



Supervisado del deshidratado de zanahorias con imagen de resonancia magnética nuclear

H. Jiménez-Ariza¹, E. Correa-Hernando^{1,2}, B. Diezma¹, P. Barreiro¹, M. Fernández-Valle³,
M. Ruíz-Altisent¹

¹LPF-TAGRALIA. Grupo de Investigación. E.T.S.I. Agrónomos. Dpto. Ingeniería Rural. Universidad Politécnica de Madrid, CEI-Campus Moncloa. Avda. Complutense s/n. 28040. Madrid. España.

E-mail: tatiana.jimenez.ariza@upm.es

²E.U.I.T. Agrícola. Dpto. Ciencia y Tecnología Aplicadas. Universidad Politécnica de Madrid. Avda. Complutense s/n. 28040. Madrid España.

³CAI RMN, Universidad Complutense de Madrid. CEI-Campus Moncloa. Avda. Juan XXIII 1. 28040, Madrid, España

Resumen

La imagen de resonancia magnética nuclear (RMN) aplicada en el análisis de alimentos permite evaluar y cuantificar la humedad o grasa en un material entre otros. En el caso del análisis de productos deshidratados y el estudio evolutivo de la pérdida de agua a lo largo de la operación de secado, puede proporcionar información espacio temporal, importante para definir y mejorar las características del proceso orientado hacia la mejora de la calidad en el producto final. En el presente trabajo se evaluaron 9 muestras de zanahorias sin piel, quedando una fresca como referencia y las otras 8 se secaron en estufa con circulación de aire forzado a 50°C. Las muestras se ensayaron por duplicado según 4 tiempos de secado diferentes 6, 12, 24 y 30 horas, con porcentajes finales de humedad desde el 90% (zanahoria fresca), hasta el 18%. Se obtuvo para cada muestra mapas de densidad protónica (DP) utilizando el equipo de RMN Bruker BIOSPEC 47/40 (de 4.7T, 200MHz y gradientes de 6cm de diámetro), al escanearlas se obtuvo un total de 10 cortes transversales cada 5 mm. Se construyó una matriz de 10 cortes x 9 muestras incluyendo todas las imágenes de DP, la imagen resultante se segmentó para establecer parámetros cuantitativos sobre cada corte, mediante técnicas de análisis de imagen.

Los valores de DP representan la cantidad de protones H⁺ que han sido excitados proporcionales a la cantidad de agua en el alimento, a menores niveles de DP menor cantidad de agua en el alimento: se generaron histogramas representando el número de píxeles de la imagen que pertenecen a una clase de valores de DP por corte. Algunos de los histogramas presentaron un patrón bimodal, que puede asociarse a los distintos tejidos presentes en la zanahoria principalmente córtex y cilindro vascular, lo que indica, es que contiene diferentes coeficientes de difusividad efectiva, velocidades de secado y contenido final de humedad diferenciadas para cada tejido (Sriaktden y Roberts, 2008). La utilización de la RMN proporciona información acerca de la desigualdad en la distribución del agua en las diferentes estructuras de una misma matriz sólida. A la par del estudio en DP, se realizó un análisis para cuantificar la evolución de la contracción del tejido, parámetro de calidad importante, que aumenta con la pérdida de agua durante el proceso. Se obtuvieron los gráficos que muestran la relación perímetro/área sobre las imágenes de DP por corte, indicando una agrupación de las muestras según cuatro niveles de humedad correspondientes a diferentes tiempos de secado: 90% (fresca), 60% (6 h), 50% (12 h) y 18% (24 h y 30 h).

Palabras clave: RMN, Contracción, Microestructura, Densidad Protónica

Monitoring of carrot dehydration by means of MRI

Abstract

Nuclear magnetic resonance NMR in food analysis can evaluate and quantify moisture or lipids in living tissues. Its application in the analysis of dehydrated product as well as for the study of evolution of water loss during the drying operations can provide relevant spectrum-temporal information to define and improve process characteristics oriented toward quality improvement in the final product. In the present study 9 samples of carrots skinned were evaluated, leaving a fresh sample as reference and the rest were dried in a forced air circulation drying oven at 50 °C. Samples were performed in duplicate under 4 different drying periods 6, 12, 24 and 30 hours, with final moisture percentage from 90% (fresh carrot), to 18%. For each sample, it was obtained the proton density maps (DP) for 10 transversal planes located every 5 mm, by the NMR equipment BIOSPEC

Bruker 47/40 (of 4.7T, 200MHz and gradients of 6cm of diameter). A matrix of 10x9 samples was generated with the respective cuts of all images of DP. Image analysis techniques were implementing on each cut.

