

Revista de Ciencia y Tecnología

INGENIERÍA, TECNOLOGÍA E INFORMÁTICA, SALUD, BIOLOGÍA Y
GENÉTICA, EDUCACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

AÑO 19 / N° 28 / 2017

ÍNDICE

- 4 Evaluación de mezclas de harina de trigo integral con sustituto de grasas / Patrícia M. Scheuer, Bruna Mattioni, Valéria M. Limberger-Bayer, Pihetra O. Tatsch, Martha Z. Miranda, Alicia de Francisco.
- 11 Enzyme Assisted Extraction of Lycopene in Guava Pulp (*Psidium guajava* L.) / Luis Eduardo Ordoñez Santos.
- 16 Conservación in vitro de té a corto/mediano plazo en Argentina / Sandra P. Molina, Luis A. Mroginski, Hebe Y. Rey.
- 21 Deshidratación Osmótica de Ananá con Reutilización del Jarabe de Sacarosa / Laura Ana Ramallo, Paula Rosana Fernández, Nancy Noelia Lovera, Ariel Alejandro Borsini, Nadia Agostina Romero.
- 29 Isotermas de sorción de pure deshidratado a partir de diferentes variedades de raíz / María M. Brousse, Ramón A. Linares, María L. Vergara, Andrea B. Nieto.
- 38 Pretratamiento soda- etanol de pino y su influencia en la hidrólisis enzimática / Julia Kruyeniski, Fernando Esteban Felissia, María Cristina Area.
- 43 Premezcla de Fécula de Mandioca para Pastas. Características Químicas y Vida Útil en Anaquel / Laura B. Milde, Miriam E. Chade, Carla G. Silva, Emilce R. Zubreski.
- 48 Sistema informático web para el fortalecimiento de la participación social activa / Christian R. Caicedo; Kleber A. Alvarez; Roberto W. Acuña.
- 57 Implementación de entrevistas clínicas en la evaluación diagnóstica en una cátedra de Portugués / Graciela C. Lombardo, Marina E. Bulak, Alberto Gutiérrez, Mirta Rivera.
- 64 Evaluación de la necesidad de biopsia en una población pediátrica con sospecha clínica de celiaquía / Miryan S. López, Gianninna Femoselle, María A. Manulak, Mónica D. R. Sprang, Fernando Vinuesa, Pedro D. Zapata, Gustavo A. Negri.
- 71 Instrucciones a los autores.
- 74 Instructions to authors.
- 77 Instruções aos autores.
- 80 Confirmación de Autoría y Derechos de Publicación. / Confirmation of Authorship and Publication Regulations. / Confirmação de Autoria e Direitos de Publicação.

• **SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO. FCEQyN-UNaM**

Secretaria: Mgter. Celina Vedoya.

• **REVISTA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA**

COMITÉ EDITORIAL

Editor principal: Dra. Alicia E. Ares. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Misiones. Argentina.

Editor adjunto: Dr. Miguel E. Schmalko. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Misiones. Argentina.

CONSEJO DE EDICIÓN

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Argentina

Dr. Alberto S. Fenocchio.

Dr. Dardo A. Martí.

Dra. Laura A. Ramallo.

Dra. Marina Quiroga.

Dra. Laura L. Villalba.

Dr. Pedro D. Zapata.

Dra. Ana María Zoppi.

Dr. Horacio Kuna (Invitado).

Dr. Marcelo Marinelli (invitado).

Mgter. Patricia Morawicki (Invitada).

Dra Graciela Gavazzo (Invitada).

Instituciones de la Argentina

Mgter. Nilda Josefa Corral. Facultad de Humanidades. UNNE. Resistencia. Chaco.

Dra. Silvia Di Genaro. Universidad Nacional de San Luis. San Luis. Argentina.

Dr. Roque Hours. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Dr. Rodolfo Mascheroni. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. La Plata. Argentina.

Dr. Jorge E. Monzón. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. UNNE. Corrientes. Argentina.

Dra. Silvia Resnik. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Dr. José G. Seijo. Facultad de Ciencias Exactas Naturales y Agrimensura. UNNE, Corrientes. Argentina.

Instituciones del Exterior

Dra. María Sol Brassesco Annichini. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, Brasil.

Dr. Rafael A. Auras. Michigan State University, Michigan, Estados Unidos.

Dra. Marusia Stefanova. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV).

Dr. Andre Luiz Ferraz. Departamento Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Brasil.

Mgter. Mirtha Lucía Abraham Nazif. Univ. Academia de Humanismo Cristiano. Providencia, Santiago de Chile.

Dra. Pilar López Ruiz. Universidad de Alcalá de Henares. Madrid. España.

Dr. José Ignacio Paláez Sánchez. Universidad de Málaga. España.

Revista de Ciencia y Tecnología on line: www.fceqyn.unam.edu.ar/recyt. Hecho el depósito de la Ley 11723. Impreso en Argentina. ISSN de la revista impresa: 0329-8922. ISSN de la revista electrónica: 1851-7587.

Esta Revista es un servicio de la SECIP. Está prohibida su venta a terceros como también la reproducción total o parcial con fines comerciales. Los trabajos presentados han sido aceptados para su publicación por el Consejo de Dirección y el Consejo de Edición. La Revista no se hace responsable de las opiniones contenidas en los artículos, siendo de responsabilidad exclusiva de los autores de los mismos. La edición de la Revista cuenta con el apoyo económico de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales y de la Fundación Fac. Cs. Ex. Qcas. y Naturales.

Toda correspondencia relacionada a la Revista debe ser dirigida a: Revista de Ciencia y Tecnología. Félix de Azara 1552, 3300, Posadas, Misiones, Rep. Argentina. Teléfono: 54-376-4422186, Fax: 54-376-4425414, E-mail: recyt@fceqyn.unam.edu.ar. Revista de periodicidad semestral.

EQUIPO EDITORIAL

Armado de interior y tapa: D.G. Javier B. Giménez.

Revisión de texto: Lic. Julia E. Renaut.

Revisión de texto en inglés: Responsable: Lic. María C. Benassi; Docentes: Prof. María E. Sobrero, Lic. Silvia Flores, Lic. Martha S. Godoy, Prof. María L. Stefañuk, Prof. María F. Picasso.

Revisión de texto en portugués: Prof. Cristina S. Pastori.

Colaboradores técnicos: ASC. Mónica R. Mounier, ASC. Víctor R. Narvaez.

COMITÉ DE REVISIÓN EXTERNO INGENIERÍA, TECNOLOGÍA E INFORMÁTICA, SALUD, BIOLOGÍA Y GENÉTICA, EDUCACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

Dr. Horacio Lopardo. Universidad Nacional de la Plata. Argentina.

Mgter. Carolina Zacharzewski. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Dr. H. Fabián Pelusa. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

Dra. Roxana A. Verdini. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

Dr. Marcos Gabriel Maiocchi. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

Dr. José Roberto Delalibera Finzer. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Federal de Uberlândia. Brasil.

Dra. Marcela Tolaba. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Dra. Ester Chamorro. Facultad Regional Resistencia. Universidad Tecnológica Nacional. Argentina.

Mgter Marta Horiński. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

Mgter. Gladys Noemi Dapozo. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

Dr. Emanuel Irrazabal. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

Dra. Mónica Porto Currás. Universidad de Murcia. España.

Dr. Héctor Odetti. Universidad Nacional del Litoral. Argentina.

RECYT

Año 19 / N° 28 / 2017 / 4–10

Evaluación de mezclas de harina de trigo integral con sustituto de grasas

Evaluation of whole-wheat flour blends with fat replacer

Patrícia M. Scheuer^{1,*}, Bruna Mattioni², Valéria M. Limberger-Bayer³,
Pihetra O. Tatsch⁴, Martha Z. Miranda⁴, Alicia de Francisco²

1- Federal Institute of Santa Catarina, Baking Laboratory, Rua 14 de Julho, 150 – Coqueiros 88075-010, Florianópolis, SC, Brazil; 2- Federal University of Santa Catarina, Cereal Laboratory, Rodovia Admar Gonzaga, 1346 – Itacorubi 88034-001, Florianópolis, SC, Brazil; 3- Federal University of Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Av. Roraima, 1000 – Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil; 4- Brazilian Agricultural Research Corporation – Embrapa Wheat, Grain Quality Laboratory, Rodovia BR 285, Km 294, 99001-970, Passo Fundo, RS, Brazil.

* E-mail: patriciamatosscheuer@gmail.com

Resumen

Una dieta rica en fibras alimenticias con bajo contenido de grasas, ayuda a prevenir enfermedades crónicas. La utilización de harina de trigo integral y de sustituto de grasa, agrega valor nutricional. Sustitutos de grasa actúan reduciendo el nivel calórico. El salvado afecta las propiedades reológicas y la calidad del pan. Considerando el desafío de agregar valor nutricional, manteniendo la estructura y la estabilidad de la miga, nuestro objetivo fue evaluar las características físico-químicas y reológicas de mezclas de harina de trigo integral con sustituto de grasa para futura aplicación en panes. Los valores de gluten de las mezclas de harinas indicaron que eran tecnológicamente aceptables para panificación. El efecto de la presencia del sustituto de grasa fue observado solamente en la alveografía y en el color de las muestras con mayor nivel de sustituto, pues a mayor nivel de sustituto, menores fueron los resultados de la tenacidad máxima de trabajo.

Palabras clave: Almidón; Cereales; Propiedades físico-químicas; Reología, Sustituto de grasa.

Abstract

A diet rich in low-fat dietary fiber helps to prevent chronic diseases. The use of whole wheat flour and fat substitute, adds nutritional value. Fat substitutes act by reducing the caloric level. The bran affects the rheological properties and the quality of the bread. Considering the challenge of adding nutritional value, maintaining the structure and stability of the crumb, our objective was to evaluate the physicochemical and rheological characteristics of whole wheat flour blends with fat substitute for future application in breads. The gluten values of the flour blends indicated that they were technologically acceptable for baking. The effect of the presence of the fat substitute was observed only in the alveography and in the color of the samples with higher level of substitute, because at a higher substitute level, the lower the results of the maximum tenacity of work.

Key words: Physicochemical properties; Rheology, Fat Substitute.

Introduction

Low fat and rich in dietary fiber diet have been shown to decrease the risk of non-communicable diseases (7). Bread is a common staple food around the world that can be used to deliver ingredients for specific health purposes (19).

Starch is a major component of bread, and plays an important role in the texture and quality of the dough. Undesirable properties of native starches can be minimized using modified starches as quality improvers (16) and fat replacers (14).

While whole-wheat flour helps maintain health, the fiber affects bread quality, depending on composition and particle size (18, 26). The presence of bran considerably affects the rheological properties of dough and, subsequently, bread's quality (26). The adverse effect of fibers on bread volume is highly correlated with gluten yield, since fiber interacts physically and chemically with gluten influencing gluten aggregation negatively (18).

Therefore, adding nutritional value to bread while maintaining the quality of crumb structure and stability of the gas cells (18) is a major challenge. To study the effect of adding a fat replacer to whole-wheat flour for

baking: analysis of gluten content, dextrose equivalent, farinography, alveography, viscosity, color and microscopy were performed.

Material

This study used whole-wheat flour and white flour, obtained from the same batch of wheat (2012 harvest), provided by Cooperativa Agrária Agroindustrial (Guarapuava, Brazil). Samples were stored at -18 °C until the time of analysis. Enzymatically modified corn starch (Selectamylx C150, Dutch Starches International, Netherlands) was used as the fat replacer.

Methods

Preparation of blends of flour and fat replacer

Blends with different proportions of whole-wheat flour (WF) and white flour (refined flour, RF) were prepared and encoded according to the percentage of WF and RF used: 95.35WF (95.35WF+4.65RF); 85WF (85WF+15RF); 60WF (60WF+40RF); 35WF (35WF+65RF); 24.64WF (24.64WF+75.36RF), following the experimental design. Blends were homogenized with the fat replacer, according to the levels indicated in the experimental design.

Experimental design

A rotatable central composite design was used, with the percentage of whole-wheat flour (%WF) and the percentage of fat replacer (%FR) as independent variables (Table 1) (24). Of the 14 types of blends with 6 replicates at the central point, 12 types of blends with four center point replicates were evaluated in this experiment, adopting an orthogonal block design (6), which eliminates the effect of heterogeneity present in the units for comparison of experimental treatments.

Analysis of results

Analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($p \leq 0.05$) were used to determine the significance of the data. Samples of the central treatment (9 to 12) are represented by the averaging them (9-12*) (Table 1).

Physical and chemical analysis

Gluten

Gluten analysis of blends of wheat flour was performed according to method 38-12 (1) with modifications. The first wash used a fine-mesh polyester sieve (opening 88 μm), while the second wash was performed using only the receiving pan of the sieve set, thus enabling output of the

high-granulometry bran particles present in the flour and leaving only gluten. Analysis of gluten index, wet gluten and dry gluten was performed with a 2100 Glutomatic system (Perten, USA). Samples were analyzed in duplicate.

Dextrose equivalent

The degree of hydrolysis of the FR was evaluated by determination of its dextrose equivalent (DE). Determination of reducing sugars was performed by the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method (15).

Color

The color of the blends was evaluated in triplicate using a CIE L*a*b* system, with a CR 410 colorimeter (illuminant D65, 10° angle) (Konica Minolta, Japan) coupled to a DP-400 processor.

Scanning electron microscopy

FR samples were fixed on aluminum stubs with double-sided carbon tape and coated with two 200Å-thick layers of gold, using a SCD 005 sputter coater (Baltec, EUA). The samples were visualized and microphotographed in a JSM-6390LV scanning electron microscope (JEOL, Japan), at an accelerating voltage of 10 kV.

Rheological analysis

Farinography

The farinograph properties of the blends and FR were evaluated in two determinations by method 54-21 (1) in a Typ 820600 farinograph (Brabender, Germany), using 50 g of the sample (corrected to 14% moisture content), at a mixing speed of 63 $\text{rev}/\text{min}^{-1}$ and consistency of 500 Farinograph Units.

Alveography

The viscoelastic properties of the blends and FR were analyzed, in duplicate, in a Chopin Alveograph (Chopin Technologies, France), in accordance with method 54-30A (1).

Viscosity

Viscosity of the blends and FR was determined in duplicate, with a Rapid Visco Analyzer (RVA) 3D (New-Port Scientific- Perten, Sweden) using Thermocline for Windows 3.1 software, according to method 76-21 (1) was used.

Results and discussion

Physical-chemical evaluation

Gluten content

Table 1 shows the results of wet gluten, dry gluten, and gluten index determination.

Table 1: Gluten content of the homogenized blends of wheat flour and fat replacer.

Blend	independent variables		WG (%)	DG (%)	GI
	WF (%)	FR (%)			
1	35.00	0.60	25.20 ^{ab} ± 0.27	8.46 ^a ± 0.04	93.00 ^a ± 0.00
2	35.00	2.60	27.02 ^a ± 0.06	8.84 ^a ± 0.03	90.00 ^a ± 2.83
3	85.00	0.60	24.39 ^{ab} ± 0.35	8.57 ^a ± 0.08	94.50 ^a ± 0.71
4	85.00	2.60	22.73 ^{ab} ± 0.67	7.89 ^a ± 0.24	93.50 ^a ± 0.71
5	24.64	1.60	26.98 ^a ± 2.32	8.52 ^a ± 0.61	88.00 ^a ± 4.24
6	95.35	1.60	21.65 ^b ± 0.77	7.73 ^a ± 0.32	92.50 ^a ± 0.71
7	60.00	0.18	22.39 ^{ab} ± 3.68	8.14 ^a ± 0.86	95.00 ^a ± 5.67
8	60.00	3.00	25.34 ^{ab} ± 0.16	8.78 ^a ± 0.00	93.50 ^a ± 0.71
9	60.00	1.60	23.88 ^{ab} ± 0.38	8.69 ^a ± 0.15	94.50 ^a ± 0.71
10	60.00	1.60	25.02 ^{ab} ± 1.17	8.70 ^a ± 0.11	94.00 ^a ± 1.41
11	60.00	1.60	23.45 ^{ab} ± 0.66	8.07 ^a ± 0.15	95.00 ^a ± 4.24
12	60.00	1.60	23.37 ^{ab} ± 0.16	8.97 ^a ± 0.07	93.50 ^a ± 3.53
9-12*	60.00	1.60	23.93 ^{ab} ± 0.00	8.60 ^a ± 0.03	94.00 ^a ± 2.83

Mean values in the same column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$). Results expressed as mean of two determinations ± standard deviation. * Average of samples 9 to 12. WF: whole-wheat flour; FR: fat replacer; WG: wet gluten; DG: dry gluten; GI: gluten index.

Wet gluten values between 21.65 and 27.02% were obtained, with a significant difference only between samples 2 (35WF+2.6FR) and 6 (95.35WF+1.6FR) and between samples 5 (24.64WF+1.6FR) and 6 (95.35WF+1.6FR), with lowest and highest whole-wheat flour levels, respectively. As whole-wheat flour level decreases (fiber content), the white flour level and the gluten value increases. Similar results were reported by Oro (20) or white and WF blends and Gonzalez *et al.* (8) in wheat flour.

Dry gluten values ranged from 7.73 to 8.84%, with no significant difference among samples. Dry gluten values correspond to slightly more than one-third of the wet gluten value (30). Oro (20) obtained similar values for white and WF blends; and by Gonzalez *et al.* (8) reported dry gluten values from 6.5 to 12.7%.

Gluten index values from the tested blends were 88.00-95.00, with no significant differences. According to Vázquez (30), these results characterize the blends as strong flours, which is technologically recommendable for bread baking.

Dextrose equivalent

DE corresponds to the degree of starch hydrolysis. The FR used in this study had a DE of 6.60 mg glucose/ml and

a hydrolysis percentage of 46.89% at 90 °C for 15 minutes in DNS solution. Hydrolyzed starch with DE from 8 to 5 is indicated for use as a FR (11). Enzymatic hydrolysis of starch yields maltodextrin with low DE (≤ 6.0), which according to Setser and Racette (25) is similar to native starch resulting in low humectancy, making it appropriate for use as FR because of moisture retention viscosity.

The hydrolysis efficiency found in this study was similar to that reported by Uthumporn *et al.* (29) (52.6% for 24 h of hydrolysis).

Color

The color properties of the blends are shown in Table 2.

Table 2: Color analysis of the homogenized blends of wheat flour and fat replacer.

Blend	WF (%)	FR (%)	L*	a*	b*
1	35.00	0.60	89.72 ^a ± 0.11	0.53 ^d ± 0.04	8.03 ^{ef} ± 0.06
2	35.00	2.60	89.71 ^a ± 0.29	0.55 ^d ± 0.06	7.86 ^f ± 0.09
3	85.00	0.60	77.61 ^d ± 1.09	4.07 ^a ± 0.43	10.75 ^b ± 0.20
4	85.00	2.60	80.00 ^c ± 0.86	3.23 ^b ± 0.33	10.16 ^c ± 0.29
5	24.64	1.60	90.86 ^a ± 0.36	0.23 ^d ± 0.04	8.18 ^{def} ± 0.12
6	95.35	1.60	76.01 ^d ± 1.48	4.30 ^a ± 0.54	11.63 ^a ± 0.37
7	60.00	0.18	85.21 ^b ± 0.36	1.78 ^c ± 0.10	8.61 ^d ± 0.06
8	60.00	3.00	85.83 ^b ± 0.57	1.55 ^c ± 0.17	8.41 ^{de} ± 0.11
9	60.00	1.60	85.73 ^b ± 0.31	1.64 ^c ± 0.12	8.40 ^{def} ± 0.08
10	60.00	1.60	85.51 ^b ± 0.66	1.71 ^c ± 0.23	8.47 ^{def} ± 0.12
11	60.00	1.60	85.42 ^b ± 0.77	1.68 ^c ± 0.25	8.35 ^{def} ± 0.19
12	60.00	1.60	85.45 ^b ± 0.34	1.68 ^c ± 0.14	8.27 ^{def} ± 0.08
9-12*	60.00	1.60	85.51 ^b ± 0.31	1.68 ^c ± 0.09	8.37 ^{def} ± 0.04

Mean values in the same column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$). Results expressed as mean of three determinations ± standard deviation. * Average of samples 9 to 12. WF: whole-wheat flour; FR: fat replacer; L*: luminosity; a* and b*: chroma coordinates.

Samples 1 (35WF+0.6FR), 2 (35WF+2.6FR) and 5 (24.64WF+1.6FR), with lower WF content and different FR contents, had significantly higher luminosity values (L^* tending to white) than the other samples, even with different FR levels, probably because of the white wheat flour content (Table 2). In samples 7, 8 and 9-12*, even with different levels of FR (0.18, 3.00 and 1.60%, respectively), there was no significant difference in L^* , as all samples contained the same percentage (60%) of WF.

However, when WF content increases to 85%, the FR content showed an impact on L^* . This was seen in samples 3 (85WF+0.6FR) and 4 (85WF+2.6FR), wherein sample 4 had a higher FR content and higher L^* than sample 3 ($p \leq 0.05$). Regarding the a^* chromaticity parameter, the samples behaved similarly as for L^* (Table 2). The lowest a^* chromaticity levels were observed in samples 1 (35WF+0.6FR), 2 (35WF+2.6FR) and 5

(24.64WF+1.6FR), which contained lower WF levels and different FR levels.

As a rule, as WF content increases, so does a^* chromaticity. Among samples 7, 8 and 9-12*, which contained 60% WF and different levels of FR, there was no significant difference for the a^* chromaticity parameter. However, when WF content was increased to 85%, as in samples 3 and 4 (with 0.6 and 2.6% FR respectively), a^* chromaticity was significantly higher in the sample with lower FR content.

Regarding the b^* chromaticity parameter, higher values were observed in samples with higher WF content: 11.63 for sample 6 (95.35WF+1.6FR), 10.75 for sample 3 (85WF+0.6FR) and 10.16 for sample 4 (85WF+2.6FR). All samples with a WF content ≤ 60 were statistically equal in terms of b^* chromaticity, regardless of FR content.

As the WF content increases, the samples become darker, redder and yellower regardless of the FR levels. This is consistent with the findings of Hidalgo *et al.* (9). These authors suggest the effect of particle size on color attributes of WF. According to Hidalgo and Brandolini (10) flour color is determined by the combination of luminosity (L^*) and yellow color (b^*) where luminosity is affected by bran content and yellow chromaticity is dependent on carotenoid content.

Scanning electron microscopy

Figure 1 presents images of the fat replacer.

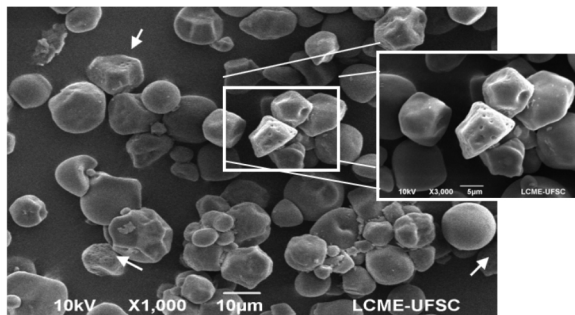


Figure 1: Scanning electron micrograph of the tested fat replacer. Arrow (→) shows evidence of enzyme activity.

There were irregularities in size and shape of the granular structure of the modified starch, as well as the presence of pores and crevices distributed randomly over the surface of the granules, indicating that hydrolysis of the starch granules did not occur evenly as confirmed by Uthumporn *et al.* (29). Thus, the observed image shows that the starch used as a FR in the present study probably underwent enzymatic attack. Similar images were published by Chen and Zhang (4) and Ma *et al.* (14).

Rheological evaluation

Farinography and alveography

The results are shown in Table 3.

Table 3: Farinography and alveography of the homogenized blends of whole-wheat flour and fat replacer.

Blend	Farinography			
	WA (%)	MT (min)	ST (min)	MTI (FU)
1	56.80 ^b ± 0.14	9.30 ^b ± 0.14	10.00 ^f ± 0.07	17.50 ^b ± 2.12
2	55.60 ⁱ ± 0.21	10.00 ^g ± 0.23	9.40 ^f ± 0.28	18.00 ^b ± 1.41
3	62.30 ^b ± 0.42	20.40 ^a ± 0.41	18.00 ^b ± 0.42	16.00 ^{bc} ± 2.28
4	61.30 ^c ± 0.28	16.20 ^b ± 0.21	17.60 ^{bc} ± 0.03	7.00 ^d ± 0.71
5	56.00 ⁱ ± 0.07	9.20 ^b ± 0.07	8.60 ^f ± 0.00	28.00 ^a ± 0.00
6	64.20 ^a ± 0.40	16.70 ^b ± 0.23	21.80 ^a ± 0.06	6.00 ^d ± 0.43
7	58.90 ^d ± 0.26	12.50 ^d ± 0.17	14.60 ^{de} ± 0.21	11.00 ^{cd} ± 1.41
8	56.60 ^b ± 0.21	12.35 ^d ± 0.11	12.60 ^a ± 0.23	15.00 ^{bc} ± 2.83
9	57.70 ^{bc} ± 0.14	11.70 ^{de} ± 0.26	13.90 ^{de} ± 0.13	9.00 ^d ± 0.25
10	58.10 ^{cd} ± 0.17	15.00 ^c ± 0.42	17.60 ^{bc} ± 0.62	11.00 ^{cd} ± 0.14
11	58.50 ^{de} ± 0.24	10.50 ^e ± 0.57	14.00 ^{de} ± 0.49	7.00 ^d ± 0.17
12	57.40 ^g ± 0.04	11.20 ^f ± 0.21	16.90 ^{bc} ± 0.24	7.00 ^d ± 0.46
9-12*	57.90 ^{bc} ± 0.21	12.10 ^{de} ± 0.13	15.60 ^{cd} ± 0.05	9.00 ^d ± 0.61

Blend	Alveography			
	P (mm H ₂ O)	L (mm)	P/L	W (x 10 ⁻⁴ J)
1	104.0 ^{bcd} ± 1.4	27.0 ^a ± 0.0	3.85 ^d ± 0.06	124.0 ^a ± 1.4
2	113.0 ^{cd} ± 2.81	26.0 ^a ± 1.4	4.35 ^d ± 0.35	131.0 ^a ± 2.8
3	120.0 ^{ab} ± 1.4	11.5 ^{de} ± 0.7	10.45 ^a ± 0.52	61.0 ^c ± 4.2
4	102.0 ^d ± 1.4	9.5 ^a ± 0.7	10.76 ^a ± 0.65	40.0 ^d ± 0.0
5	103.5 ^{cd} ± 0.7	28.5 ^a ± 0.7	3.63 ^d ± 0.06	131.5 ^a ± 3.5
6	126.5 ^a ± 7.8	13.0 ^{cd} ± 1.4	9.75 ^{ab} ± 0.46	69.5 ^c ± 10.6
7	104.0 ^{cd} ± 2.8	22.0 ^b ± 1.4	4.73 ^d ± 0.18	104.0 ^b ± 7.1
8	113.5 ^{abcd} ± 2.1	15.5 ^c ± 0.7	7.33 ^c ± 0.47	76.5 ^c ± 0.7
9	114.0 ^{abcd} ± 1.4	15.0 ^c ± 0.0	7.60 ^c ± 0.10	76.0 ^c ± 0.0
10	118.0 ^{ab} ± 1.4	13.5 ^{cd} ± 0.7	8.75 ^{bc} ± 0.56	69.5 ^c ± 3.5
11	116.0 ^{abc} ± 4.2	14.5 ^{cd} ± 0.7	8.00 ^c ± 0.10	73.5 ^c ± 7.8
12	114.0 ^{abcd} ± 5.6	14.50 ^{cd} ± 0.7	7.88 ^c ± 0.78	70.0 ^c ± 2.8
9-12*	115.5 ^{abc} ± 2.1	14.0 ^{cd} ± 0.0	8.05 ^c ± 0.29	72.0 ^c ± 1.4

Mean values in the same column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$). Results expressed as mean of two determinations ± standard deviation. * Average of samples 9 to 12. WA: water absorption; MT: mixing time; ST: stability; MTI: mixing tolerance index; FU: Farinograph Unit; P: tenacity; L: extensibility; P/L: tenacity/extensibility ratio; W: deformation energy.

In the farinograph parameters, samples with the same WF content and different levels of FR, showed that water absorption decreased significantly and there was no significant difference in stability (Table 3).

Farinograph water absorption values ranged from 55.60 to 64.20% in the WF blends and 59.0% for the white flour. Notice that the whole and white flours used here were obtained from the same batch of grain. These values confirm

that the blends are adequate for baking (30).

Increased WF content also increased water absorption and sample retention in the 600 μm sieve, indicating larger particle size due to fragments from the bran. This same statement was made by Seyer and Gélinas (26), Sudha *et al.* (28), Oro (20) and Noort *et al.* (18). In the other hand, FR can decrease water absorption (17).

The FR seems to acts as a lipid, plasticizing the dough and coating the protein structure of the gluten and starch granules, preventing them from absorbing water during the mixing process (5).

According to Ortiz and Lafond (21), wheat bran has high water absorption due hemicellulose, cellulose and lignin content with a large number of hydroxyl groups capable of interacting with water through hydrogen bonding. Increased bran particle size results in higher amounts of water needed to hydrate the bread dough (21). However, studies by Noort *et al.* (18) found that water absorption decreased as the average size of the wheat bran particles in the dough increased.

Dough mixing time ranged from 9.20 to 20.40 min (Table 3). Increasing WF content, increased mixing time. This is consistent with other studies, with increased contents of different fibers, such as β -glucan (27); wheat bran, rice, oats and barley (28). The effect of FR content on mixing time, has not been reported.

The studied flour blends and fat replacement exhibited stability values between 8.60 and 21.80 minutes (Table 3). According to Cauvain (3), white flours technologically indicated for bread making must have stability values of 10.0 to 16.0 min.

The higher the WF content, the higher the stability of the resulting dough, which is consistent with the results of Skendi *et al.* (27). Some studies (20, 26, 28) have reported the opposite, i.e., increased stability with increasing white wheat flour content. A study with superfine green tea powder particles was demonstrated the impact of size particles on the formation of the gluten network (13).

Mixing tolerance indices ranged from 6.00 to 28.00 FU (Table 3). As the WF content increased, the MTI decreased. This behavior is consistent with a previous study in which content of different fibers, such as wheat bran, rice, oats and barley, reduced the MTI (28).

Alveography showed, tenacity values (P) from 102.0 to 126.5 mm H_2O (Table 3). These results showed a trend toward increased tenacity values with increasing WF content. There was no significant difference in tenacity with the same WF content and different FR levels except between samples 3 (85WF+0.6FR) and 4 (85WF+2.6FR). These results suggest that a greater amount of FR leads to reduced resistance; which consistent with (31) where the addition of inulin and carob to dough, increased tenacity, thereby enabling it to support more fermentation. Similar results for tenacity (P) were found with WF of uniform particle size (20) and hydrocolloids (23).

Dough extensibility (L), ranged from 9.5 to 28.5 mm. The extensibility increased with lower WF content, in accordance to (20).

Tenacity/extensibility (P/L) ratio ranged from 3.63 to 10.76 (Table 3). Among the samples, there was no significant difference in extensibility between samples with the same WF content and different amounts of FR. However, increased WF content, resulted in greater tenacity and lower extensibility, causing increase of tenacity/extensibility ratio, probably due to presence of fibers that cause dilution of the gluten network and increase its resistance to extension. Similar results were found by Oro (20).

Gluten strength (W) values ranged from 40.0×10^{-4} to 131.5×10^{-4} J (Table 3). There was a significant difference between samples 3 (85WF+0.6FR) and 4 (85WF+2.6FR) probably because increasing FR decreased the deformation energy required to inflate the bubble to the bursting point. In short, the higher the WF content, the lower the gluten strength value. Similar behavior was reported Wang *et al.* (31) and Oro (20).

Viscosity

The results of the viscosity properties of flour blends and FR are shown in Table 4 and illustrated in Figure 2.

Table 4: Pasting properties of the homogenized blends of wheat flour and fat replacer

Blend	Paste Temp (°C)	Max Visc (cP)	Min Visc (cP)
1	50.40 ^a ± 0.28	1032.00 ^b ± 21.21	641.00 ^b ± 26.87
2	50.42 ^a ± 0.46	1207.50 ^a ± 50.20	805.00 ^a ± 38.18
3	50.22 ^a ± 0.11	361.50 ^a ± 24.75	315.00 ^{ef} ± 18.38
4	50.42 ^a ± 0.46	386.00 ^e ± 19.80	344.50 ^{def} ± 17.68
5	50.45 ^a ± 0.42	1334.00 ^a ± 90.51	803.00 ^a ± 84.85
6	50.52 ^a ± 0.25	267.00 ^e ± 0.00	224.50 ^f ± 3.53
7	50.25 ^a ± 0.00	669.00 ^{cd} ± 9.90	469.00 ^{cd} ± 48.08
8	50.60 ^a ± 0.00	679.00 ^{cd} ± 48.08	534.00 ^{bc} ± 38.18
9	50.75 ^a ± 0.78	607.00 ^d ± 29.70	438.00 ^{cde} ± 8.48
10	50.35 ^a ± 0.35	578.00 ^d ± 63.64	434.00 ^{cde} ± 4.24
11	51.15 ^a ± 1.41	794.00 ^c ± 26.87	570.50 ^{bc} ± 4.95
12	55.90 ^a ± 6.43	666.50 ^{cd} ± 62.93	487.50 ^c ± 43.13
9-12*	52.04 ^a ± 1.54	661.37 ^{cd} ± 13.96	482.50 ^{cd} ± 8.84

Blend	BD (cP)	Final Visc (cP)	Retrog (cP)
1	391.00 ^b ± 5.66	1599.0 ^{ab} ± 16.97	985.00 ^{ab} ± 9.90
2	402.50 ^b ± 12.02	1843.5 ^a ± 88.40	1038.50 ^a ± 50.20
3	46.50 ^d ± 6.36	1135.5 ^{de} ± 57.27	820.50 ^{abc} ± 38.89
4	41.50 ^d ± 2.12	1177.0 ^{cd} ± 130.11	832.50 ^{abc} ± 112.43
5	531.00 ^a ± 5.66	1814.0 ^a ± 121.62	1011.00 ^{ab} ± 36.77
6	42.50 ^d ± 3.53	846.5 ^e ± 34.65	622.00 ^c ± 31.11
7	200.00 ^c ± 57.98	1292.0 ^{bcd} ± 107.48	823.00 ^{abc} ± 59.40
8	145.50 ^{cd} ± 9.90	1464.5 ^{bcd} ± 94.04	930.50 ^{ab} ± 55.86

9	169.00 ^c ± 38.18	1250.50 ^{cd} ± 21.92	812.50 ^{bc} ± 13.43
10	144.00 ^{cd} ± 59.40	1249.50 ^{cd} ± 56.57	815.00 ^{bc} ± 52.32
11	223.50 ^c ± 21.92	1478.50 ^{bc} ± 79.90	908.00 ^{ab} ± 74.95
12	179.00 ^c ± 19.80	1352.50 ^{bcd} ± 118.09	865.00 ^{ab} ± 74.95
9-12*	178,87 ^c ± 5,12	1332,60 ^{bcd} ± 29,87	850,12 ^{ab} ± 21,04

Mean values in the same column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$). Results expressed as mean of two determinations ± standard deviation. * Average of samples 9 to 12. Paste Temp: pasting temperature; Max Visc: maximum viscosity; Min Visc: minimum viscosity; BD: breakdown (maximum viscosity minus minimum viscosity at constant temperature); Final Visc: final viscosity; Retrog: retrogradation (final viscosity minus minimum viscosity at constant temperature); cP: centipoise.

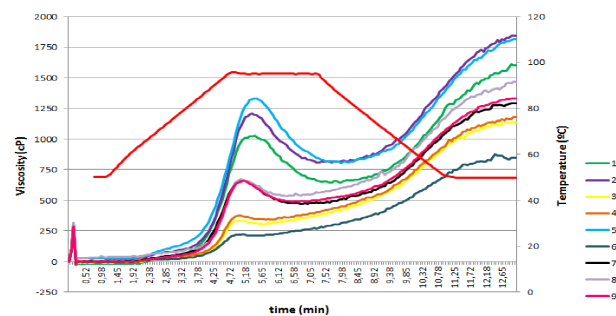


Figure 2: Pasting properties of the homogenized blends of flour and fat replacer. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 and 9 denote samples of flour blends; sample 9 represents the average from sample 9 to 12.

At first, observing the behavior of the paste properties of the samples, it is clear that paste viscosity values decreased as the WF content increased (Figure 2). However, as shown in Table 4, the pasting temperatures ranged from 50.22 to 52.04%, with no significant differences, suggesting that the samples possessed similar gelling properties as confirmed by Leon *et al.* (12).

In paste properties parameters, samples with the same WF content and different levels of FR, showed no significant difference in paste viscosity, maximum viscosity, minimum viscosity, breakdown, final viscosity and tendency to retrogradation values (Table 4). The maximum viscosity, minimum viscosity, breakdown and final viscosity tendency to retrogradation values presented a gradual increase as the WF content of the blends decreased ($p \leq 0.05$).

The experimental design followed as Table 1, showing the percentages of whole-wheat flour (%WF) and fat replacer (%FR) as independent variables for each of that treatments. The gluten, farinography, alveography and viscosity results and their significance according to ANOVA and Tukey's test ($p \leq 0.05$) are also included (Tables 1, 2, 3 and 4; Figure 2). In order to enhance the significance of the results of the analysis it is suggested to increase the levels of the fat replacer. That is, with a new experimental design it could be possible to verify the behavior of the fat replacer functioning as a fat mimic, as expected. In this sense, fat affects the gluten network (22), weakening protein interactions as more fat is used, resulting in lower water absorption and mixing time (22) as well as in decreased viscosity values (2).

Conclusion

Gluten content analysis indicates that the flour used in this experiment is strong, technologically amenable to use in bread baking, and has gluten index values within the stated range for commercial flour.

Both dextrose equivalent and starch microstructure analysis showed that the tested FR can be indicated for use in bread manufacturing.

The fiber in WF interfered mainly with the rheological attributes (farinography, alveography, and viscosity) of dough and the color of bread, in proportion to its content.

The effects of the FR were only observed in samples 3 (85WF+ 0.6FR) and 4 (85WF+2.6FR), with high whole-grain flour contents. In these cases, a higher FR content resulted in a reduction of tenacity and mechanical work and an increase in luminosity. This suggests that the FR made the dough more stable (enabling it to support a longer fermentation period) and whiter, thus supporting its use, at the tested concentrations, for manufacturing of WF breads, with the purpose of adding nutritional value and quality for the consumer.

In order to enable a more robust evaluation of the effect of fat replacer content on the rheological analyses, it is suggested to develop a new experimental design with higher levels of fat replacer.

Agradecimientos

The authors thank Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica do Estado de Santa Catarina - FAPESC (TR2012000008).

References

1. **AACC.** *Approved Methods of Analysis*, 10th ed. St Paul, MN, American Association of Cereal Chemists, USA. 2000.
2. **Bucella, B.; Molnár, D., Haasztoz, A. H. and Tomoskozi, S.** *Comparison of the rheological and end product properties of an industrial aleurone-rich wheat flour, whole grain wheat and rye flour.* J Cereal Chem. 69: p. 40-48. 2016.
3. **Cauvain, S.P.** *Breadmaking: improving quality.* Woodhead Publishing Limited, England. 2012.
4. **Chen, G. and Zhang, B.** *Hydrolysis of granular corn starch with controlled pore size.* J Cereal Sci. 56: p. 316–320. 2012.
5. **Chin, N.L.; Rahman, R.A.; Hashim, D.M. and Kowng, S.Y.** *Palm oil shortening effects on baking performance of white bread.* J Food Process Eng. 33: p. 413–433. 2010.
6. **Fisher, R.** *The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance.* Trans Roy Soc Edim. 52: p. 399-433. 1918.
7. **FDA - Food and Drug Administration (2010)** *Nutrition label-*

- ling and education requirements [Online]. Available at: <http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm114092.htm> (verified 10 April 2013).
8. **Gonzales, R.J.; Osella, C.A. and Destefani, E.** *Relazione tra il contenuto proteico ed il glutine umido e secco nei frumenti commerciali*. *Tecnica molitoria – Relationship between protein content and dry and wet gluten in commercial wheats*. *Tecnica Molitoria*. 2: p. 137-139. Feb/1998.
 9. **Hidalgo, A.; Fongaro, L. and Brandolini, A.** *Wheat flour granulometry determines colour perception*. *Food Res Int*. 64: p. 363-370. 2014.
 10. **Hidalgo, A. and Brandolini, A.** *Protein, ash, lutein and tocols distribution in einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) seed fractions*. *Food Chem*. 107: p. 444-448. 2008.
 11. **Khatoun, S.; Sreerama, Y.N.; Raghavendra, D.; Bjattacharya, S. and Bhat, K.K.** *Properties of enzyme modified corn, rice and tapioca starches*. *Food Res Int*. 42: p. 1426-1433. 2009.
 12. **Leon, E.; Piston, F.; Aouini, R.; Shewry, P.R.; Rosell, C.M.; Martin, A. and Barro, F.** *Pasting properties of transgenic lines of a commercial bread wheat expressing combinations of HMW gluten in subunit genes*. *J Cereal Sci*. 51: p. 344-349. 2010.
 13. **Li, M.; Zhang, J.H.; Zhu, K.X.; Peng, W. and Wang, B.** *Effect of superfine green tea powder on the thermodynamic, rheological and fresh noodle making properties of wheat flour*. *LWT - Food Sci Technol*. 46: p. 23-28. 2012.
 14. **Ma, Y.; Cai, C.; Wang, J. and Sun, D.** *Enzymatic hydrolysis of corn starch for producing fat mimetics*. *J Food Eng*. 73: p. 297-303. 2006.
 15. **Miller, G.L.** *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*. *Anal Chem*. 31: p. 426-431. 1959.
 16. **Miyazaki, M.; Hung, P.V.; Maeda, T. and Morita, N.** *Recent advances in application of modified starches for bread-making*. *Trends Food Sci Tech*. 17: p. 591-599. 2006.
 17. **Morita, N.; Maeda, T.; Miyazaki, M.; Yamamori, M.; Miura, H. and Ohtsuka, I.** *Dough and baking properties of high-amylose and waxy wheat flours*. *Cereal Chem*. 79: p. 491-495. 2002.
 18. **Noort, M.W.J.; Haaster, D.V.; Hemery, Y.; Schols, H.A. and Hamer, R.J.** *The effect of particle size of wheat bran fractions on bread quality – Evidence for fibre – protein interactions*. *J Cereal Sci*. 52: p. 59-64. 2010.
 19. **O'Connor, A.** *An overview of the role of bread in the UK diet*. *Nutr B*. 37: p. 193-212. 2012.
 20. **Oro, T.** *Adaptação de Métodos para Avaliação da Qualidade Tecnológica de Farinha de Trigo Integral*. PhD Thesis, Federal University of Santa Catarina, BR. 2013.
 21. **Ortiz, D.E. and Lafond, D.W.** *Physicochemical properties of wheat bran and related application challenges*. In: Cho SS and Almeida N *Dietary fiber and health*. CRC Press, Boca Raton. p 369-384. 2012.
 22. **Pareyt, B.; Brijs, K. and Delcour, J. A.** *Impact of fat on dough and cookie properties of sugar-snap cookies*. *Cereal Chem*. 87 (3): p. 226-230. 2010.
 23. **Rosell, C.M.; Rojas, J.A. and Benedito de Barber, C.** *Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality*. *Food Hydrocolloid*. 15: p. 75-81. 2001.
 24. **Scheuer, P.M.; Di Luccio, M.; Zibetti, A.W.; Miranda, M.Z. and Francisco, A.** *Relationship between instrumental and sensory texture profile of bread loaves made with whole-wheat flour and fat replacer*. *J Texture Stud*. in-press. 2015.
 25. **Setser, C.S. and Racette, W.L.** *Macromolecule replacers in food products*. *Crc Cr Rev Food Sci*. 32(3): p. 275-297. 1992.
 26. **Seyer, M. and Gélinas, P.** *Bran characteristics and wheat performance in WF bread*. *Food Sci Technol*. 44: p. 688-693. 2009.
 27. **Skendi, A.; Biliaderis, C.G.; Papageorgiou, M. and Izydorczyk, M.S.** *Effects of two barley β -glucan isolates on wheat flour dough and bread properties*. *Food Chem*. 119: p. 1159-1167. 2010.
 28. **Sudha, M.L.; Vetrmani, R. and Leelavathi, K.** *Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality*. *Food Chem*. 100: p. 1365-1370. 2007.
 29. **Uthumporn, U.; Zaidul, I.S.M. and Karim, A.** *Hydrolysis of granular starch at sub-gelatinization temperature using a mixture of amylolytic enzymes*. *Food Bioprod Process*. 88: p. 47-54. 2010.
 30. **Vázquez, D.** *Aptitud industrial de trigo*. Montevideo. Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología de INIA La Estanzuela, Uruguay. 2009.
 31. **Wang, J.; Rosell, C.M. and Barber, C.B.** *Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality*. *Food Chem*. 79: p. 221-226. 2002.

Recibido: 20/07/2016.

Aprobado: 07/06/2017.

RECYT

Año 19 / N° 28 / 2017 / 11–15

Extracción asistida por enzima de licopeno en pulpa de Guayaba (*Psidium guajava* L.)

Enzyme assisted extraction of lycopene in guava pulp (*Psidium guajava* L.)

Jenny C. Rosero Henao¹, Luis F. Mejía Giraldo¹, Luis E. Ordoñez Santos^{1,*}

1- Universidad Nacional de Colombia-Sede Palmira, Facultad de Ingeniería y Administración,
Departamento de Ingeniería, Carrera 32 N° 12-00, Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

* E-mail: luedor4@hotmail.com

Resumen

El licopeno es un carotenoide con beneficios en la salud humana y de amplio uso en la industria farmacéutica y alimentaria. El objetivo de esta investigación fue evaluar la extracción de licopeno en pulpa de guayaba asistida por la enzima pectinasa. Se evaluaron parámetros como la concentración de enzima y el tiempo de incubación. Los resultados indicaron que la extracción enzimática en la pulpa de guayaba permitió aumentar el rendimiento de extracción del licopeno en un 38,65%, usando una concentración de pectinasa de 0.02% (v/w de substrato), después de 45 minutos de incubación, a 28 °C y pH de 4,5. Bajo estas condiciones, la concentración de licopeno extraído fue de 40,08 ug/g materia fresca. El tratamiento con pectinasa aumenta la biodisponibilidad del licopeno en pulpa de guayaba, ofreciendo una alternativa interesante en procesos de extracción de tan importante antioxidante.

Palabras clave: Fruta exótica; Licopeno; CIEL*a*b*; Pectinasa; Extracción.

Abstract

Lycopene is a carotenoid with known benefits on human health and of wide use in pharmaceutical and food industry. The objective of this research was to evaluate the extraction of lycopene in guava pulp assisted by the enzyme pectinase. Parameters such as enzyme concentration and incubation time were evaluated. The results indicated that the enzyme improved the extraction of lycopene from guava pulp. An increase in lycopene yield of 38.65% was obtained, with a pectinase concentration of 0.02% (v/w of substrate) after 45 min of incubation, at 28°C and pH of 4.5. Under these conditions, the concentration of lycopene extracted was 40,08 ug/g fresh material. Pectinase treatment increases the bioavailability of lycopene in guava pulp, offering an interesting alternative in extraction processes of such important antioxidant.

Key words: Exotic fruit; Lycopene; CIEL*a*b*; Pectinase; Extraction.

Introduction

Guava (*Psidium guajava* L) is a fruit known by its high content of vitamins (A, C, B1 y B3, and others), minerals such as calcium, phosphorus and iron; and antioxidants (carotenoids, phenolics and ascorbic acid) (1). Its lycopene content quantified in 4-6 mg/100g of edible portion doubles tomato content (2). Lycopene (C₄₀H₅₆) is an acyclic carotenoid with thirteen linearly arranged double bonds, eleven conjugated and two not conjugated, considered an efficient antioxidant although having no activity as provitamin A (3-5). As an antioxidant lycopene can prevent or delay oxidative damage of lipids, proteins and nucleic acids, generated by reactive oxygen species which include free reactive radicals such as superoxide, hydroxyl, peroxy, alkoxyl and non-radicals such as hydrogen peroxide, etc (6). This effect is achieved through the inhibition of the initiation and breaking the chain propagation, or suppressing

the formation of free radicals by binding to the metal ions, reducing hydrogen peroxide, and quenching superoxide and singlet oxygen (6). Thus, this antioxidant not only presents benefits for human health, but also to the food industry where it is used as an additive to maintain nutritional and sensory quality (7-9).

Different trials that involve the use of organic solvents and other techniques kinder to the environment have been used for the extraction and quantification of this compound. This way different systems such as liquid-liquid extractions, solid phase extractions or supercritical fluid extractions, can be used (10). Liquid-liquid extractions are most common and many optimising variables can be found through the variation of the solvents and its proportions, for example Ordoñez-Santos & Vázquez-Riascos(11) recommend the combination of hexane/acetone/ethanol (50:25:25 v/v), acetate/hexane or acetone/hexane (10). However, these systems of extraction often present

problems such as: low extraction yields, long extraction times required, poor quality and final products with traces of organic solvents; all which added with the instability of the lycopene and the toxic and harmful potential of organic solvents to the environment, as well as the safety hazards and high energy costs involved (12), makes this extractions very complex (10,13). Thus, there is an increasing interest in exploiting and looking for alternative sources and methods of extraction for lycopene (2) and this is where an enzymatic cell wall lysis to improve the extraction yield of intracellular contents, represents an innovative method with great potential that has gain interest for the extraction of different kind of substances (8).

The potential use of enzymes lies not only on its capacity to catalyze reactions with exquisite specificity and selectivity, but also on its ability to function under mild processing conditions in aqueous solutions, and this makes them ideal assistants for extractions, modifications or synthesis of complex biological compounds (12,14). In this way they have been evaluated in the extraction of capsaicinoids and carotenoids from chilli (*Capsicum annum* L.) increasing the yields in 7% and 11% as an exclusively effect of the enzymes (15), in the extraction of oil of Guevina avellana mol and *Silybum marianum* seeds with improvements of 98% and 10.46% respectively (16,17), the extraction of lycopene from tomato tissues (*Lycopersicum esculentum* S.) upgrading the yield in 198% with cellulase and 224% with pectinase (8) and the extraction of phenolics from citrus peels were the highest recovery in the enzyme-assisted extraction process using CelluzymeMX was up to 65.5% (18). Although enzyme assisted extraction has been applied in different plant, there are no reports available on extraction of lycopene from guava pulp using this technique.

The aim of this study was to evaluate the extraction of lycopene from guava pulp assisted by the use of pectinolytic enzymes.

Materials and Methods

Chemicals

Pectinase (polygalacturonase) produced by the company Novozyme as Pectinex Ultra Clear®; produced from a combination of *Aspergillus niger* and *aculeatus*, with declared activity of 7900 PGNU/ml.

Hexane (96%), ethanol (99.9%) and acetone (99.8%) purchased from Merck; Glacial acetic acid (99.5%) from Panreac Química S.A.; Sodium acetate trihydrate (99.5%) and sodium hydroxide in pellet form (97%) from Carlo Erba Reagents.

Preparation of the samples

Indian Pink Guavas (*Psidium guajava* L.) with commercial maturity grade, obtained from the rural zone of Palmira, Colombia, were used as substrate. Batches of guava were blended for 3 minutes in a domestic blender with sodium acetate buffer (0.2M, pH 4.5), in a solid-liquid ratio of 1: 0.5 (w/v) and then divided into equal amounts in Erlenmeyers to provide samples for three repetitions and their controls, used later in the enzymatic treatment. The pH and temperature of the samples were controlled strictly, to guaranty that the activity of the enzyme employed was ideal. Thus, a pH meter HI 4221 (HANNA Instruments, Woonsocket, RI, USA) equipped with a thermocouple, was employed following the Colombian Technique Norm (NTC) No.4592.

Enzymatic treatment of the guava pulp

Different enzyme concentrations and incubation times were evaluated in the treatment of guava pulp. Thus, volumes of a pectinase enzyme solution (1:100) were added to samples of guava pulp previously mixed with buffer according to the item above and following the concentrations established in Table 1. The samples were incubated in a stirring plate for periods of 15, 30, 45 and 60 minutes at 28°C, after which all samples were submitted to a heat treatment at 70°C for 5 minutes to inactivate the enzyme. The obtained product, named enzymatically treated guava pulp (ETGP), was packed and stored under refrigeration for the subsequent extraction and quantification of lycopene. Triplicates and control samples were employed to evaluate each condition. Control samples, were subjected to the same conditions of temperature and stirring.

Table 1: The enzymatic treatments applied to the guava pulp

Treatment	Enzyme concentration (% v/w of substrate)	Substrate (g)	Volume of Buffer (mL)	Total Sample (g)	Vol. Enzyme added (mL)
1	0.010	166.67	83.33	250	1.667
2	0.014	166.67	83.33	250	2.250
3	0.017	166.67	83.33	250	2.833
4	0.020	166.67	83.33	250	3.333

Lycopene extraction and quantification

Lycopene was extracted following the procedure described by Ordóñez-Santos & Vázquez-Riascos (2010) (11). Briefly, 2.5 g of the sample (ETGP) was weighed in a 50 mL Erlenmeyer flask, and 25 mL of 2:1:1 hexane/acetone/ethanol was added. The flask was covered with aluminium foil, and then placed in ice water and shaken for 15 min in a stirring plate (Thermo Scientific Instruments LLC, Madison, WI, USA), after which 10 mL of distilled water was added and the sample was allowed to rest. A

sample of the organic (hexane) phase was then taken with a Pasteur pipette and lycopene was quantified as $\mu\text{g/g}$ fresh material by measurement the absorbance of the extract at 503 nm against hexane in a Genesys 20 spectrophotometer (Thermo Scientific Instruments LLC, Madison, WI, USA) using quartz cells UV -6030.

Physicochemical analyses

The colour was measured in the surface (8 points) and the interior (5 points) of the fruit using aCR400 chroma meter (Konica Minolta Sensing INC, Japan) provided with a 2° standard observer, a D65 illuminant and a calibration pattern of Y(89.5) x(.3176) y(.3347), the colour parameters (L^* , a^* , b^*) corresponding to the uniform colour space CIEL*a*b* were obtained directly from the apparatus. Also Titratable Acidity (TA), pH and total soluble solids content (SS) were determined to characterize the fruit following the Colombian Technique Norms (NTC) (19-21).

Statistical analysis

Results were expressed as means $\pm$ standard deviations. The experimental data conform to one-factor complete randomized blocks designs with three replicates, and were analyzed by one-way ANOVAs using fixed effects models and post hoc Tukey tests. All analyses were performed using SPSS for Windows v.18.

Results and discussion

The physicochemical properties of the guava fruit employed can be seen in Table 2. The pH and SS did not differ much from the values reported by other researchers who studied the same variety, such as Ordóñez - Santos & Vázquez - Riascos (11), Rojas-Barquera & Narváez-Cuenca (1) and González *et al.*, (22). The TA was consistent with the data registered by the first two sources previously indicated and lower than the reported by González *et al.*, (22).

The colour of the pulp was dark red, similar results were found in the characterization made by González *et al.*, (22).

Table 2: Physicochemical properties of guava fruit (means $\pm$ standard deviations)

Property	Value
pH	4.19 $\pm$ 0.09
Soluble Solids (°Brix)	9.24 $\pm$ 1.18
Titrateable Acidity ¹	0.45 $\pm$ 0.10
CIE _{L*a*b*}	
L^*	55.17 $\pm$ 2.03
a^*	32.51 $\pm$ 2.43
b^*	17.51 $\pm$ 1.41

¹1% of Citric Acid.

The effect of pectinase concentration and incubation time on the enzymatic extraction of lycopene from guava pulp is shown in Figures 1 to 4.

Pectinase at 0.01% v/w of substrate proved to be very effective in increasing the extraction yield of lycopene from guava pulp by 20.60% respect to the blank. An incubation time of 15 min was found to be optimum to degrade the cell wall (Fig. 1).

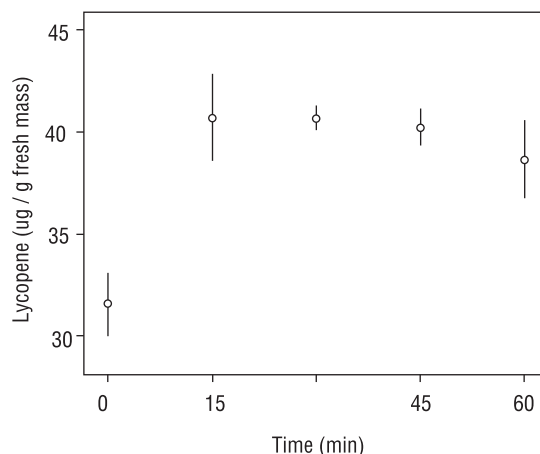


Figure 1: Incubation time on lycopene extraction from guava pulp, using pectinase at 0.01% v/w of substrate

Pretreatment of guava pulp with a concentration of pectinase of 0.0135 and 0.017% (v/w of substrate), allowed an increase in lycopene extraction of 29.80% respect to the blank, with an incubation time of 30 minutes (Figs. 2 and 3).

Pretreatment of the sample with enzyme at 0.02% (v/w of substrate), allowed an increase in lycopene extraction of 38.65%, after 45 minutes of incubation. Under these conditions, the lycopene extracted was 40.08 $\mu\text{g/g}$ (Fig. 4).

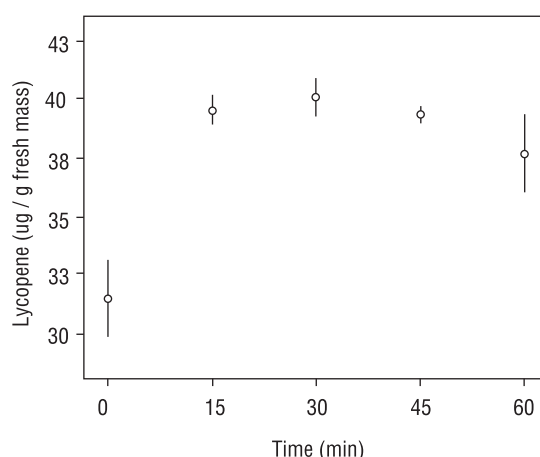


Figure 2: Incubation time on lycopene extraction from guava pulp, using pectinase at 0.0135% (v/w of substrate)

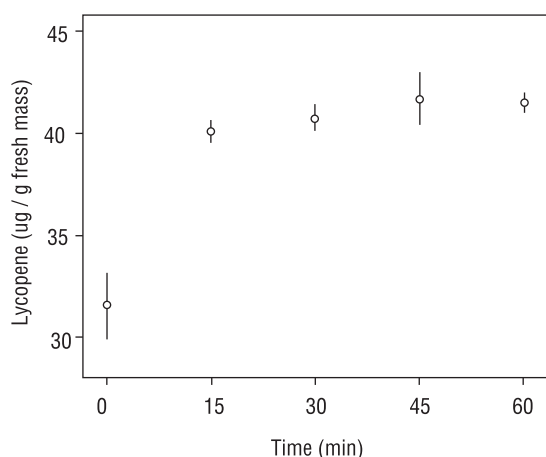


Figure 3: Incubation time on lycopene extraction from guava pulp, using pectinase at 0.0170% 0.135% (v/w of substrate).

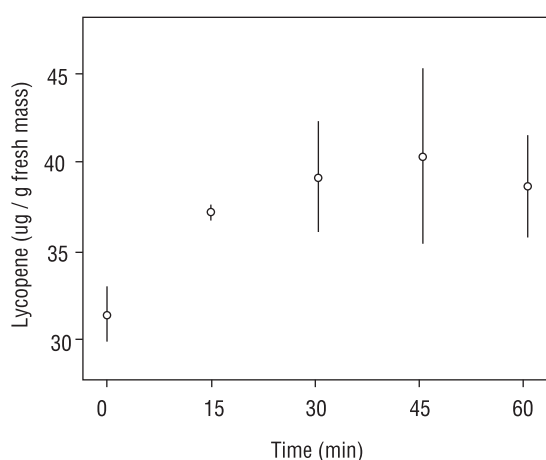


Figure 4: Incubation time on lycopene extraction from guava pulp, using pectinase at 0.020% (v/w of substrate).

Other studies involving pectinase enzyme as assistants in the extraction of lycopene compounds in which higher extraction yields were achieved, for example: Choudhari & Ananthanarayan (8) reports that enzyme aided extraction of lycopene from whole tomatoes under optimised conditions resulted in an increase in the lycopene yield by 224%. Papaioannou & Karabelas (23) record extraction yields 20-25% in tomato peels, and Strati *et al.*, (24) record extraction yields 650% in tomato waste. Respect of these differences is necessary to clarify that in all of these studies, differences in study samples, different enzyme activity, extraction methods and experimental conditions such as temperature and pH were used. Choudhari & Ananthanarayan (8) and Strati *et al.*, (24) report that the extraction yields obtained by enzyme assisted extraction is associated with the pectinase being pectolytic and hemicellulolytic has the ability to disintegrate pectic compounds and pectin, the latter a polymer of 100-200-galacturonic acids, found in the middle lamella and primary walls. The degradation of structural components of tomato tissue, solvent molecules penetrates more easily the ruptured peel tissue and dissolves lycopene.

Conclusions

In this study it can be concluded that the guava pulp is an important source of lycopene, and shows that through the hydrolysis of the pectinolytic matrix of the plant tissue it's possible to improve conventional solvent extraction methodologies. The best result in the enzyme assisted extraction of lycopene was achieved with pectinase at 0.02% (v/w of substrate) of pectinase and 45 minutes of incubation time, with an extraction yield of 38.65%. Under these conditions, the concentration of lycopene extracted was 40.08 ug/g.

References

1. Rojas-Barquera, D.; y Narváez-Cuenca, C.E. *Determinación de vitamina C, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante*. Quim. Nova, 32(9): 2336-2340. 2009.
2. Kong, K. W.; Ismail, A.; Tan, C. P. y Rajab, N. F. *Optimization of oven drying conditions for lycopene content and lipophilic antioxidant capacity in a by-product of the pink guava puree industry using response surface methodology*. LWT-Food Sci Tech. 43(5): 729-735. 2010.
3. Böhm, V.; Fröhlich, K.; y Bitsch, R. *Rosehip-a "new" source of lycopene?* Mol Aspects Med, 24(6): 385-389. 2003.
4. Lugasi, A.; Biró, L.; Hóvári, J.; Sági, K. V.; Brandt, S. y Barna, É. *Lycopene content of foods and lycopene intake in two groups of the Hungarian population*. Nutr Res, 23(8): 1035-1044. 2003.
5. Yi, C.; Shi, J.; Xue, S. J.; Jiang, Y.; y Li, D. *Effects of supercritical fluid extraction parameters on lycopene yield and antioxidant activity*. Food Chem, 113(4): 1088-1094. 2009.
6. Lim, Y. Y.; Lim, T. T.; y Tee, J. J. *Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study*. Food Chem, 103(3), 1003-1008. 2007.
7. Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Zevallos, L.; y Byrne, D. H. *Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts*. J Food Comp Anal, 19(6): 669-675. 2006.
8. Choudhari, S. M. y Ananthanarayan. *Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues*. Food Chem, 102(1): 77-81. 2007.
9. Kong, K. W.; y Ismail, A. *Lycopene content and lipophilic antioxidant capacity of by-products from Psidium guajava fruits produced during puree production industry*. Food Bioprod Process, 89(1): 53-61. 2011.
10. Barba, A. O.; Hurtado, M. C.; Mata, M. S.; Ruiz, V. F.; y De Tejada, M. L. S. *Application of a UV-vis detection- HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables*. Food Chem, 95(2), 328-336. 2006.
11. Ordóñez-Santos, L. E.; y Vázquez-Riascos, A. *Effect of processing and storage time on the vitamin C and lycopene*

- contents of nectar of pink guava (Psidium guajava L.). Arch Latinoam Nutr*, 60(3), 280-284. 2010.
12. Puri, M.; Sharma, D.; y Barrow, C. J. *Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants*. Trends in biotechnol, 30(1): 37-44. 2012.
 13. Yi, C.; Shi, J.; Xue, S. J.; Jiang, Y. y Li, D. *Effects of supercritical fluid extraction parameters on lycopene yield and anti-oxidant activity*. Food Chem, 113(4): 1088-1094. 2009.
 14. Fu, