–distancia obtenida en el ensayo de punción en fresa fresca e impregnada

**Figure 6** Typical force-distance curves obtained in the puncture test in fresh and impregnated strawberry

Las frutas se consideran materiales viscoelásticos los cuales presentan conjuntamente propiedades de flujo viscoso y sólido elástico [55] y factores tales como la presión de turgencia, rigidez de la pared celular, contenido de fibra y agua, tiempo, temperatura y dimensiones geométricas del producto determinan el comportamiento reológico de una fruta o vegetal [56]. En el caso de la fresa fresca, estudios de caracterización textural a partir de ensayos de punción, han presentado resultados con altos coeficientes de variación [44].

La Figura 7 presenta los valores promedios y los intervalos LSD (95%) de la  $F_{max}$ , para la fresa fresca e impregnada durante el almacenamiento.

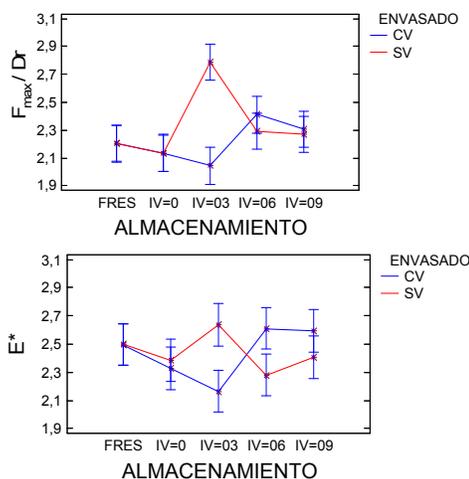


**Figura 7.** Parámetros de textura Fr en fresa fresca e impregnada durante el almacenamiento a 4°C.

**Figure 7.** Texture parameters Fr in fresh and impregnated strawberry at 4°C during storage

En la referencia [57] se reportan datos de firmeza de la fruta fresca, menores a los encontrados en esta investigación. El ANOVA reportó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en  $F_{max}$ , debida al proceso de impregnación, probablemente debida a la acción del HDM el cual conduce a cambios estructurales ocasionados por los cambios de presión, lo que indica que igualmente se está presentando el MDF en la matriz sólida del sistema [31,47]. No se encontraron diferencias significativas en el parámetro  $F_{max}$  en las fresas impregnadas con respecto al tipo de envasado, por lo que se consideraron sin diferenciar los datos de las muestras CV y SV para el análisis de la influencia del tiempo de almacenamiento. Esta situación evidencia un incremento en el comportamiento textural con el tiempo, quiere decir, una tendencia de la  $F_{max}$  a crecer en el almacenamiento debida probablemente a la transferencia de masa de agua desde la fresa impregnada al aire en circulación a 4°C, que hace que la muestra se deshidrate y en consecuencia adquiera una mayor dureza.

La Figura 8 presenta los valores promedios y los intervalos LSD (95%) de la  $F_{max}/Dr$  y  $E^*$  durante el almacenamiento, siendo su comportamiento muy similar para las condiciones de estudio, por ser relaciones de Fuerza/Distancia



**Figura 8.** Parámetros de textura  $F_{max}/Dr$  y  $E^*$  en fresa fresca e impregnada durante el almacenamiento a 4°C

**Figure 8.** Texture parameters  $F_{max} / Dr$  and  $E^*$  in fresh and impregnated strawberry at 4°C during storage

El ANOVA para ambos parámetros no presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) por efecto del proceso de impregnación; esto se atribuye principalmente a la buena resistencia mecánica de la película cérica que cubre el fruto en un 95%, la cual no se afecta por el stress mecánico al cual se somete por el mecanismo hidrodinámico; por otro lado la poca permeabilidad de la película evita cambios apreciables en la resistencia a la deformación de la película.

Para el caso de las muestras impregnadas, los parámetros de textura presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) por el tiempo y envasado, sin embargo esta situación se da principalmente por el comportamiento observado en las muestras envasadas SV del día 3, la cual pudo estar en un estado de madurez inferior a el resto de muestras. Estos resultados no se consideran críticos debido a que los rangos de variación fueron bajos (2,0 – 2,9) y son más producto de variaciones propias de la naturaleza de las muestras.

