

615

PROYECTO ESPECÍFICO

Estrategias para la diferenciación de productos y el desarrollo de nuevos productos alimentarios

PROYECTO INTEGRADOR Optimización de calidad integral y otras estrategias de agregado de valor.

EFFECTO DE LA FORMULACIÓN Y LAS CONDICIONES DE PROCESAMIENTO SOBRE EL DESARROLLO DEL PARDEAMIENTO NO ENZIMÁTICO Y LA ESTABILIDAD DE CAROTENOIDES EN COPOS DE MAÍZ

M.A. Cueto^{1,2}, G. Rolandelli^{1,2}, S. Perez Burillo³, J.A. Rufián-Henares³, A.E. Farroni⁴, M.P. Buera^{1,2}¹ Departamentos de Industrias y Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Intendente Güiraldes 2160, Ciudad Universitaria, C1428EGA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290, C1425FQB, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.³ Departamento de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus Universitario de Cartuja, 18071, Granada, España.⁴ Laboratorio de Calidad de Alimentos, Suelos y Aguas, Estación Experimental Agropecuaria Pergamino (EEA Pergamino), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Avenida Frondizi (ruta 32) km 4,5, 2700, Pergamino, Buenos Aires, Argentina.Correo electrónico: farroni.abel@inta.gob.ar**RESUMEN**

El proceso de producción de copos de maíz por laminación comprende las etapas de cocción al vapor, atemperado, laminado y tostado. Durante la cocción y además en el tostado, ocurre la reacción de Maillard, favorecida por las elevadas temperaturas y el bajo contenido de agua en este último paso. Además, se produce la pérdida de compuestos de interés, como los carotenoides. Los diferentes ingredientes que constituyen la formulación de los copos de maíz influyen sobre el color y el *flavor* del producto final y, por lo tanto, sobre la aceptación por parte de los consumidores. Sin embargo, en el proceso también se forman ciertos compuestos indeseables. Por lo tanto, es importante evaluar el papel de la formulación y del tiempo de tostado en el desarrollo de color y la formación de marcadores químicos. Los copos de maíz se equilibraron a a_w 0,8 y tostaron a 230°C. Luego de la extracción de pigmentos fluorescentes con pronasa, se realizaron análisis de fluorescencia, absorbancia a 420 nm, coordenadas de color y contenido de furfurales. Por otro lado, se evaluó la estabilidad de los carotenoides en las distintas etapas del proceso de elaboración. Respecto a la formulación, la sacarosa mostró un efecto sinérgico con la sal y la malta para acelerar la reacción de Maillard. La formulación afectó significativamente la cantidad de HMF y furfural formados. Los parámetros cromáticos L^* y a^* fueron variables adecuadas para evaluar reacción de pardeamiento. Durante el proceso de cocción se perdió un 60% de luteína y un 40% de zeaxantina. Luego del tostado, la etapa final, el porcentaje de pérdida de ambos compuestos fue del 80%. Estos resultados permiten profundizar en el conocimiento de las reacciones que ocurren durante el procesamiento de los cereales, para poder definir las condiciones que disminuyan la generación de compuestos indeseables y la mayor retención de las sustancias de interés.

Palabras clave: maíz, furfurales, fluorescencia, color, carotenoides**ABSTRACT**

Corn flakes production includes four stages: steam cooking, drying, lamination and toasting. During steam cooking and toasting stages, Maillard reaction takes place, enhanced by the high temperature and the low water content. Moreover, some components of interest are lost, such as carotenoids. The different ingredients that constitute the corn flake formulation influence color and flavor of the final product and, therefore, on consumer acceptance. However, during processing, certain undesirable compounds are also formed. Thus, it is important to evaluate the importance of the ingredients and toasting time on the color development and the formation of chemical markers. Corn flakes were equilibrated at a_w 0.8 and toasted at 230°C. After fluorescent pigments extraction with pronase, fluorescence, absorbance at 420 nm, color coordinates and furfurals content analysis were performed. On the other hand, the stability of carotenoids during the different stages of elaboration was analyzed. Regarding the formulation, sucrose showed a synergistic effect with salt and malt, enhancing the Maillard reaction. Formulation significantly affected the amount of HMF and furfurals formed. Chromatic parameters L^* and a^* were proper variables evaluated in relation with the browning reaction. During cooking, 60% of lutein and 40% of zeaxanthin were lost. After toasting, the final stage, the percentage of loss was 80% for both compounds. These results allow further understanding of the reactions that take place during cereal processing, in order to define the best conditions to decrease the formation of undesirable compounds and the highest retention of substances of interest.