The DP values represent the amount of protons H⁺ that have been excited in proportion to the amount of water in the food, to low levels of DP less amount of water in the food. Histograms representing the number of pixels of the image belonging to a class of DP values were generated is formed for each cut. Some of the histograms showed a bimodal pattern, which can be associated with different tissues that one present in the root: cortex and vascular cylinder, which with different effective diffusivity coefficients (Sriakaden and Roberts, 2008) would show different drying rates and final moisture content in each tissue. The use of NMR provides information about the spatial distribution of water in the different structures of the same solid matrix. Simultaneously, it was analyzed the evolution of shrinkage, an important quality parameter that increases with the loss of water during processing. Plots of perimeter vs. area were obtained for each DP image, showing a grouping of the samples according to four levels of humidity corresponding to different drying time: 90% (fresh), 60% (6 h), 50 % (12 h) and 18% (24 h and 30 h).

Keywords: NMR, Shrinkage, Microstructure, Proton Density.

Introducción y/o Justificación

Las frutas y verduras deshidratadas son una alternativa de consumo y preparación de alimentos, que permite a la industria ofrecer productos hortofrutícolas con mayor vida útil que el producto fresco sin alterar en exceso las características nutricionales del alimento. Conocer los cambios en la composición y estructura del alimento en el proceso de deshidratación, puede proporcionar información relevante para mejorar los procesos de secado y generar productos con mejores características organolépticas. El conocimiento de la composición y la distribución del agua interna en frutas y verduras, facilita la descripción de aspectos como la liberación de aromas y sabores después de la rotura de las células o modificaciones en la estructura ocasionados en operaciones como el secado (Aguilera, 2005). El cambio volumétrico por la pérdida de agua ocasiona cambios en los tejidos vegetales, la llamada “contracción”, en el caso de la zanahoria puede conducir a un aspecto visual indeseable que provoque el rechazo del consumidor, así como también a una disminución de la capacidad de rehidratación del producto seco (Jayarama et al, 1990).

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN), se puede aplicar a una amplia variedad de matrices alimentarias de líquidos y sólidos sin alterar la muestra o generar algún tipo de residuo peligroso, los equipos utilizados actualmente han permitido utilizar esta técnica de una forma más amplia en la ciencia y tecnología de alimentos, obteniendo información sobre su composición química y estructural de los alimentos, igualmente permite evaluar las modificaciones en su composición y estructura cuando el alimento es sometido a algún tipo de operación o proceso de transformación (Marcone et al, 2013). El fundamento de la relaxometría de la RMN, permite la medición de la excitación de los protones H⁺, siendo este valor proporcional a la cantidad y distribución de agua en un alimento: a mayor niveles de intensidad de densidad protónica, mayor cantidad de agua (Butz et al, 2005). (Monteiro et al 1991), encontraron en su estudio que en el caso de zanahorias deshidratadas con valores tan bajos de contenido de agua del 5 al 20 %, la señal obtenida en RMN era suficientemente intensa como para ser detectada y evaluada; lo cual redundaba en la idoneidad de esta técnica para el análisis de productos deshidratados.

Este trabajo pretende evaluar la variabilidad de la distribución interna del agua en cilindros de zanahoria entera sometidos a diferentes niveles de secado, así como su relación con la contracción del tejido de la zanahoria.

Materiales y Métodos

En este estudio se utilizaron 9 zanahorias de la variedad Nantes, compradas en un supermercado local, se retiró la piel y se cortaron los dos extremos, dando lugar a cilindros con tamaños finales de 2 a 3 cm de diámetro y longitudes de 9 a 10 cm. Las muestras de zanahorias se secaron en una estufa de circulación de aire forzado DIGITRONIC a 50°C.

Las muestras por duplicado se sometieron a 4 tiempos de secado diferentes, 6, 12, 24 y 30 horas, dejando una de ellas en fresco (tiempo de secado 0h) para utilizarla como referencia. Las humedades resultantes de los procesos de secado variaron desde el 18% hasta el 60% (ver Tabla 1), la zanahoria fresca presentó una humedad en peso húmedo del 90.6 %.

