



Detección de la metabolización de sorbato en alimentos empleando tecnología MWIR

G. Vergara¹, E.M. Rivas^{2,3}, P. Wrent^{2,3}, E. Gil de Prado^{2,3}, M.I. Silóniz^{2,3}, B. Diezma^{2,4}, J. M. Peinado^{2,3}, P. Barreiro^{2,4}

¹New Infrared Technologies S.L., Vidrieros 30 - Nave 2, 28660. Boadilla del Monte, Madrid, Spain, gvergara@niteurope.com

²CEI Campus Moncloa, UCM-UPM: Avda. Complutense, s/n, Madrid, Spain, 913947190, cei@campusmoncloa.es

³HOLEIAL. Departamento de Microbiología III. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid. C/ José Antonio Nováis, 2. 28040 Madrid. e.rivas@ucm.es; pwrent@ucm.es; elena.gil@ucm.es; siloniz@bio.ucm.es; peinado@bio.ucm.es

⁴LPF_TAGRALIA. Departamento de Ingeniería Rural, Universidad Politécnica de Madrid. Avda. Complutense s/n. 28040 Madrid, belen.diezma@upm.es; pilar.barreiro@upm.es

Resumen

Las levaduras son agentes cada vez más relevantes en el deterioro de alimentos siendo algunas de sus principales manifestaciones el crecimiento en superficie, y la producción de gas, sabores y olores desagradables. El ácido sórbico y sus sales derivadas son empleadas habitualmente como conservantes. Estos conservantes son agentes fungistáticos que originan alteraciones morfológicas y metabólicas en dichos microorganismos con el fin de evitar su crecimiento. Sin embargo, existen microorganismos que pueden metabolizarlos produciendo un deterioro del producto. En este trabajo se han empleado muestras procedentes de agua saborizada embotellada, cuya composición incluye agua, zumo de pera, ácido cítrico, zumo de maracuyá y melocotón, aromas naturales, edulcorantes, antioxidantes y conservadores (sorbato potásico). Dicha botella presentaba una contaminación fúngica y un fuerte olor a petróleo, presuntamente debido a la descarboxilación en 1-3 pentadieno del conservante alimenticio, sorbato potásico, que figuraba en su composición. La conclusión principal de este estudio es que es viable emplear la espectroscopía MIR para la cuantificación de la presencia de pentadieno en muestras líquidas de alimentos, siendo éste un compuesto derivado de la descarboxilación del ácido sórbico y sus sales asociadas.

Palabras clave: detección de gases, calidad de alimentos, actividad metabólica, levaduras.

Technology for the detection of sorbate metabolization in foods using MWIR

Abstract

Yeasts are increasingly relevant agents in food spoilage with some of its main manifestations being: surface growth and gas production, flavors and odors. Sorbic acid and derived salts are commonly employed as preservatives which act as fungistatic agents that cause morphological and metabolic disorders in order to prevent their growth. However, there are microorganisms that can metabolize such product. In this paper we have used samples from bottled flavored water, whose composition includes water, pear juice, citric acid, passion fruit and peach juice, natural flavors, sweeteners, antioxidants and preservatives (potassium sorbate). This bottle had a fungal contamination and a strong smell of oil, presumably due to the decarboxylation in 1-3 pentadiene food preservative, potassium sorbate, contained in its composition. The main finding of this study is that it is feasible to employ the MIR spectroscopy to quantify the presence of pentadiene food in liquid samples, this being a compound derived from the decarboxylation of sorbic acid and its salts associates.

Keywords: gas detection, spectroscopy, food quality, metabolic activity, yeasts.

Introducción

Las levaduras son agentes cada vez más relevantes en el deterioro de alimentos (Deák, 2008). A menudo se encuentran o ven favorecido su crecimiento en productos con pH ácido, baja actividad de agua, baja temperatura y en aquellos que contengan conservantes. Las principales manifestaciones de su crecimiento son, entre otras, el crecimiento en superficie, la producción de gas, sabores y olores desagradables (Tudor y Board, 1993; Deák y Beuchat, 1996; Loureiro y Querol, 1999). Entre los conservantes que se añaden a los alimentos se encuentran los ácidos débiles como el sórbico y sus sales, generalmente denominados sorbatos. El ácido sórbico o ácido 2,4-hexadienoico (E-200) es un compuesto orgánico que se emplea como conservante alimentario, al igual que sus sales, sorbato sódico (E-201), sorbato potásico (E-202) y sorbato cálcico (E-203). Se emplean fundamentalmente en productos lácteos, de panadería, frutas y verduras, emulsiones grasas, alimentos azucarados, carnes, pescados y vinos. Estos conservantes son agentes fungistáticos que originan alteraciones morfológicas y metabólicas en dichos microorganismos con el fin de evitar su crecimiento. Sin embargo, existen microorganismos que pueden metabolizarlos produciendo un deterioro del producto. En alimentos con sorbatos en su composición se ha descrito un deterioro como un olor a plástico, hidrocarburos o petróleo debido a la acción de bacterias lácticas y mohos (Nieminen et al. 2008; Pinches y Apps, 2007; Plumridge et al. 2008) El grupo HOLEIAL fue el primero en describir la relación del metabolito responsable, 1-3 pentadieno con levaduras deteriorantes de alimentos (Figura 1), diseñando una prueba rápida (Casas et al., 1999, 2004) en colaboración con una industria de turrónes y mazapanes española.

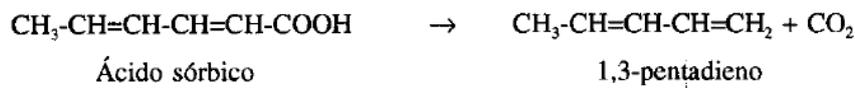


Figura 1. Reacción de descarboxilación del ácido sórbico

Uno de los deterioros más frecuentes producidos en alimentos por organismos deteriorantes es el hinchamiento de envases por producción de gas. En el caso de las levaduras, el origen del gas es la fermentación alcohólica. La capacidad de realizar esta fermentación puede depender o no de la concentración de oxígeno presente, según la especie. Por tanto, la difusión de gases afectaría al hinchamiento a dos niveles, influyendo en la accesibilidad del oxígeno y en la difusión del CO₂.

Las narices electrónicas y los sensores de volátiles son un tema de actualidad desde principios de los años 90 con un uso razonable en aplicaciones industriales y alimentarias actualmente. La detección cuantitativa de metabolitos en alimentos sólidos y semisólidos presenta dificultades. Para resolverlas se están empleando técnicas alternativas al análisis bioquímico. La tecnología de sensores electrónicos para la detección de gases y volátiles se basa en la combinación de sensores con diferente selectividad y sensibilidad. Existen dispositivos que incorporan sensores de baja especificidad (entre los que se encuentran las llamadas narices electrónicas) y otros que incorporan sensores de alta especificidad basados en biosensores. Estos equipos pueden analizar los cambios producidos en la atmósfera que rodea al alimento, provocados por la actividad del producto (frutas y hortalizas) o por la contaminación microbiana, como la fermentación (Ragaert et al., 2007; Amalaradjou et al., 2008; Ghasemi-Varnamkhasti et al., 2010; Lee y Park, 2010).

La tecnología basada en la región del infrarrojo medio del espectro electromagnético (mid-wave IR, MWIR; 3–5 μm) presenta un gran interés tecnológico por dos razones: la primera es que la mayor parte de los objetos emiten en este rango, lo que se aplica a visión nocturna e imagen termográfica (Vergara et al., 2007); y la segunda es que la mayor parte de las especies químicas tienen un patrón espectral en el IR debido a los procesos de absorción asociados con el estado vibracional de las moléculas, haciendo que los sensores IR jueguen un papel muy importante en la detección de gases.

Existen equipos de imagen que incorporan sensores IR dotados de filtros que permiten la visualización de nubes de determinados gases en tiempo real (Naranjo, 2008; Haumonte, 2010). Recientes investigaciones logran la detección de trazas de CO₂ mediante sistemas de imagen MWIR (King y Sailor, 2011; Long et al., 2011).

New Infrared Technologies (NIT), dispone de una patente en la que se desarrolla un innovador procedimiento para la fabricación de detectores de MWIR no refrigerados (deposición del material PbSe policristalino mediante evaporación térmica, VPD-PbSe), lo que abarata enormemente los dispositivos, les confiere mayor estabilidad y permite altas velocidades de adquisición (hasta 1.600 imágenes por segundo). Estos nuevos detectores pueden montarse individualmente o en matrices. En el primer caso, junto con filtros específicos, son la base de equipos espectroscópicos de bajo coste. La segunda opción, es el punto de partida de los equipos de imagen.

El deterioro microbiano de alimentos ocasionado por levaduras produce grandes pérdidas económicas en las industrias por las devoluciones de los consumidores. Además, una vez que se ha contaminado el alimento y han crecido las levaduras en él, son muy difíciles de eliminar, por lo que el único abordaje eficaz es prevenir y controlar la contaminación. Por ello, en el presente trabajo se ha llevado a cabo una colaboración entre la empresa New Infrared Technologies y los grupos de investigación Hongos y Levaduras de Interés en Agroalimentación (HOLEIAL) y LPF_TAGRALIA de la Universidad Complutense de Madrid y la Universidad Politécnica de Madrid, respectivamente, para la puesta a punto de equipos basados en MWIR de bajo coste, con el fin de detectar y cuantificar el CO₂ y 1,3-pentadieno producidos por el crecimiento en alimentos de levaduras deteriorantes.

Material y Métodos

En este trabajo se han empleado muestras procedentes de agua saborizada embotellada, cuya composición incluye agua, zumo de pera, ácido cítrico, zumo de maracuyá y melocotón, aromas naturales, edulcorantes, antioxidantes y conservadores (sorbato potásico). Dicha botella presentaba una contaminación fúngica (Figura 2) y un fuerte olor a petróleo, presuntamente debido a la descarboxilación en 1-3 pentadieno del conservante alimenticio, sorbato potásico, que figuraba en su composición.

Para la detección y cuantificación del 1-3 pentadieno se emplearon la muestra original y diferentes diluciones en agua de la misma (75%, 50%, 25%, 10% y 1%).

Las medidas de CO₂ se han realizado mediante la técnica de absorción infrarroja. En la Figura 2 se muestra un esquema del sistema experimental utilizado. Como fuente de luz infrarroja se ha utilizado un filamento de SiC de 12 W con un reflector parabólico de 2,5 cm de diámetro. El espectrómetro utilizado fue un Luxell LVF-128 de New Infrared Technologies cuya configuración permitía hacer las medidas relativas de concentración CO₂ en bolsa cerrada.

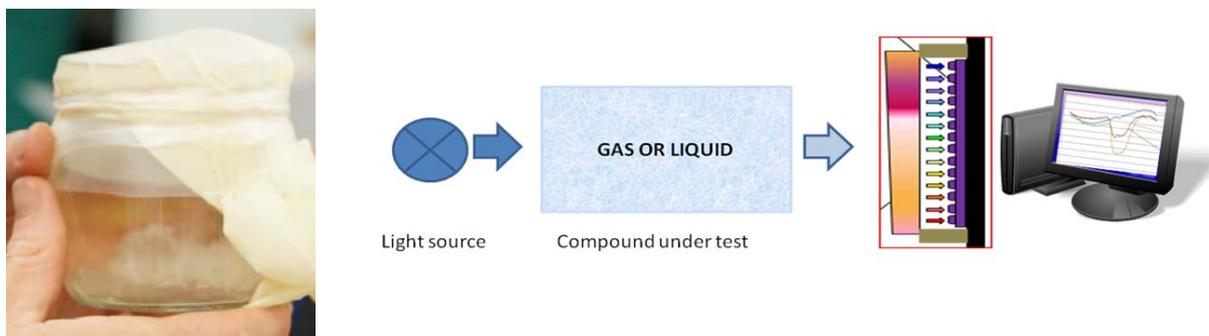


Figura 2. Muestra del agua empleada para la detección de 1-3 pentadieno (izquierda), y procedimiento de análisis MWIR (derecha)

El espectrómetro infrarrojo permite medir simultáneamente todo el espectro IR comprendido entre 3 y 4.6 micras. Un filtro lineal variable acoplado a una línea de 128 detectores de VPD PbSe divide la banda espectral en 128 intervalos de 60 nm de ancho de banda.

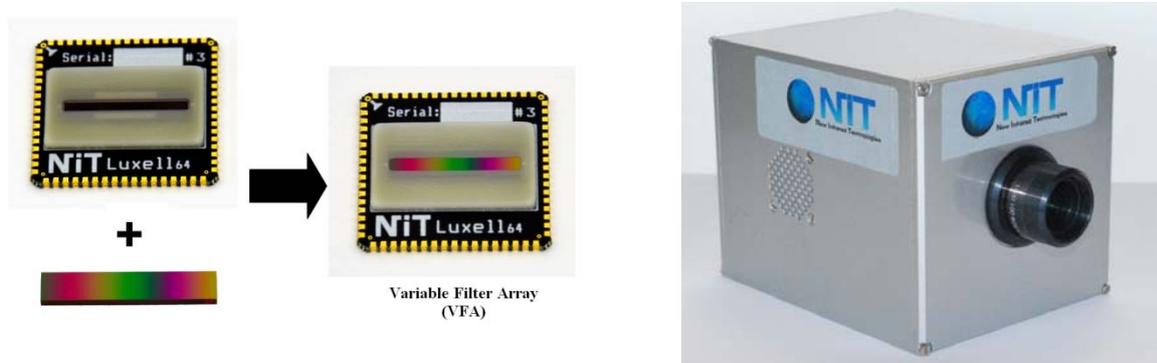


Figura 3. Filtro lineal variable y óptica empleada desarrollada por la empresa española NIT a partir de una patente liberada al ejército.

Con objeto de maximizar la relación señal ruido, se ha utilizado una lente de silicio que permite concentrar de una manera óptima la iluminación del emisor IR de SiC sobre la línea de 128 detectores. En la Figura 3 se muestra una fotografía del espectrómetro utilizado.

Resultados y discusión

La Figura 4 (izquierda) indica que el espectro tipo del agua saborizada muestra un pico de absorción centrado en 3.4µm. De cara a verificar la capacidad de estimación cuantitativa de los espectros, sobre los espectros medios de las distintas diluciones del agua saborizada agua destilada se ha realizado un análisis de componentes principales. La Tabla 1 presenta la varianza retenida por cada uno de los componentes principales, así como el coeficiente de correlación entre la concentración de agua saborizada en la muestra y los cinco primeros componentes principales. El resultado principal es que la varianza retenida a partir del segundo componente principal es testimonial en relación a los dos primeros (99.6 y 0.4% respectivamente). Tanto el PC1 como el PC2 muestran una correlación muy significativa con el nivel de concentración de agua saborizada. En la Figura 4 (derecha) se representa dilución versus valor de proyección en el PC2 ($r=0.8537$).

Tabla 1. Resumen del análisis de componentes principales realizado sobre los espectros MIR: varianza retenida y coeficiente de correlación de la concentración de agua saborizada-con restos de pentadieno respecto a los distintos componentes principales.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Varianza Retenida (unidades normalizadas, adimensional)	6774100 (99.6%)	25100 (0.4%)	2800 (411.5ppm)	1300 (191.1ppm)	900 (132.3ppm)
r	0.8438	0.8537	0.2501	0.0243	0.1293

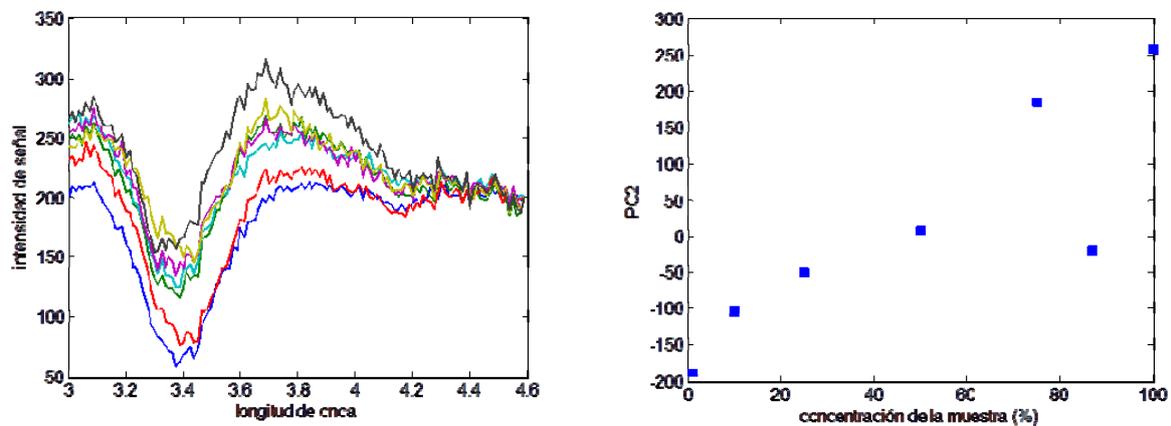


Figura 4. Espectros MIR (izquierda) y representación bidimensional de la concentración de agua saborizada con restos de pentadieno respecto al segundo componente principal.

La conclusión principal de este estudio es que es viable emplear la espectroscopía MIR para la cuantificación de la presencia de pentadieno en muestras líquidas de alimentos, siendo éste un compuesto derivado de la descarboxilación del ácido sórbico y sus sales asociadas.

En un futuro próximo se procederá a la validación del procedimiento en extenso, así como al estudio de su aplicación a la evaluación de espacios de cabeza gaseosos en producto sólido envasado.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación parcial de este trabajo al Proyecto Nacional del MICINN SMARTQC (AGL2008-05267-C03-03) y a las becas predoctorales FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte y PICATA del Campus de Excelencia Internacional de Moncloa.

Bibliografía

- Amalaradjou M.A.R, Venkitanarayanan K. (2008). Detection of *Penicillium*, *Aspergillus* and *Alternaria* Species in Fruits and Vegetables. *Mycotoxins in Fruits and Vegetables*. San Diego, Academic Press: 225-247.
- Casas, E., de Ancos, B., Valderrama, M.J., Cano, P., Peinado, J.M. (2004). Pentadiene production from potassium sorbate by osmotolerant yeasts. *International Journal of Food Microbiology* **94**, 93-6.
- Casas, E., Valderrama, M.J. and Peinado, J.M. (1999). Sorbate detoxification by spoilage yeasts isolated from marzipan products. *Food Technology and Biotechnology* **37**: 87-91.
- Deák, T. (2008). Handbook of food spoilage yeasts. Florida: CRC Press.
- Deak, T., Beuchat, L.R. (1996). Handbook of food spoilage yeasts. CRC Press, Boca Ratón. Flo.
- Ghasemi-Varnamkhasti, M., Mohtasebi, S.S., Siadat, M. (2010). Biomimetic-based odor and taste sensing systems to food quality and safety characterization: An overview on basic principles and recent achievements. *Journal of Food Engineering* **100**, 377-387.
- Haumonte / Bertin Technologies. (2010). "New method to improve on-site safety with IR gas cloud imaging system", in: S. o. P. Engineers (Ed.), Middle East Health, Safety, Security and Environment Conference and Exhibition, Manama, Bahrain.
- King, B., Sailor, M.J. (2011). Medium-wavelength infrared gas sensing with electrochemically fabricated porous silicon optical rugate filters. *Journal of Nanophotonics* **5**. doi:10.1117/1.3558740
- Lee, S.H., Park, T.H. (2010). Recent advances in the development of bioelectronic nose. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* **15**, 22-29.

- Long, Y., Wang, L., Li, J., Zhang, C., Zhang, B. (2011). Detectivity of gas leakage based on electromagnetic radiation transfer. Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering, Orlando, FL.
- Loureiro, V., Querol, A. (1999). The prevalence and control of spoilage yeasts in foods and beverages. *Trends in Food Science & Technology* 10, 356-365.
- Naranjo, E. (2008). Improving plant safety through IR gas cloud imaging, in: ISA (Ed.), International Instrumentation Symposium, Pensacola Beach, FL.
- Nieminen, T., Neubauer, P., Sivela, S., Vatamo, S., Silfverberg, P., Salkinojasalonen, M. (2008). Volatile compounds produced by fungi grown in strawberry jam. *LWT - Food Science and Technology* 41, 2051-2056.
- Pinches, S., Apps, P. (2007). Production in food of 1,3-pentadiene and styrene by *Trichoderma* species. *International Journal of Food Microbiology* 116, 182-185.
- Plumridge, A., Stratford, M., Lowe, K.C., Archer, D.B. (2008). The weak-acid preservative, sorbic acid, is decarboxylated and detoxified by a phenylacrylic acid decarboxylase, PadA1, in the spoilage mold *Aspergillus niger*. *Applied Environmental Microbiology* 74, 550-552.
- Ragaert, P., Devlieghere, F., Debevere, J. (2007). Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 44, 185-194.
- Tudor, E.A., Board, R.G. (1993). Food-spoilage yeast. En Rose, A.H. y Harrison, J.S. (eds.), The Yeasts. Academic Press, Londres, Vol. 5, pp. 435-516.
- Vergara, G., Montojo, M.T., Torquemada, M.C., Rodrigo, M.T., Sánchez, F.J., Gómez, L.J. Almazán, R.M., Verdú, M., Rodríguez, P., Villamayor, V., Álvarez, M., Diezhandino, J., Plaza, J., Catalán, I. (2007). Polycrystalline lead selenide: the resurgence of an old IR detector. *Optoelectronic Review* 15, 110-117.