#### 4. CONCLUSIONES

- La composición de la emulsión de fortificación utilizada de acuerdo al comportamiento observado en el índice de estabilidad R, garantiza una buena estabilidad.
- La técnica de IV permite obtener fresa mínimamente procesada con un nivel de o está fortificación de vitamina E de  $19.12 \pm 3.01$  mg dl- $\alpha$ -tocoferol acetato/100 g de fresa fresca o  $86.91 \pm 13.68$  %RDC/100 g fresa fresca con un tiempo de vida útil equivalente a 9 días. El tipo de envasado y el tiempo de almacenamiento no fueron influyentes en los niveles de la vitamina.
- El proceso de IV influyó en la respuesta del color (muestras más oscuras), mientras que no hubo influencia del tiempo ni del tipo de envasado (con y sin vacío).
- La textura está afectada por la IV (menos duras), mientras que las variaciones con respecto al tiempo de almacenamiento y el tipo de envasado se consideraron más por variaciones propias del fruto fresco.

#### REFERENCIAS

- [1] URALA, N.; LÄHTEENMÄKI, L. Reasons behind consumers' functional food choices. *Nutrition & Food Science*, 33, 148–158, 2003.
- [2] ROBERFROID, M. Defining Functional Food. In G. Gibson, & C.M. Williams (Eds.) *Functional Foods*; Cambridge: Woodhead. Concepts to product: 9-29, 2000.
- [3] SCHAEFER, S.; BAUM, M.; EISENBRAND, G.; DIETRICH, H.; WILL, F.; JANZOWSKI, C. Polyphenolic apple juice extracts and their major constituents reduce oxidative damage in human colon cell lines. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50, 24–33, 2006.
- [4] ZHANG, Y.; VAREED, S.K.; NAIR, M.G. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables, *Life Sci.* 76, 1465–1472, 2005.
- [5] NESS, A.; POWLES, J.W. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int J Epidemiol.*, 26, 1-13, 1997.
- [6] HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 52, 481-504, 2000.
- [7] HERTOOG, M.G.L.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Content of potentially anti-carcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 2379-2383, 1992.
- [8] BELLO, J.L.; SANTOS, A. Imagen del fresón en el consumidor. *Especial Huelva*: 27–29. (1990)
- [9] PINTO, M.; LAJOLO, M.; GENOVESE, M. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry*, 107, 1629–1635, 2008.

- [10] ÖZCAN, M.; HACISEFEROGULLAR H. The Strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering*, 78, 1022–1028, 2007.
- [11] BEATTIE, J.; CROZIER, A.; DUTHIE, G. Potential health benefits of berries. *Current Nutrition and Food Science*, 1, 71–86, 2005.
- [12] HANNUM, S. M. Potential impact of strawberries on human health: A review of the science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 1–17, 2004
- [13] OLSSON, M.E.; GUSTAVSSON, K.E.; ANDERSSON, S.; NILSSON, A.; DUAN, R.D. Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 7264–7271, 2004.
- [14] MEYERS, K.J.; WATKINS, C.B.; PRITTS, M.P.; LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6887–6892, 2003.
- [15] CURTAY, J.P.; LYON, J. *La Enciclopedia Práctica de las Vitaminas, las Sales Minerales y los Oligoelementos*. Salvad editores S.A, 127-136, 2000.
- [16] VIRTAMO, J.; RAPOLA, J.M.; RIPATTI, S.; HEINONEN, O.P.; TAYLOR, P.R.; ALBANES, D.; HUTTUNEN, J.K. Effect of vitamin E and betacarotene on the incidence of primary non fatal myocardial infarction and fatal coronary heart disease . *Arch Interh Med*, 158, 668-675, 1998.
- [17] GEY, K.F.; BRUBACHER, G.B.; STÄHELIN, H.B. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am. F. Clin. Nutr.*, 45, 1368-1377, 1987.
- [18] HEINONEN, O.P.; ALBANES, D.; VIRTAMO, J. Prostate cancer and supplementation with  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene: incidence and mortality in a controlled trial. *J. Natl. Cancer Inst.*, 90: 440-446, 1998.
- [19] HEINONEN, O.P.; HUTTUNEN, J.K.; ALBANES, D.; HAAPAKOSKI, J.; PALMGREN, J.; PIETINEN, P.; PIKKARAINEN, J.; RAUTALAHTI, M.; VIRTAMO, J. The alpha-Tocopherol, Betacarotene Cancer prevention study group. The effect of vitamin E and betacarotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers . *New Engl. F Med.*, 330, 1029-1035, 1994.
- [20] MEYDANI, S.N.; MEYDANI, M.; BLUMBERG, J.B.; LEKA, L.S.; SIBER, G.; LOSZEWSKI, R.; THOMPSON, C.; PEDROSA, M.C.; DIAMOND, R.D.; STOLLAR, B.D. Vitamin E supplementation and in vivo immune response in healthy elderly subjects. A randomized controlled trial. *F Am. Med. Ass.*, 277, 1380-1386, 1997.
- [21] CHANDAN, K.; KHANNA, S.; ROY, S. Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sciences*, 78, 2088–2098, 2006.
- [22] STAHL, W.; VAN DER BERG, H.; ARTHUR, J.; BAST, A.; DAINTY, J.; FAULKS, R.; GARNER, C.; HAENEN, G.; HOLLMAN, P.; HOLST, B.; KELLY, F.; POLIDORI, C.; RICE-EVANS, C.; SOUTHON S.; VAN VLIET, T.; VIÑA-RIBES, J.; WILLIANSON, G.; ASTLEY, S. Bioavailability and metabolism. *Molecular aspects of medicine*, 23, 39-100, 2002.
- [23] BRAMLEY, P.M.; ELMADFA, I; KAFATOS, A.; KELLY, F.J.; MANIOS, Y.; ROXBOROUGH, H.E.; SCHUCH, W.; SHEENY, P.J.A; WAGNER, P.K. Review Vitamin E. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 913-938, 2000.
- [24] AZZI, A.; STOCKER, A. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Progress in lipid Research*, 39, 231-255, 2000.
- [25] SOKOL, R.J. Informe Suvimax. *Revista Española de nutrición comunitaria* No. 3, 144-145, 1997.