Keywords: corn, furfurals, fluorescence, color, carotenoids

49-56

2018

INTRODUCCIÓN

Los cereales se encuentran entre los principales alimentos elegidos para el desayuno en todas partes del mundo. Existen diferentes presentaciones, incluyendo productos cocidos, extrudados, barras de cereales, mezcla de cereales, copos de maíz, entre otros (1, 2). Los copos de maíz disponibles en el mercado se producen a través de dos métodos diferentes: extrusión y laminación. En este trabajo nos enfocaremos en el proceso tradicional que involucra laminación. Este comienza con el mezclado de los *grits* de maíz con agua, azúcar, sal y extracto de malta para luego cocinarlos utilizando vapor saturado. Al finalizar la cocción se enfrían y laminan y luego se tuestan en un flujo de aire a elevada temperatura (~230 °C) durante unos pocos segundos para obtener el producto final. Durante este proceso, el almidón es gelatinizado y ocurre el pardeamiento no enzimático (3). Además, pueden ocurrir modificaciones en el perfil de carotenoides del maíz, que son componentes que cumplen un papel importante en la salud humana. Los principales carotenoides del maíz son luteína, zeaxantina, β-criptoxantina y β-caroteno, cuyas proporciones dependen de la variedad de maíz (4). La descomposición térmica es la causa más importante de pérdida de nutrientes y compuestos bioactivos. A elevadas temperaturas los azúcares se descomponen a furfurales (5). Los pasos intermedios de la reacción de Maillard incluyen la formación de compuestos fluorescentes y luego la aparición de pigmentos pardos. Algunos de estos pigmentos pueden actuar como agentes de entrecruzamiento entre cadenas de proteínas, disminuyendo el valor nutricional o afectando las propiedades organolépticas del alimento (6). Más aún, algunos posibles compuestos resultantes, tales como la acrilamida, son considerados potencialmente mutagénicos (2). Los productos fluorescentes de Maillard han sido estudiados en sistemas modelo como potenciales indicadores del daño de aminoácidos esenciales (3). Los furfurales se consideran indicadores del tratamiento térmico y marcadores de cocción (7, 5). El 5-hidroximetilfurfural (HMF) es un producto de la descomposición de hexosas, principalmente cuando el pH es bajo (8), mientras el furfural (F) y el 5-metilfurfural (SMF) derivan principalmente de pentosas (9).

El objetivo del presente estudio fue analizar el efecto de la incorporación de ingredientes y del tiempo de tostado sobre el desarrollo de la reacción de Maillard y evaluar la estabilidad de los carotenoides en las distintas etapas del proceso de producción de copos de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las muestras

Se trabajó con *grits* de maíz obtenidos de una empresa local. Se utilizó el mismo lote de material durante todo el estudio. Se determinó la composición centesimal de los *grits*, en base seca, mediante métodos estandarizados (AOAC), cuyos resultados fueron: carbohidratos 87% ± 1, proteínas 8% ± 0,3, lípidos 0,9% ± 0,05, humedad 13% ± 0,1 y cenizas 0,2% ± 0,02.

El material se trató simulando las condiciones de procesamiento a nivel industrial. La primera etapa fue la cocción con vapor a presión durante 2,5 horas empleando seis formulaciones diferentes con sal, extracto de malta y sacarosa (Tabla 1) que se seleccionaron para analizar el efecto de los ingredientes por separado y en conjunto. La formulación A representó una típica formulación comercial (10) y la formulación B es la que utiliza una industria local. Con el objetivo de evaluar los ingredientes individualmente, en las formulaciones con un único ingrediente se mantuvieron las proporciones utilizadas en la fórmula A. En todos los casos se utilizaron 15 gramos de *grits* crudos a los cuales se les incorporaron las proporciones mostradas en la Tabla 1. Luego de la cocción los *grits* se enfriaron durante 1 hora a temperatura ambiente y se hicieron pasar por una laminadora de mano giratoria semi-industrial (RD, modelo S-300-M, Argentina). Previo a la etapa de tostado, los *grits* laminados se equilibraron en una atmósfera de a_w 0,8, que corresponde a un contenido de agua cercano a 20% (en base seca). Este valor es cercano al que contienen estos productos a nivel industrial previo al tostado (11) y el valor de a_w coincide con la región donde el pardeamiento no enzimático ocurre a mayor velocidad (12). Las muestras se tostaron en un horno convectivo a 230 °C, con circulación forzada de aire. Se evaluaron 3 tiempos de tostado: 1,5, 2 y 2,5 minutos.

Tabla 1. Composición de las formulaciones: masa de cada ingrediente mezclada con 15 g de *grits* para la cocción a vapor

Nombre del sistema	Control (C)	Sal (S)	Malta (M)	Sacarosa (Sac)	Formulación comercial A	Formulación comercial B
Agua (g)	9	9	9	9	9	6
NaCl (g)		0,33			0,33	0,1
Malta (g)			0,33		0,33	0,001
Sacarosa (g)				1,23	1,23	1,23

Medición de fluorescencia y pigmentos pardos

El total de compuestos fluorescentes y pigmentos pardos que se extrajeron en medio acuoso se cuantificaron tras una hidrólisis con pronasa E (4 UE/mg muestra), de acuerdo con Delgado-Andrade y col. (13). Se midió la intensidad de emisión a 504 nm, con excitación a 340 nm. Se utilizó un espectrofluorómetro Ocean Optics modelo USB 2000 (Ocean Optics Inc., Florida, Estados Unidos). Se cuantificaron los compuestos fluorescentes en base a una curva de calibración con cuatro concentraciones de sulfato de quinina entre 0,05-1 µg/mL, y el resultado se expresó en equivalentes de quinina en base seca (µgQ/mg) (14). La formación de pigmentos pardos se evaluó midiendo la absorbancia a 420 nm en un espectrofotómetro UV/Vis Jasco modelo V630 (Jasco Corporation, Japón). Los valores de absorbancia fueron corregidos por dilución y normalizados a 125 mg de muestra seca (Abs₄₂₀). Se utilizó una expresión logarítmica para linealizar la relación con el tiempo.

Contenido de furfurales y furosina

Los distintos furfurales (HMF, furfural y 5-MF) fueron cuantificados mediante RP-HPLC en muestras hidrolizadas. Se utilizó un equipo Alliance HPLC equipado con detector de arreglo de diodos Waters 2995 (Waters, Milford, Estados Unidos). Las muestras fueron separadas en una columna C₁₈ Waters X-Bridge utilizando acetonitrilo al 5% a 0,1 mL/min y la absorbancia se monitoreó a 284 nm (5). Los tiempos de retención fueron 7,4 min para HMF, 8,8 min para furfural y 15,3 min para 5-MF. Se construyeron curvas de calibración para cada analito en el rango 0,1-2,5 ppm. El límite de cuantificación fue de 0,05 ppm para todos los componentes.

La determinación de furosina realizó mediante HPLC siguiendo el método descrito por Delgado-Andrade y col. (15). Brevemente, las muestras fueron hidrolizadas en HCL 7,95 M a 110°C en atmósfera de nitrógeno y luego tratadas con un cartucho Sep-pak C₁₈ (Millipore) para eliminar interferencias. Se utilizó una columna Extrasyl-ODS2 y se construyó curva de calibración en el rango entre 2,6 y 39 mg/L.

Medición de color

Se utilizó un sistema de visión computarizada, que consiste en una caja gris de luminancia 50 en escala Munsell. Con iluminación superior D65 (16). Las imágenes se tomaron con una cámara digital EOS 40D (Canon, Inc., Estados Unidos) localizada a un ángulo de 45° en relación al plano de la muestra y a una distancia de 60 cm. Las imágenes se obtuvieron con una resolución 3888 x 2592 píxeles que se analizaron utilizando el software Adobe PhotoShop CS4 y los parámetros de color se expresaron en espacio CIELAB (L^* , a^* y b^*) (CIE, 1976), según el procedimiento descrito por Yam y Papadakis (17). Las muestras se colocaron en cápsulas de plástico con 1,5 cm de altura, a la cual el sistema se comporta como opaco. Se tomaron 3 fotos de cada muestra, rotando 90° entre cada una y se informaron los resultados promedio.

Extracción, identificación y cuantificación de carotenoides

El análisis de los carotenoides se realizó con el objetivo de evaluar la estabilidad de los mismos durante las diferentes etapas del proceso de obtención de los copos de maíz. Por lo tanto, se trabajó con una única formulación (formulación B) y un tiempo de tostado de 1,5 minutos. Se analizaron muestras provenientes de las 5 etapas del proceso de producción: *grits* crudos, *grits* cocidos, *grits* secos, *grits* laminados y, finalmente, copos de maíz tostados. Para la extracción se siguió el método propuesto por Rodríguez-Amaya y Kimura (18). Brevemente, 3 mg de muestra rehidratada se extrajeron con acetona hasta remoción total color y se filtró por 0,45 µm. Se realizó un lavado con agua y secado con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el solvente. Se redisolvió en 2 mL de acetona:metanol (50:50) y los viales se sellaron bajo nitrógeno. Los resultados se expresaron en base seca. Los pigmentos se separaron en un HPLC Waters Alliance modelo 2576 con una columna de fase reversa C18 y un detector de arreglo de diodos monitoreando los espectros entre 420 a 460 nm. La velocidad de flujo fue de 1 mL/min y la temperatura de la columna fue 25°C. Se eluyó utilizando un gradiente convexo desde 93% de metanol y 7% de agua que, tras 30 minutos, alcanzó el 100% de metanol hasta los 60 min. Se realizaron curvas de calibración para luteína, zeaxantina, β-criptoxantina y β-caroteno (Extrasynthese, Lyon Nord, Francia) en los siguientes rangos de concentraciones: entre 0,03 y 5 µg/mL ($R^2 = 0,989$), 0,06 y 3 µg/mL ($R^2 = 0,999$), 0,2 y 2 µg/mL ($R^2 = 0,984$) y 0,4 y 4 µg/mL ($R^2 = 0,987$), respectivamente. Los límites de detección y cuantificación fueron 0,05 y 0,15 ppm, respectivamente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para establecer las diferencias significativas se utilizó un ANOVA con test de Tukey post hoc. El software utilizado para tal fin fue el Infostat, versión 2012 (Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Para el análisis gráfico se utilizó el software GraphPad Prism versión 5.00 para Windows (San Diego, California, Estados Unidos). Todas las extracciones y los ensayos se realizaron por duplicado y se informaron los resultados promedio de ambos valores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN**Fluorescencia y pigmentos pardos**

Los resultados obtenidos del desarrollo de pigmentos pardos ln (Abs₄₂₀) y fluorescencia (µgQ/mg) para las muestras tratadas con pronasa a los diferentes tiempos de tostado se muestran en la Figura 1a y b, respectivamente. El análisis estadístico mostró interacción significativa entre el tiempo de tostado y la formulación. Si bien a 1,5 minutos los valores de ln (Abs₄₂₀) no mostraron diferencias estadísticas entre las muestras, a 2 y 2,5 minutos los valores para las formulaciones A y B fueron significativamente mayores comparados con el resto de las muestras, con excepción de la formulación con malta a 2,5 minutos.