Tabla 1. Porcentaje de humedad en peso húmedo de las zanahorias según diferentes tiempos de secado. (a) y (b) identifica los diferentes duplicados para un mismo tiempo de secado

Tiempo de secado (h)	0	6(a)	6 (b)	12 (a)	12 (b)	24 (a)	24 (b)	30 (a)	30 (b)
% Humedad	90.6%	59.9%	59.6%	47.9%	48.9%	18.2%	18.9%	18.1%	18.2%

Se adquirieron imágenes de densidad protónica (DP) de las zanahorias con el equipo de resonancia magnética Bruker BIOSPEC 47/40 (Ettlingen, Alemania), usando la aplicación ISA (Image Sequence Analysis) del programa ParaVision 3.0.1. El equipo trabaja a 4.7T (200 MHz) y está equipado con un gradiente de 6 cm de diámetro. En el momento de escaneo de cada lámina se programó el equipo para realizar un total de 10 cortes transversales cada 5 mm. Para cada uno de estos cortes se obtuvo una serie de 64 ecos usando una secuencia de eco de espín de múltiples ecos. El tiempo de repetición (TR) para todos los experimentos fue de 5.000 ms y el tiempo de eco (TE) varió entre 5 ms y 320 ms. El tamaño de la matriz fue de 128x128 y el campo de visión (FOV) de 3x3 cm².

Para la obtención de los mapas de DP, el programa ISA realiza para cada píxel de la imagen un ajuste por mínimos cuadrados de la curva de la intensidad de la imagen en ese píxel frente al tiempo de eco, según la ecuación 1:

$$S = \rho \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (1)$$

Donde S es la intensidad de la señal de la imagen en el píxel para cada eco, ρ correspondería a la señal en el píxel para $t=0$, es decir, la intensidad de la señal si $TE=0ms$, y por tanto proporcional a la densidad de protones en el píxel, t es el valor del tiempo de eco de cada imagen en ms y T_2 es el tiempo de relajación transversal en el píxel, expresada en ms.

Debido a que en el caso de las muestras sometidas a deshidratación la señal de resonancia tiene una baja intensidad, dichos mapas presentan múltiples puntos en los que el ajuste no converge dando lugar a valores de DP y de T_2 erróneos. Por esta razón, se descartaron los mapas así calculados y se compararon las imágenes correspondientes a $TE=5$ ms cuya intensidad se asemeja más al valor real de los mapas de DP. Las imágenes así obtenidas para su comparación, se ajustaron utilizando el logaritmo (log) de los valores de DP en cada pixel.

Se construyó una matriz de 10 cortes x 9 muestras de zanahoria, exceptuando en la muestra de zanahoria de 30 horas (a), que solo se obtuvo un total de 9 cortes, debido a la corta longitud del cilindro de zanahoria, teniendo un total de 89 objetos (ver Figura 1). Estas imágenes fueron procesadas con Matlab®, aplicando en primer lugar un proceso de segmentación, obteniendo una imagen binaria al asignar a los niveles de gris correspondientes al tejido de la zanahoria el valor de 1 (blanco) y a los del fondo un valor de 0 (negro). La imagen de DP de las zanahorias (manteniendo el valor 0 para el fondo) se obtuvo multiplicando la matriz binaria por la matriz original de intensidades de DP.

Resultados y Discusión

Se ha encontrado que para las muestras con un porcentaje de humedad mayor al 20%, los valores de DP se encuentran dentro del rango de los valores de intensidad de 10^{10} , en contraposición de las muestras de zanahoria con una humedad inferior al 20% que presentan valores de intensidad de DP en el rango de 10^5 para cada pixel (ver Figura 2). Esta primera aproximación nos permite afirmar que la RMN, es una técnica viable para la medición del contenido de agua al poder relacionar los valores de intensidad de DP con la humedad de las zanahorias deshidratadas.

