

PEROXIDASA EN SALMOREJO ESTABILIZADO MEDIANTE RADIOFRECUENCIAS Y REFRIGERACIÓN

Marina Kravets¹, Andrés Abea², Maria Dolors Guàrdia², Israel Muñoz², José María Ros¹ y Sancho Bañón¹

1: Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. CEIR Campus Mare Nostrum (CMN). Espinardo. 30100. Murcia;
2: Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries IRTA – Programa de Calidad y Tecnología Alimentarias, Finca Camps i Armet, E-17121, Monells, Girona

Marina Kravets

marina.kravets@um.es

.....

Resumen: El calentamiento dieléctrico por radiofrecuencias (RF) podría ser adecuado para pasteurizar fluidos de alta viscosidad, como el salmorejo, porque mejora la transferencia de calor al producto con respecto a la pasteurización convencional (PC). El objetivo fue determinar las actividades de las enzimas polifenoloxidasas y peroxidasa (PPO y POD) junto con la capacidad antioxidante (TP; DPPH, ABTS y FRAP) en un salmorejo alternativamente tratado (80°C) mediante PC o RF y mantenido en refrigeración hasta 5 meses. La pasteurización "flash" mediante PC (intercambiador de calor tubular) o RF produjo resultados equivalentes en términos de inactivación enzimática. En ambos casos, las enzimas PPO y POD no se inactivaron completamente, lo que se reflejó en una posterior pérdida de su capacidad antioxidante. La refrigeración atenuó esta pérdida y permitió estabilizar el producto durante largos periodos de tiempo, proporcionando una adecuada vida comercial.

Palabras clave: salmorejo, tomate, radiofrecuencias, pasteurización, oxidasas.

1. INTRODUCCIÓN

La fabricación industrial de homogenizados vegetales termosensibles, como el salmorejo, pasa por aplicar tratamientos térmicos suaves o equivalentes que permitan alcanzar una adecuada vida comercial con el mínimo daño sensorial posible. El salmorejo, un producto a base de tomate, aceite, pan, ajo, vinagre y sal, se caracteriza por su alta viscosidad, pudiendo alcanzar un estado semisólido que limita su procesado en intercambiadores de calor convencionales, si bien su viscosidad aparente puede ser ajustada. Una vez pasteurizado, el salmorejo es un producto de bajo pH capaz de mantener una adecuada calidad microbiológica durante varios meses en refrigeración. La proliferación de salmorejos industriales refrigerados durante los últimos años así lo indica. Sin embargo, la pasteurización convencional (PC) puede no inactivar adecuadamente algunas de las enzimas alterantes presentes de forma natural en el tomate, como la polifenoloxidasas y la peroxidasa (en inglés, PPO y POD), responsables de su deterioro oxidativo [1]. Actualmente se están testando nuevos métodos para pasteurizar este tipo de productos. Una de las tecnologías objeto de estudio es el calentamiento dieléctrico, que transforma en calor la energía de las ondas electromagnéticas en materiales dieléctricos. A diferencia de las tecnologías convencionales en las que el calentamiento se realiza a través de la superficie y el calor se transfiere al interior de los productos, el calentamiento dieléctrico permite una transferencia de calor más homogénea, reduciendo el sobrecalentamiento y las diferencias de temperatura entre el interior y el exterior del producto. Por esta razón, el calentamiento dieléctrico podría ser adecuado para

pasteurizar fluidos de alta viscosidad [2] con una menor tendencia a fluir y mezclarse, ya que podría mejorar la tasa de transferencia de calor con respecto a las tecnologías convencionales de procesamiento térmico. Actualmente, existen en el mercado dos tecnologías basadas en calentamiento dieléctrico, microondas y radiofrecuencias (RF). Las RF tienen una longitud de onda mayor que las microondas, lo que permite que la energía de la onda penetre más profundamente en el interior del producto [3].

La hipótesis de trabajo fue que el calentamiento mediante RF podría mejorar (respecto a PC) el grado de inactivación enzimática del salmorejo e incrementar su estabilidad oxidativa en refrigeración.

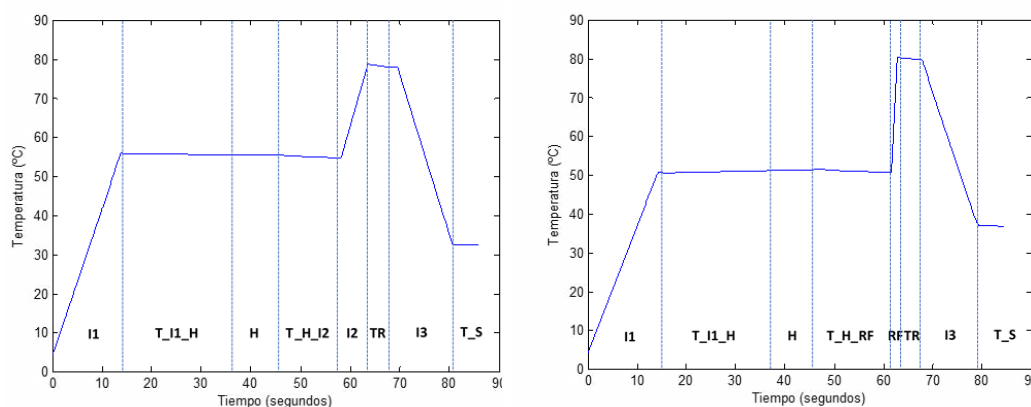
El objetivo fue determinar las actividades enzimáticas (PPO y POD) y la capacidad antioxidante en un salmorejo alternativamente tratado mediante PC o RF y mantenido en refrigeración.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se basó en un diseño bifactorial (método de pasteurización y tiempo de almacenamiento) completamente al azar. El tamaño de muestra fue $n=6$ por tratamiento y nivel. El salmorejo fue elaborado en la planta piloto del IRTA ubicada en Monells, Girona, España. Los ingredientes utilizados fueron: tomate (*Solanum lycopersicum*) de la variedad rama de primavera (87,6 %), aceite de oliva virgen (5 %), pan rallado (3 %), fibra alimentaria soluble (2 %), vinagre (1,5 %), ajo (0,2 %) y sal (0,7 %). Las etapas del proceso de elaboración fueron las siguientes: recepción de materias primas; lavado; triturado, tamizado, mezclado, molienda, acondicionamiento, precalentamiento; pasteurización y envasado aséptico (en botes de HDPE de 250 ml). La pasteurización convencional fue realizada en un pasteurizador de dos etapas (Inoxpa), mientras que la pasteurización por RF se realizó en un equipo 45 kW EVO trabajando a 27.12 MHz (Cartigliano). Ambos equipos procesaban 200l/h de producto. Una vez envasado, el salmorejo se mantuvo hasta 5 meses a 4°C en la oscuridad y se congeló a -18°C hasta su posterior análisis. Los análisis espectrofotométricos realizados fueron los siguientes: PPO (% actividad relativa) [4]; POD (% actividad relativa) [5]; Fenoles totales (en inglés, TP) (Folin Ciolcateau) [6]; DPPH•: 2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl radical-scavenging activity [7]; ABTS•: 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic radical cation decolouration assay [8]; y FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power Assay [7].

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 representa los dos tratamientos tecnológicos aplicados para pasteurizar el salmorejo. Incluyendo las etapas de precalentamiento, pasteurización tipo "flash" y llenado aséptico en caliente. El área representada bajo la curva (temperatura x tiempo) fue bastante similar para ambos tratamientos, a pesar de las diferencias entre ambas líneas de procesado.



PC	RF
I1: Intercambiador 1	I1: Intercambiador 1
T_I1_H: Tubería Intercambiador 1 – Homogeneizador	T_I1_H: Tubería Intercambiador 1 – Homogeneizador
H: Homogeneizador	H: Homogeneizador
T_H_I2: Tubería Homogeneizador - Tubería Intercambiador 2	T_H_I2: Tubería Homogeneizador - Tubería Intercambiador 2
I1: Intercambiador 2 TR: Tubería retención	RF: Radiofrecuencia TR: Tubería retención
I1: Intercambiador 3 (enfriador)T_S: Tubería salida.	I1: Intercambiador 3 (enfriador)T_S: Tubería salida.

Figura 1. Tratamientos térmicos (temperatura x tiempo) aplicados para pasteurizar el salmorejo.

La tabla 1 muestra la actividad enzimática relativa POD y PPO determinadas en salmorejo refrigerado hasta 5 meses. En general, la mayor actividad POD y PPO correspondió al primer mes de almacenamiento. La aplicación de, tanto PC, como RF, permitió conseguir un alto grado de inactivación de ambas enzimas, presentando ambos tratamientos una eficacia similar, salvo en el caso de la PPO, donde RF fue algo más eficaz que PC.

Tabla 1. Actividad polifenoloxidasa y peroxidasa en salmorejo pasteurizado y mantenido en refrigeración.

	POD				PPO			
	PC		RF		PC		RF	
Meses a 4 °C	M		M		M		M	
0	11,06	^a	12,12	^a	20,50	^a	14,39	^b
1	5,98	^b	5,60	^b	5,96	^c	6,07	^c
2	2,71	^c	3,67	^c	1,20	^d	1,20	^d
3	3,06	^c	3,16	^c	1,07	^d	0,69	^d
4	2,84	^c	3,18	^c	0,53	^d	0,47	^d
5	2,58	^c	2,73	^c	0,00	^d	0,00	^d
ES	0,415				1,005			
Efectos								
Pasteurización	*				*			
Refrigeración	***				***			
Interacciones	NS				***			

Abreviaturas: POD: Peroxidasa (% actividad relativa); PPO: Polifenoloxidasa (% actividad relativa); PC: Pasteurización convencional; RF: Radiofrecuencias; M: Media; ES: Error estándar medio.

Resultados expresados como porcentaje de actividad con respecto a producto no tratado térmicamente.

^{a - d} Efectos (ANOVA dos vías) (Tukey Test). Probabilidad: *** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$; NS $P > 0,05$.

La figura 2 muestra los modelos de predicción establecidos para sendas actividades enzimáticas con respecto al tiempo de almacenamiento en refrigeración. Los mejores coeficientes de regresión correspondieron a modelos exponenciales y polinómicos, que son típicos de las reacciones enzimáticas. En conjunto, ambos tipos de ecuaciones permiten estimar el comportamiento de ambas enzimas a lo largo del almacenamiento refrigerado, tanto al principio, donde muestran cierta actividad y hay pendiente más pronunciadas, como a partir del segundo mes, donde la actividad de ambas enzimas fue escasa.

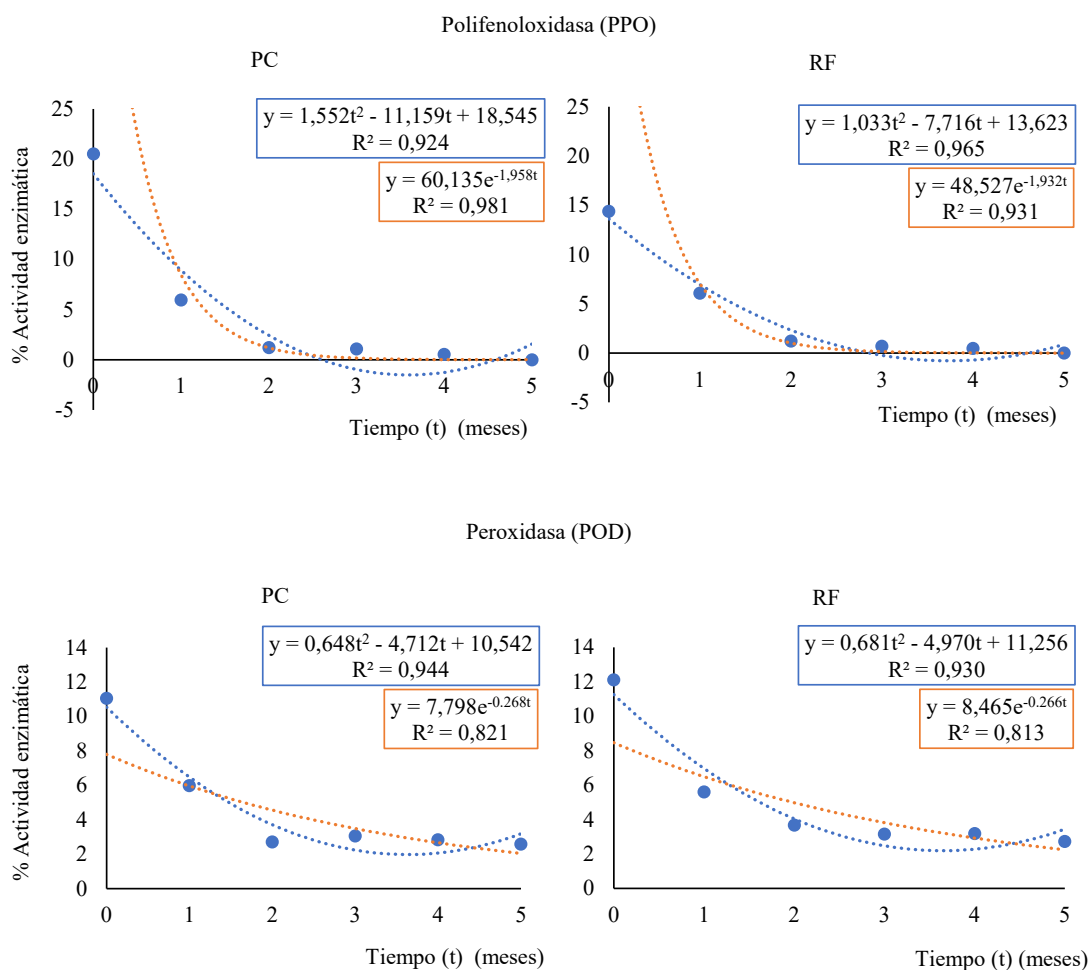


Figura 2. Modelos predictivos para la actividad polifenoloxidasas y peroxidasa del salmorejo refrigerado.

La tabla 2 muestra los valores de capacidad antioxidante determinados en el salmorejo mediante técnicas complementarias. Hubo interacción entre ambos tratamientos (pasteurización y almacenamiento refrigerado) para los índices TP y DPPH. En general, los valores de TP, DPPH, ABTS y FRAP aportaron una información similar sobre el estado antioxidante del producto. La capacidad antioxidante del salmorejo fue algo mayor al inicio del almacenamiento, sobre todo, en el primer mes, y luego experimentó un descenso lento y continuo, lo que es coherente con las actividades registradas para la PPO y POD. Las diferencias entre el producto PC y RF fueron prácticamente irrelevantes, tan solo el salmorejo RF alcanzó valores ligeramente menores de TP y DPPH, pese a que inicialmente presentaba una menor actividad PPO.

Tabla 2. Capacidad antioxidante del salmorejo pasteurizado y mantenido en refrigeración.

	TP		DPPH		ABTS		FRAP	
	PC	RF	PC	RF	PC	RF	PC	RF
Meses a 4 °C	M	M	M	M	M	M	M	M
0	36,29 ^a	36,67 ^a	21,72 ^a	21,70 ^a	12,710 ^a	13,59 ^a	232,54 ^a	231,69 ^a
1	36,20 ^a	35,07 ^b	18,31 ^b	16,47 ^c	8,67 ^b	8,20 ^b	191,56 ^b	192,85 ^b
2	34,56 ^{bc}	34,44 ^{bc}	14,72 ^d	13,67 ^{de}	8,20 ^b	8,80 ^b	162,46 ^{de}	164,07 ^{cde}
3	33,73 ^{cd}	33,35 ^d	14,15 ^{de}	13,06 ^e	9,17 ^b	9,08 ^b	167,74 ^{cd}	171,34 ^c

4	32,37 ^e	32,02 ^e	13,22 ^e	10,92 ^f	7,72 ^b	7,23 ^b	165,75 ^{cde}	159,38 ^e
5	32,01 ^e	31,51 ^e	12,77 ^e	7,73 ^g	7,34 ^b	7,16 ^b	158,13 ^e	160,50 ^{de}
ES	0,251		0,436		0,610		2,310	
Efectos								
Calentamiento	**		***		NS		NS	
Refrigeración	***		***		***		***	
Interacciones	**		***		NS		*	

Abreviaturas: TP: Fenoles totales; DPPH: 2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl radical-scavenging activity; ABTS: 2.2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic radical cation decolouration assay; FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power Assay; PC: Pasteurización convencional; RF: Radiofrecuencias; M: Media; ES: Error estándar medio.

Unidades: TP: mg ácido gálico /100 ml; DPPH: mg Trolox/100g; ABTS: mg Trolox/100g; FRAP: mg eq Fe²⁺/100 ml.

^a - ^g Efectos (ANOVA dos vías) (Tukey Test). Probabilidad: *** P<0,001; ** P<0,01; * P<0,05; NS P>0,05.

El salmorejo alcanza un valor de pH inferior a 4,5 debido a la acidez natural del tomate y a la adición de vinagre, siendo posible asegurar su calidad microbiológica aplicando una pasteurización suave. Esto fue comprobado en el presente experimento (datos pendientes de publicación). Por tanto, la vida comercial del salmorejo refrigerado dependería en gran medida de su estabilidad oxidativa, y, en particular, de las enzimas oxidasas involucradas. Actualmente, apenas se dispone de información sobre esta cuestión, ya que los estudios existentes se refieren a tratamientos térmicos aplicados para cocinar y/o esterilizar productos de tomate [9].

Como se ha visto, el tratamiento térmico en su conjunto (precalentamiento, pasteurización y envasado) fue bastante similar para PC y RF y su efecto inhibitor de las enzimas POD y PPO también. El salmorejo recién pasteurizado mantiene cierta actividad oxidasa residual sobre todo durante el primer mes en refrigeración, lo que conduce a una pérdida significativa, aunque moderada, de su capacidad antioxidante. Hay que tener en cuenta que se trata de un producto rico en antioxidantes naturales, como el licopeno. Conforme avanza el estado oxidativo del salmorejo refrigerado, la actividad de ambas enzimas se ralentiza y prácticamente es irrelevante a partir del segundo mes, lo que significa que, en términos de actividad oxidasa, la refrigeración contribuye a estabilizar el salmorejo desde un punto de vista oxidativo.

4. CONCLUSIONES

La pasteurización tipo "flash" del salmorejo se puede realizar indistintamente con un intercambiador de calor convencional o con un equipo de RF. Son tratamientos térmicos equivalentes en términos de inactivación enzimática. En ambos casos, las enzimas PPO y POD no llegan a ser completamente inactivadas, lo que se refleja en una pérdida gradual de su capacidad antioxidante. La refrigeración atenúa esta pérdida y permite estabilizar el producto durante largos periodos de tiempo, proporcionando una vida comercial adecuada. Por tanto, resulta necesario refrigerar el salmorejo sometido a una pasteurización suave para preservar sus propiedades.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia e Innovación de España la concesión del proyecto RTI2018- 098052-R-C32 "Caracterización, modelización y sostenibilidad medioambiental del procesamiento por radiofrecuencias de homogeneizados vegetales viscosos" que ha financiado la presente investigación.

REFERENCIAS

- [1] Osorio Mora O. Influencia de tratamientos térmicos en la calidad y estabilidad del puré de fresa (*Fragaria x ananassa*, cv Camarosa), 2008.
- [2] Tuta S, Palazoğlu TK. Finite element modeling of continuous-flow microwave heating of fluid foods and experimental validation. *J Food Eng.* 2017, 192:79–92.
- [3] Ramaswamy H, Tang J. Microwave and radio frequency heating. *Food Sci Technol Int.* 2008, 5:423– 7.
- [4] Wang S, Lin T, Man G, Li H, Zhao L, Wu J, et al. Effects of Anti-browning Combinations of Ascorbic Acid, Citric Acid, Nitrogen and Carbon Dioxide on the Quality of Banana Smoothies. *Food Bioprocess Technol.* 2014, 1:161–73.
- [5] Vervoort L, Van Der Plancken I, Grauwet T, Timmermans RAH, Mastwijk HC, Matser AM, et al. Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice: Part II: Impact on specific chemical and biochemical quality parameters. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2011, 4:466–77.
- [6] Singleton, V.L. and Rossi, J.A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic- Phosphotungstic Acid Reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1965, 16:144-158.
- [7] Hurtado A, Picouet P, Jofré A, Guàrdia MD, Ros JM, Bañón S. Application of High Pressure Processing for Obtaining “Fresh-Like” Fruit Smoothies. *Food Bioprocess Technol.* 2015, 12:2470– 82.
- [8] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 1999, 9–10:1231–7.
- [9] Hurtado A, Dolors Guàrdia M, Picouet P, Jofré A, Bañón S, Ros JM. Shelf-life extension of multi-vegetables smoothies by high-pressure processing compared with thermal treatment. Part I: Microbial and enzyme inhibition, antioxidant status, and physical stability. *J Food Process Preserv.* 2019, 43.