- [26] FENNEMA, O.R. Química de los Alimentos, 2ª edición. Editorial Acribia S.A.: 633-734, 2000.
- [27] GALLO-TORRES, H.E. Absorption, transport and metabolism, in vitamin E: A Comprehensive Treatise, Ed. by Machlin, L.J. Marcel-Dekker, New York: 170-267, 1980.
- [28] CHIRALT, A.; FITO, P.; ANDRÉS, A. BARAT, J.M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Vacuum impregnation: a tool in minimally processing of foods. En: Processing of Foods: Quality Optimization and Process Assesment. Eds: F.A.R. Oliveira y J.C. Oliveira. CRC Press, Boca Ratón. 341-356, 1999.
- [29] FITO, P. Modelling of vacuum osmotic dehydrattion of foods. Journal of Food Engineering, 22: 313-328, 1994.
- [30] FITO, P.; PASTOR, R. On some diffusional mechanism occurring Vacuum Osmotic Dehydration (VOD). Journal of Food Engineering, 21: 513-519, 1994.
- [31] FITO, P.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; PARDO, P. Coupling of Hydrodynamic Mechanism and Deformation-Relaxion Phenomena During Vacuum Treatments in Solid Porous Food-Liquid Systems. Journal of Food Engineering, 27: 229-240, 1996.
- [32] NTC 4103. 1996. Norma Técnica Colombiana. Fresa variedad Chandler. Especificaciones técnicas.
- [33] DICKINSON, E. An Introduction to Food Colloids. En Dispersions Oxford science publications, 175-199, 1992.
- [34] Ministerio de Salud. Colombia. RESOLUCIÓN 11488 del 22 de Agosto de 1984.
- [35] AOAC. 1980. Official Methods of analysis. 13<sup>th</sup> Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., USA
- [36] AOAC. 1990. Official Methods of analysis. 15<sup>th</sup> Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., USA.
- [37] KAUFMAN, V.R.; GARTI, N. Spectral Absorption for Determination of ease of Formation and Stability of oil in water emulsions. J Dispersion Science and Technology, 2(4): 475-490, 1981.
- [38] CORTÉS, M.; GUARDIOLA, L.; PACHECO, R. Aplicacion de la ingenieria de matrices en la fortificacion de mango (var. Tommy Atkins) con calcio. Dyna, 153, 19-26, 2007.
- [39] CORTÉS M. Desarrollo de productos de manzana deshidratados enriquecidos con vitamina E. [Tesis Doctoral]. Universidad Politécnica de Valencia, España; 2004.
- [40] KMOSTAK, S.; KURTZ, D. Rapid Determination of Supplemental Vitamin E acetate in Feed Premixes by Capillary Gas Chromatography. J. AOAC International, 76 (4), 735-741, 1993.
- [41] FITO, P.; CHIRALT, A.; BETORET, N.; GRASS, M.; CHÁFER, M.; MARTINEZ-MONZO, J.; ANDRÉS, A.; VIDAL, D. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering application in functional fresh food development. Journal of Food Engineering, 49: 175-183, 2001.
- [42] CHIRALT, A.; FITO, P.; ANDRÉS, A. BARAT, J.M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Vacuum impregnation: a tool in minimally processing of foods. En: Processing of Foods: Quality Optimization and Process Assesment. Eds: F.A.R. Oliveira y J.C. Oliveira. CRC Press, Boca Ratón. 341-356, 1999.
- [43] GIRALDO, G. El efecto del tratamiento de impregnación a vacío en la respiración de frutas (manzana, fresa, melocotón y sandía) mínimamente procesadas. Vitae, 13, 2006.