Previo al tostado las seis muestras laminadas no presentaron fluorescencia cuantificable. Con el tiempo de tostado a 1,5 minutos se observó un incremento inicial que se magnificó a mayores tiempos para las formulaciones control (C) y con sal (S). Las formulaciones con malta, sacarosa y las comerciales mostraron un rápido incremento inicial que luego tendieron a alcanzar un *plateau*. Este comportamiento es esperado por la función que cumplen como intermediarios de reacción (19) y ha sido descrito por Patton y Chism (20) quienes establecieron que la fluorescencia tiene un período de inducción seguido por un incremento en la concentración hasta alcanzar un máximo. En este estudio no se encontraron períodos *lag* para los diferentes sistemas, en concordancia con Morales y col. (19). Esto puede deberse a la elevada temperatura del proceso. La interacción entre el tiempo y la formulación no fue significativa. En particular para el caso del tiempo, se hallaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras tratadas a 1,5 minutos y a 2,5 minutos, donde los valores fueron mayores. Además, se encontraron diferencias significativas entre las formulaciones: las muestras control (C) y con sal (S) tuvieron los valores más bajos y estadísticamente diferentes respecto a los valores promedio para el resto de los sistemas evaluados con un $p < 0,05$.

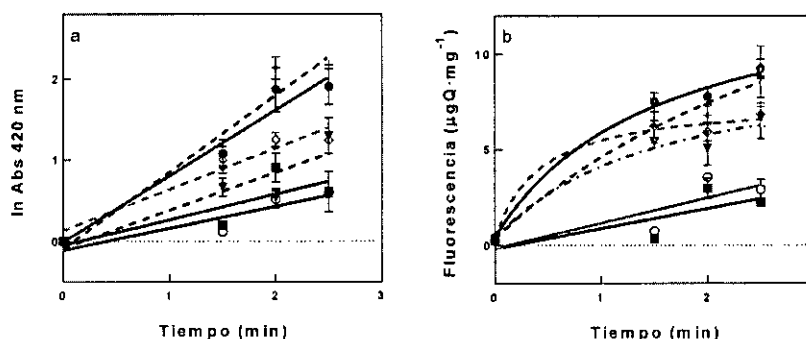


Figura 1. (a) $\ln(\text{Abs}_{420 \text{ nm}})$ y (b) fluorescencia ($\mu\text{gQ}/\text{mg}$) para los diferentes tiempos de tostado (1,5, 2 y 2,5 min). Los símbolos son los valores promedio para cada formulación: (—■—) control, (---○---) sal, (---▼---) malta, (---◇---) sacarosa, (—●—) A y (—+—) B. Las barras de error corresponden a las desviaciones estándar. Las líneas representan el mejor ajuste matemático

Desarrollo de furfurales y producción de furosina

La Tabla 2 muestra los valores de las concentraciones de HMF obtenidas para todas las muestras a los diferentes tiempos de tostado. El contenido de HMF previo al tostado fue de 10 ppm para todas las formulaciones. El proceso de tostado produjo un incremento significativo en el contenido de HMF para las formulaciones A y B a 1,5 y 2 minutos. A 2,5 minutos sólo la formulación A mostró un aumento significativo de HMF. Se encontró que la interacción entre el tiempo de tostado y la formulación fue significativa. En cereales para desayuno extrudados a base de maíz, los valores de HMF oscilaron alrededor de 45 ppm en base seca, según Rufián-Henares y col. (2). Estos valores son comparables con los hallados en este estudio, para las formulaciones que sólo contenían sal, malta o sacarosa y hasta 1,5 minutos de tostado. Con el agregado de sacarosa a la formulación se observó una tendencia al incremento en los valores de HMF en comparación con los sistemas C, S y M que no pudo confirmarse estadísticamente. Es importante destacar que una diferencia de 30 segundos en el primer intervalo de tostado produce un gran aumento en los niveles de HMF, indicando que este período es crítico y debe ser particularmente controlado. Las concentraciones de HMF aumentaron hasta 2500 ppm en las formulaciones A y B luego de 2,5 minutos de tostado. Estos valores son similares a los hallados por Ait-Ameur y col. (5), durante el horneado de modelos de galletitas. Se sabe que el contenido de a_w es un parámetro fundamental en la producción de HMF (21). Al ser un producto de deshidratación, el agua actúa como un inhibidor (5). Si bien el valor inicial de a_w de los laminados fue bastante alto (0,8), éste decrecen rápidamente hasta 0,4-0,5 durante el tostado fundamentalmente durante los primeros 1,5 minutos (Tabla 2). Se han propuesto dos mecanismos para la formación de HMF a partir de sacarosa, uno por la vía de la reacción de Maillard a partir de glucosa o fructosa y aminoácidos luego de varios pasos (22) y el otro por degradación de sacarosa a glucosa y un catión fructofuranosil reactivo, que puede convertirse directamente a HMF (23). Con respecto a furfural, sólo las muestras con azúcar agregada presentaron valores por encima del límite de cuantificación a los 1,5 minutos. Para los 2 y 2,5 minutos no se encontraron diferencias significativas entre las formulaciones C, S, M y Sac (valores entre 0,65-27 ppm). Al igual que con HMF, las formulaciones A y B presentaron concentraciones de furfural significativamente mayores que el resto de los sistemas, en un rango comprendido entre 99 y 131 ppm, confirmando de esta manera el efecto sinérgico entre los ingredientes en la formación de furfurales. Las concentraciones de 5MF fueron muy pequeñas (entre 1,5 y 3 ppm) para todos los sistemas, sin correlación ni diferencias significativas con el tiempo de tostado ni la formulación. La furosina, no mostró cambios significativos con el tiempo de tostado ni se hallaron diferencias con respecto a las formulaciones. El sistema control presentó una concentración de 8.5 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ y el agregado de otros ingredientes no promovió la formación ulterior de este compuesto. Sorprendentemente las formulaciones comerciales mostraron los valores más bajos de furosina (6.1 y 2,3 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, respectivamente) y valores de HMF por encima de 150 ppm. Estos resultados demuestran que la furosina es un buen marcador inicial de la reacción de Maillard pero no sufre grandes cambios durante el tostado, por lo tanto no es buen índice para esta etapa.

Tabla 2. Concentraciones de furfurales y furosina para las seis formulaciones evaluadas a los tres tiempos de tostado

Tiempo de tostado (min)	Sistema	Humedad (%)	HMF (ppm)	Furfural (ppm)	5-MF (ppm)	Furosina (µg/100g)
1,5	control	9,6 ^b ±0,4	14 ^a ±3	<0,02 ^a	2,0±0,3	8,5 ^{ab} ± 4,95
	sal	8,4 ^{defg} ±0,4	8,7 ^a ±0,3	<0,02 ^a	1,8±0,1	7,55 ^{ab} ± 1,63
	malta	7,7 ^{cde} ±0,2	20 ^a ± 2	<0,02 ^a	2,6±0,2	6,9 ^{ab} ± 0,42
	sacarosa	6,6 ^{abc} ±0,5	53,9 ^a ± 0,9	7,1 ^a ± 0,1	2,47±0,01	11 ^b ± 1,98
	A	8,0 ^{cdef} ±0,1	396 ^a ± 13	27 ^a ±1	1,8±0,3	6,05 ^{ab} ± 3,61
	B	7,3 ^{bcds} ±0,6	154 ^a ± 16	10 ^a ±8	1,98±0,09	2,25 ^a ± 0,49
2	control	8,6 ^{efg} ±0,4	11 ^a ±4	0,7 ^a ±0,6	3,2±0,2	4,5 ^{ab} ± 1,13
	sal	9,4 ^{fg} ±0,6	22 ^a ±3	1,7 ^a ±0,3	2,8±0,5	3,55 ^{ab} ± 0,92
	malta	8,3 ^{defg} ±0,2	26 ^a ±7	2,83 ^a ±1,17	2,5±0,1	1,55 ^a ± 0,35
	sacarosa	6,9 ^{abcd} ±0,6	137 ^a ±22	16 ^a ±5	2,1±0,4	3,85 ^{ab} ± 0,21
	A	6,5 ^{abc} ±0,2	1797 ^b ±71	99 ^b ±7	1,5±0,4	3,2 ^a ± 0,28
	B	7,0 ^{bcd} ±0,4	2336 ^c ±72	131 ^b ±21	2,4±0,2	2,1 ^a ± 0,42
2,5	control	8,4 ^{defg} ±0,3	15 ^a ±1	1,2 ^a ±0,3	2,55±0,04	2,6 ^a ± 0,28
	sal	7,8 ^{cde} ±0,1	42 ^a ±23	4 ^a ±2	2,4±0,4	3,2 ^a ± 0,57
	malta	7,5 ^{cde} ±0,3	72 ^a ±5	10 ^a ±7	2,0±0,3	2,35 ^a ± 0,07
	sacarosa	5,9 ^{ab} ±0,6	114 ^a ±9	14 ^a ±1	2,3±0,2	2,8 ^a ± 0,28
	A	5,5 ^a ±0,6	2639 ^c ±186	125 ^b ±58	1,7±0,6	6,05 ^{ab} ± 0,64
	B	7,4 ^{bcds} ±0,2	2398 ^c ±460	131 ^b ±5	1,9±0,7	4,35 ^{ab} ± 2,05

Las diferentes letras hacen referencia a las diferencias estadísticamente significativas entre la misma variable, para un $\alpha = 0.05$. Los valores de 5MF no mostraron diferencias significativas entre ellos

Modificaciones del contenido de carotenoides

Se identificaron 4 picos correspondientes a luteína, zeaxantina, β -criptoxantina y β -caroteno. Se obtuvo una buena resolución para todos los casos, con tiempos de retención de 17,5, 19, 28,9 y 38,8 minutos, respectivamente. La Figura 2a muestra el contenido de estos carotenoides en las muestras provenientes de las diferentes etapas del proceso de producción de copos de maíz. En los *grits* crudos se identificaron los 4 compuestos, donde la luteína y zeaxantina mostraron los valores más altos (0,96 y 0,78 ppm, respectivamente) en comparación al resto de las etapas. La cocción al vapor produjo un gran descenso de los carotenoides, con pérdida total de β -criptoxantina y β -caroteno. Por lo tanto, los únicos compuestos que pudieron cuantificarse en las etapas siguientes a la cocción fueron luteína y zeaxantina. Durante las etapas de secado y laminado, las concentraciones de luteína y zeaxantina se mantuvieron constantes, en niveles de 0,33 y 0,45 ppm, respectivamente. Es interesante destacar que, en la etapa de secado, a pesar de emplear temperaturas elevadas (120°C), no se hallaron grandes pérdidas. Esto puede deberse a la geometría esférica de los *grits* y a la elevada humedad resultante del proceso de cocción, que pudieron ayudar a proteger a los carotenoides que están por debajo de la superficie del *grit*. Además, algunos compuestos antioxidantes que se forman como resultado de la reacción de Maillard durante la cocción y el secado (3) pudieron haber protegido a estos compuestos de la degradación oxidativa durante el secado y laminado, y de allí la obtención de concentraciones constantes. Se ha demostrado que estos productos de la reacción de Maillard con capacidades antioxidantes están relacionados al desarrollo de fluorescencia (24), que fue discutida previamente. Finalmente, durante la etapa de tostado, que ocurre a 230°C se produce una degradación adicional de carotenoides. Al final de este proceso de producción, los copos de maíz mostraron concentraciones de 0,17 ppm de luteína y 0,2 ppm de zeaxantina.

Individualmente, durante la etapa de cocción la luteína fue más susceptible a isomerización y descomposición que la zeaxantina, tal como se muestra en los porcentajes de pérdida (Figura 2b): 60% para luteína y 40% para zeaxantina. Luego de etapa de tostado el total de pérdida fue de 80% para ambos compuestos. Las mayores pérdidas correspondieron a las etapas de cocción y tostado, de acuerdo a lo esperado, debido a la combinación de elevadas temperaturas y tiempo de proceso. En la última etapa, el porcentaje de pérdida de ambos compuestos es el mismo, mostrando que en el producto final ambos pigmentos sufren pérdidas similares.

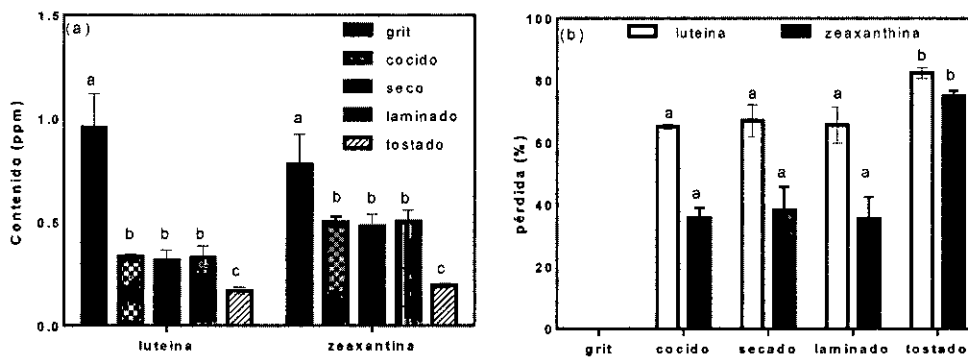


Figura 2. (a) Contenido individual de carotenoides y (b) porcentaje individual de pérdida de luteína y zeaxantina a través de los 5 pasos de producción de copos de maíz. Las concentraciones de β -criptoxantina y β -caroteno fueron menores a los límites de cuantificación. Las barras de error representan las desviaciones estándar. Las letras muestran diferencias estadísticamente significativas

Cambios de color

Las variables cromáticas L^* (luminosidad) y a^* (rojo) presentaron diferencias significativas ($p < 0,01$) entre las diferentes formulaciones y tiempos de tostado. Los cambios en la coordenada cromática b^* (amarillo) fueron menos pronunciados y no mostraron correlación con el contenido de carotenoides. Esto se debe a que el desarrollo de pardeamiento modificó las variables de color drásticamente, enmascarando los cambios debidos a pérdida de pigmentos propios. En la Figura 3a el oscurecimiento de las muestras se representó a través de las diferencias en la luminosidad antes y después del proceso de tostado ($L_0^* - L^*$) vs. el tiempo de tostado. Las formulaciones Sac, A y B mostraron oscurecimiento significativo luego de 1,5 minutos mientras que los sistemas S y M lo hicieron tras 2,5 minutos. Las muestras comerciales, que contenían todos los ingredientes, mostraron el mayor oscurecimiento a 2,5 minutos. La Figura 3b muestra que los valores de a^* aumentaron significativamente con el tiempo de tostado y dependieron fuertemente de la formulación, mostrando una tendencia muy similar a la hallada para ($L_0^* - L^*$). Las coordenadas de color CIELAB ($L_0^* - L^*$ y a^*) aumentaron linealmente con el tiempo de tostado, indicando una cinética de reacción de orden cero. En general, fue posible observar visualmente que, para las formulaciones conteniendo todos los ingredientes, los tiempos de tostado mayores a 1,5 minutos promovieron el pardeamiento, generando un color muy oscuro que puede ser inaceptable para el consumidor. Esto, además, puede relacionarse con el mayor contenido de HMF detectado en estos sistemas. Una correlación significativa (negativa) entre L^* y HMF fue previamente reportada por Kowalski y col. (25).

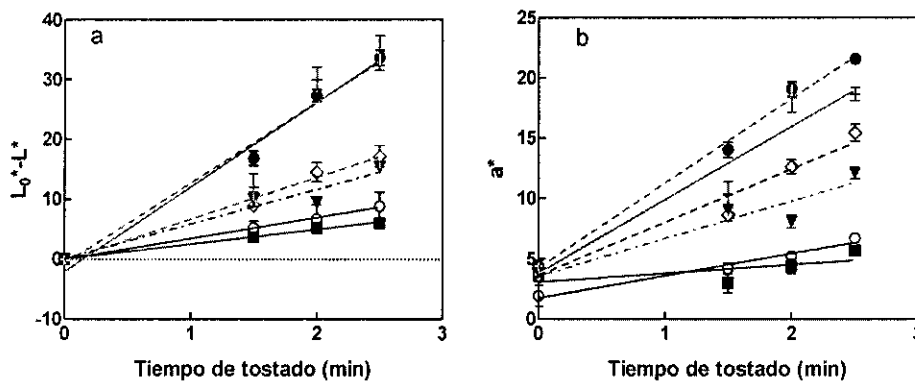


Figura 3. (a) ($L_0^* - L^*$) y (b) a^* , en función del tiempo a los diferentes tiempos de tostado: 1,5, 2 y 2,5 minutos. Los símbolos para cada formulación son: (—■—) control, (—○—) sal, (—▼—) malta, (—◇—) sacarosa, (—●—) A y (—†—) B. Las líneas representan las curvas del modelo de mejor ajuste y las barras de error corresponden a las desviaciones estándar

CONCLUSIONES

Los ingredientes combinados (sacarosa+sal+malta) tuvieron un efecto sinérgico, generando un aumento de los índices de reacción estudiados. La adición de pequeñas cantidades de sal, malta o sacarosa por separado no aceleraron el proceso de pardeamiento, siendo el efecto sinérgico de su combinación más importante que las diferencias en las cantidades incorporadas. La furosina fue un índice adecuado para el seguimiento de la reacción de Maillard durante la cocción, pero no así durante el tostado.

PROYECTO ESPECÍFICO

Estrategias para la diferenciación de alimentos y el desarrollo de nuevos productos alimentarios

PROYECTO INTEGRADOR Optimización de calidad integral y otras estrategias de agregado de valor.

El 80% del total de luteína y zeaxantina, dos de los carotenoides más importantes del maíz que se encuentran involucrados en la protección del tejido ocular, se perdió durante el proceso de producción de copos de maíz por laminación, principalmente en las etapas de cocción y tostado. La pérdida de pigmentos carotenoides fue muy importante indicando que no basta con utilizar materia prima con alto contenido inicial sino que el tipo y diseño del proceso y la protección de estos compuestos es determinante para su conservación. Las coordenadas de color L^* y a^* , que representan la luminosidad y el rojo, aumentaron linealmente durante el tostado, en concordancia con los índices de fluorescencia y absorbancia a 420 nm y con el oscurecimiento visual de las muestras. Sin embargo, la coordenada b^* , que es un índice de amarillo no correlacionó con la pérdida de carotenoides. Los resultados obtenidos permiten profundizar en el conocimiento de la influencia de la formulación utilizada durante la cocción y el efecto del tiempo de tostado sobre la formación de intermediarios de la reacción de Maillard como así también a seleccionar los mejores índices para el seguimiento de las reacciones. A su vez, esto puede ayudar a seleccionar las condiciones que mitiguen la pérdida de nutrientes y la generación de compuestos indeseables,

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer el apoyo financiero de Universidad de Buenos Aires (UBACYT X024, UBACYT 20020130100443BA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIP 100846), INTA PNAyAV 1130043, Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 0928, PICT 2013-1331) y Red CYTED 415RT0495,

REFERENCIAS

1. Rada-Mendoza, M.; Sanz, M. L.; Olano, A.; Villamiel, M. (2004). Study on nonenzymatic browning in cookies, crackers and breakfast cereals by maltulose and furosine determination. *Food Chemistry* 85: 605–609.
2. Rufian-Henares, J.A.; Delgado-Andrade, C.; Morales, F.J. (2006). Analysis of heat-damage indices in breakfast cereals: Influence of composition. *Journal of Cereal Science* 43: 63–69.
3. Farroni, A.; Buera, M.P. (2012). Colour and surface fluorescence development and their relationship with Maillard reaction markers as influenced by structural changes during cornflakes production, *Food Chemistry* 135(3): 1685–1691.
4. Kimura, M.; Kobori, C.N.; Rodríguez-Amaya, D.B.; Nestel, P. (2007). Screening and HPLC methods for carotenoids in sweet potato, cassava and maize for plant breeding trials. *Food Chemistry* 100(4): 1734–1746.
5. Ait-Ameur, L.; Trystram, G.; Birlouez-Aragon, I. (2006) Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the baking process: Validation of an extraction method. *Food Chemistry* 98(4): 790–796.
6. Agudelo Laverde, L.M.; Acevedo, N.C.; Schebor, C.; Buera, M.P. (2011). Integrated approach for interpreting browning rate dependence with relative humidity in dehydrated fruits. *LWT - Food Science and Technology* 44(4): 963–968.
7. Ramírez-Jiménez, A.; García-Villanova, B.; Guerra-Hernandez, E. (2000). Hydroxymethylfurfural and methylfurfural content of selected bakery products. *Food Research International* 33: 833–838.
8. Xu, H.; Templeton, A.C.; Reed, R.A. (2003). Quantification of 5-HMF and dextrose in commercial aqueous dextrose solutions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2: 451–459.
9. Lendl, F.; Sevrin, T. (1978). Browning reactions on pentoses with amines, *Studies on Maillard reaction XIII. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 176: 410–413.
10. Fast, R.B. (2000). Manufacturing technology of ready-to-eat cereals, In R. B. Fast & F. F. Caldwell, *Breakfast cereals and how they are made* (pp 17–54). St. Paul: AACC International, Inc.
11. Farroni, A.E.; Buera, M.P. (2014). Cornflake production process: state diagram and water mobility characteristics. *Food and Bioprocess Technology*, 7(10), 2902–2911.
12. Acevedo, N.C.; Briones, V.; Buera, M.P.; Aguilera, J.M. (2008). Microstructure affects the rate of chemical, physical and color changes during storage of dried apple discs. *Journal of Food Engineering* 85(2): 222–231.
13. Delgado-Andrade, C.; Rufian-Henares, J.A.; Morales, F.J. (2008). Optimized procedure to analyze Maillard reaction-associated fluorescence in cereal-based products. *Czech Journal of Food Science* 26(5): 339–346.
14. Matiacevich, S.B.; Buera, M.P. (2006). A critical evaluation of fluorescence as a potential marker for the Maillard reaction. *Food Chemistry* 95(3): 423–430.
15. Delgado-Andrade, C.; Rufian-Henares, J.A.; Morales, F.J. (2007). Lysine availability is diminished in commercial fibre-enriched breakfast cereals. *Food Chemistry* 100(2): 725–731.
16. Lawless, H.T.; Heymann, H. (1998). *Sensory evaluation of food: principles and practices*. New York: Chapman & Hall.
17. Yam, K.L.; Papadakis, S.E. (2004). A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering* 61(1): 137–142.
18. Rodríguez-Amaya, D.; Kimura, M. (2004). *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*. HarvestPlus Tech. Monographs, 59.
19. Morales, F.J.; Romero, C.; Jiménez-Perez, S. (1996). Fluorescence associated with Maillard reaction in milk and milk-resembling systems. *Food Chemistry* 57(3), 423–428.
20. Patton, A.P.; Chism, P. (1952). Paper chromatography of browning reactions of fluorogens. *Nature* 167: 406–406.
21. Kroh, L.W. (1994). Caramelization in food and beverages. *Food Chemistry*. 4: 373–379.

PROYECTO ESPECÍFICO

Estrategias para la diferenciación de alimentos y el desarrollo de nuevos productos alimentarios

PROYECTO INTEGRADOR Optimización de calidad integral y otras estrategias de agregado de valor.

22. Van Der Fels-Klerx, H. J.; Capuano, E.; Nguyen, H.T.; Atac Mogol, B.; Kocadağlı, T.; Goncuoğlu Tas, N.; Gokmen, V. (2014). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation during baking of biscuits: NaCl and temperature-time profile effects and kinetics. *Food Research International* 57: 210–217.
23. Locas, C.P.; Yaylayan, V.A. (2008). Isotope labeling studies on the formation of 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) from sucrose by pyrolysis-GCMS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 6717–6723.
24. Morales, F.J.; Jiménez-Pérez, S. (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chemistry* 72: 119–125.
25. Kowalski, S.; Lukaszewicz, M.; Juszcak, L.; Kutyla-Kupidura, E.M. (2013). Dynamics of 5-hydroxymethyl-furfural formation in shortbreads during thermal processing. *Czech Journal of Food Sciences* 31(1): 33–42.