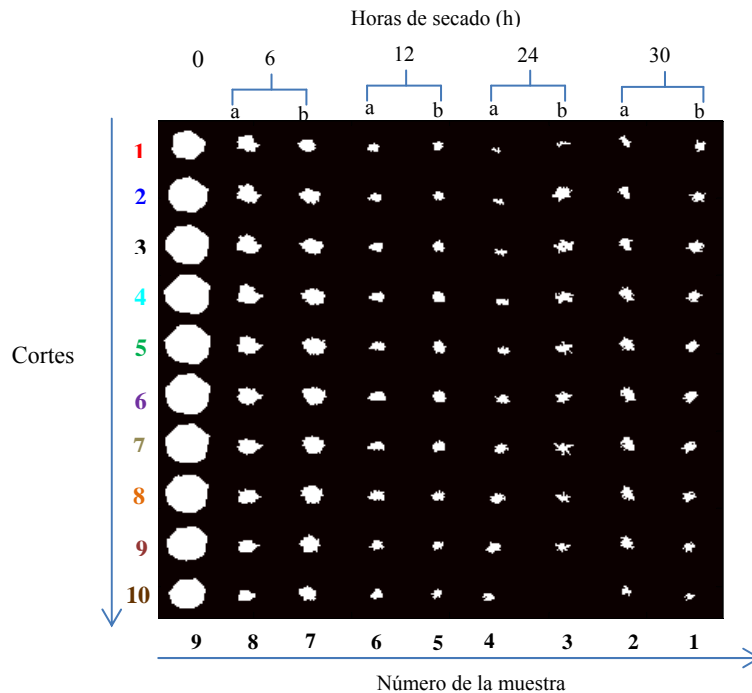


Figura 1. Imagen binaria resultante del proceso de segmentación de los cortes de zanahoria. (a) y (b) corresponden a los diferentes duplicados para un mismo tiempo de secado

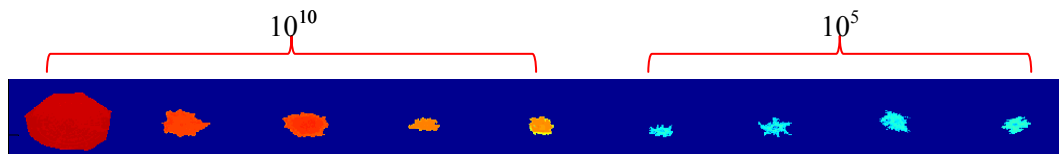


Figura 2. Valores de intensidad de densidad protónica, para el corte número. 5 (zona central zanahoria) La escala de color empleada se corresponde con los distintos niveles de DP (rojizos altos niveles, azulados bajos niveles) medidos en cada pixel.

En la Figura 3, están representados cuatro histogramas de los valores de intensidad de DP con relación al número de píxeles para dicho corte, junto con su imagen de DP (esquina superior del histograma). En la Figura 3.a, zanahoria fresca, los píxeles se encuentran agrupados en valores de DP comprendidos entre 1 y $1,5 \times 10^{10}$, rango muy estrecho que indica que la muestra y su contenido de agua son muy homogéneos. Con respecto al histograma de la Figura 3.b se puede apreciar que la dispersión de los píxeles es mayor, en un rango de valores de intensidad entre 2 y 9×10^8 , lo que indica la pérdida heterogénea de agua de la muestra, correspondiendo los valores más pequeños de intensidad de DP a los píxeles de las capas exteriores, que son las que al interactuar directamente con el medio exterior, pierden rápidamente el agua libre en las primeras horas de secado.

La Figura 3.c, que corresponde al histograma para un tiempo de proceso de 12 horas, presenta una pequeña disminución de los niveles de intensidad de la DP con respecto al anterior nivel de secado, manteniéndose en un rango entre 0,2 y $5,7 \times 10^8$. La distribución de los valores de DP en la sección transversal permite diferenciar el xilema ó “corazón de la zanahoria” con respecto al floema o “pulpa circundante al corazón”. En el histograma de esta imagen se pueden ver varias modas locales; se comprueba que los píxeles representados en torno a la primera moda con unos valores de DP cercanos al $0,2 \times 10^8$ de valor de intensidad, corresponden al xilema y los que se agrupan en torno a la moda de $5,5 \times 10^8$ forman parte del floema. En la Figura 3.d aún se puede diferenciar el xilema del floema aunque, en general, los valores de intensidad para toda la muestra están en un rango bastante bajo con valores comprendidos entre 0,2 y $2,5 \times 10^6$ lo que es concordante con el menor porcentaje de humedad de esta muestra (valores cercanos al 18%). El desplazamiento de los histogramas hacia niveles más bajos de intensidad de DP según disminuye el contenido en agua de las muestras, y la identificación en los mismos de los diferentes tejidos presentes en la zanahoria, caracterizados por diferentes

coeficientes de difusividad efectiva, permite considerar la RMN como una metodología apta para la caracterización de los procesos de deshidratación en matrices alimentarias heterogéneas.

Durante el proceso de pérdida de humedad, el número total de píxeles representados en el histograma disminuye a causa de la disminución del volumen de la muestra por la pérdida de agua, evidenciando la contracción que se produce durante el proceso de secado.

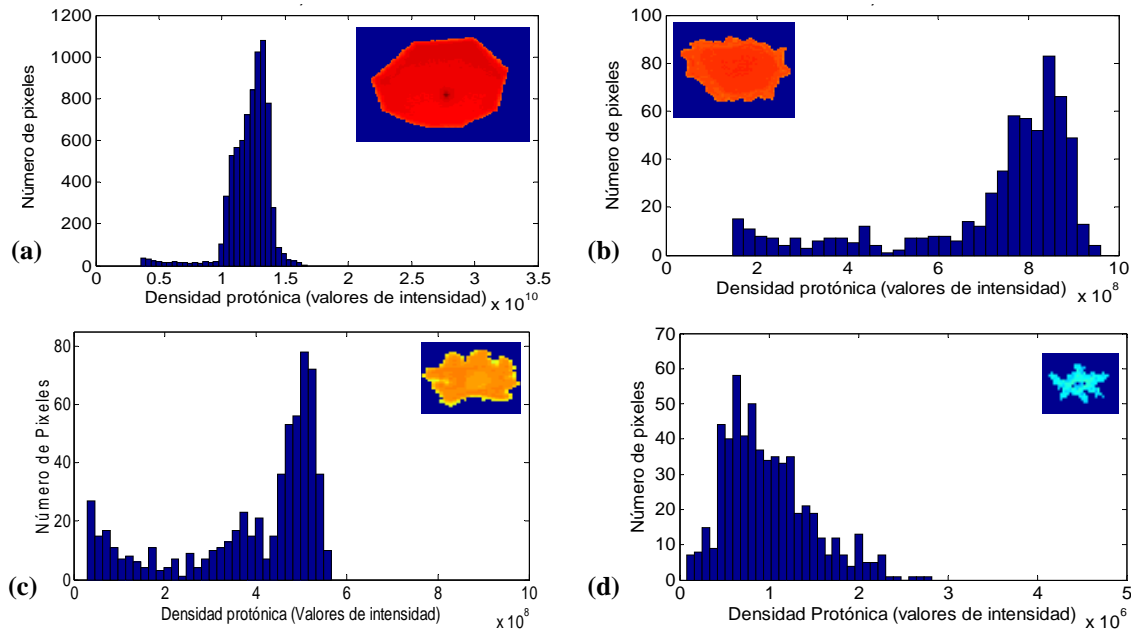


Figura 3. Histogramas de DP con respecto al número de píxeles para secciones transversales de zanahoria con diferentes % humedad (a)90.6% y 0 h de secado; b)59% y 6 h de secado; c)48.9% y 12 h de secado; d)18.9% y 24 h de secado)

En la Figura 4, se representa el área de cada corte con respecto al rango intercuartil de los valores de intensidad, cada zanahoria está representada con un símbolo, y los 10 cortes están representados con un color diferente (corresponde al color del número de corte en la Figura 1). Con este gráfico podemos evaluar la contracción sufrida por la zanahoria y cómo evoluciona la pérdida de contenido de agua de dicha muestra; el rango intercuartil nos permite evaluar la variabilidad de los valores de DP de cada corte. Para los cortes frescos es decir (0 horas de proceso) hay una mayor diferencia de tamaño entre cortes, luego las secciones se homogenizan durante el secado. Igualmente se observa que en las zanahorias con un proceso de secado mayor a 24 horas su variabilidad en el contenido de agua dentro de cada corte es menor que la variabilidad correspondiente a las de menor tiempo de secado. Pasadas las 6 primeras horas de proceso las diferentes muestras presentan diferencias de tamaño cada vez menor. No se presentan diferencias significativas entre las muestras sometidas a 24 y 30 horas de procesado, lo que indicaría que a partir de las 24 se está alcanzando una situación de equilibrio entre la humedad del tejido de la zanahoria y la del medio circundante. Así, la tecnología de RMN, puede ser de utilidad para establecer el tiempo óptimo de proceso para alcanzar un determinado nivel de contenido en agua evitándose así tiempos de procesado innecesariamente prolongados.

Se puede observar también que los mayores cambios en el área de las secciones transversales se producen durante las primeras 6 horas de proceso; la disponibilidad de esta información permitiría evaluar metodologías y protocolos en el proceso de deshidratado para controlar la contracción.

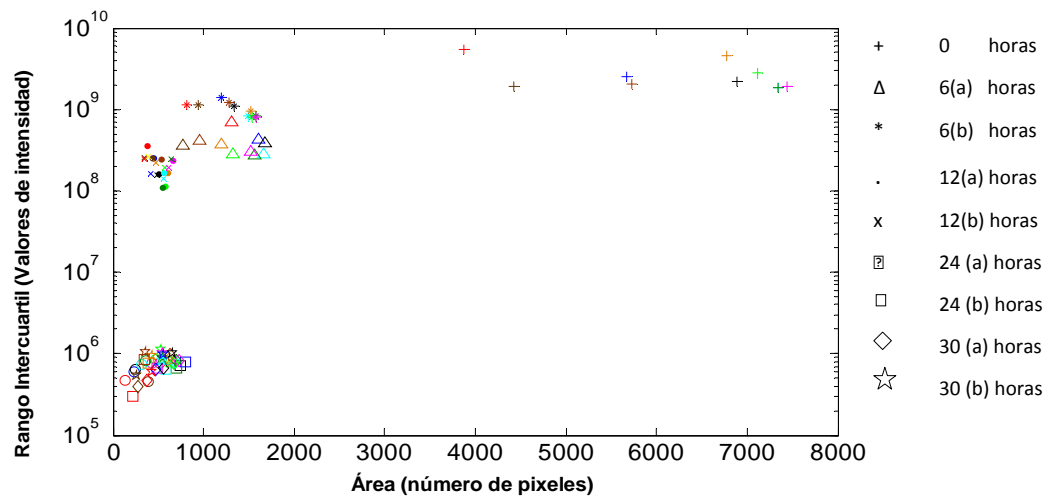


Figura 4. Representación de los valores de DP, con respecto al rango intercuartil y su relación con el área de cada corte

Conclusiones

La imagen de resonancia magnética nuclear es una técnica adecuada para la evaluación del contenido de agua en las diferentes fases de deshidratación de zanahoria, incluso para valores de humedad del 18%. Esta técnica permite visualizar no destructivamente diferentes tejidos dentro de una misma matriz alimentaria, en este caso se puede distinguir el xilema del floema en la muestra de zanahoria.

El avance de la contracción se relaciona directamente con la pérdida de humedad durante el secado, pero como una relación diferencial no lineal. La MRI permite calcular el área pérdida a lo largo de la muestra, con lo cual se puede calcular el total del volumen perdido en ese momento, pudiéndose utilizar este parámetro como variable de seguimiento del proceso de secado, o como indicador de terminación del proceso. No se trata de una técnica de uso industrial sino de un proceso de laboratorio que permite acotar parámetros fundamentales, como el coeficiente de difusividad indispensable para la realización de modelos de elementos finitos basados en primeros principios.

Agradecimientos

El presente trabajo se ha financiado por el proyecto Europeo KBBE-2B-226783 (INSIDEFOOD). Los autores agradecen al personal del CAI de RMN (UCM) por su ayuda y al campus de excelencia internacional CEI Moncloa.

Bibliografía

- Aguilera, J. M. (2005). Why food microstructure? *Journal of Food Engineering*, **67**(1–2), 3-11.
- Butz, P., Hofmann, C. and Tauscher, B. (2005) Recent developments in noninvasive techniques for fresh fruit and vegetable internal quality analysis. *Journal of Food Science*, **70**, R131–R141.
- Jayaraman, K., Gupta, D. and Rao, N. (1990), Effect of pretreatment with salt and sucrose on the quality and stability of dehydrated cauliflower. *International Journal of Food Science & Technology*, **25**: 47-60.
- Marcone, M. F., Wang, S., Albabish, W., Nie, S., Somnarain, D., and Hill, A. (2013). Diverse food-based applications of nuclear magnetic resonance (NMR) technology. *Food Research International*, **51**(2), 729-747.
- Monteiro marques, J. P., Rutledge, D. N., and Ducauze, C. J. (1991). Low resolution pulse nuclear magnetic resonance study of water equilibration in dried carrots. *International Journal of Food Science & Technology*, **26**(2), 173-183.