- [44] ALMENAR, E. Envasado activo de fresas silvestres. [Tesis Doctoral]. Universitat de Valencia España, 2005.
- [45] SALVATORI, D. Deshidratación osmótica de frutas: Cambios composicionales y estructurales a temperaturas moderadas. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, España, 1997.
- [46] CASTELLÓ, M.L.; FITO, P.J.; CHIRALT, A. Effect of osmotic dehydration and vacuum impregnation on respiration rate of cut strawberries. *Lewensmittel Food Science and Technology* 39 (10), 1171–1179, 2006
- [47] MARTÍNEZ-MONZÓ, J. Cambios físico-químicos en manzanas Granny Smith asociados a la impregnación a vacío. Aplicaciones en congelación. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España, 1998.
- [48] FITO, P., CHIRALT, A.. Vacuum Impregnation of Plant Tissues. Design of Minimal processing technologies for Fruits and Vegetables. Alzamora S.M, Tapia M.S & Lopez-Malo A. Aspen Publisher, Inc, Maryland, 189–204, 2000.
- [49] ANDRES, A.; SALVATORI, D.; ALBOR, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. Vacuum Impregnation Viability of some Fruits and Vegetables. In: *Osmotic Dehydration & Vacuum Impregnation. Applications in food industries*. En *Osmotic Dehydration & Vacuum Impregnation: Application in Food Industries*. Ed. P. Fito; A. Chiralt; J.M. Barat; Walter E.L. Spiess; Diana Behnlian. Tecnomich. Lancaster, Pennsylvania, U.S.A. 53-60, 2001.
- [50] SALVATORI, D.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, 21: 59-73, 1998.
- [51] CORT, W.M.; MERGENS, W.; GREENE, A. Stability of  $\alpha$  y  $\gamma$ -Tocopherol:  $Fe^{+3}$  y  $Cu^{+2}$  interactions. *Journal of Food Science*, 43: 797-798, 1978.
- [52] IGUAL, M.; CASTELLÓ, M.L.; ORTOLA, M.D.; ANDRÉS, A. Influence of vacuum impregnation on respiration rate, mechanical and optical properties of cut persimmon. *Journal of Food Engineering*, 86, 315–323, 2008.
- [53] CONTRERAS, C.; MARTÍN-ESPARZA, M.E.; CHIRALT, A.; MARTÍNEZ-NAVARETE, N. Influence of microwave application on convective drying: Effects on drying kinetics, and optical and mechanical properties of apple and strawberry. *Journal of Food Engineering*, 88, 55–64, 2008.
- [54] LOPEZ, M. Caracterización de los sistemas enzimáticos responsables del pardeamiento de la fresa [Tesis Doctoral] Universidad de Murcia, España; 1998.
- [55] MOHSENIN, N. Physical properties of plant and animal materials: structure, physical, characteristics and mechanical properties. New York: Gordon and Breach Science Publishers. p.664, 1986.
- [56] RAO, M. A.; STEFFE, J. F. Viscoelastic properties of foods. New York: Elsevier Applied Science. p.444, 1992.
- [57] FIGUEROA, C.; PIMENTEL, P.; GAETE-EASTMAN, C.; MOYA, M.; HERRERA, R.; CALIGARI, P.; MOYA, M. Softening rate of the Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*) fruit reflects the expression of polygalacturonase and pectate lyase genes. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 210-220, 2008.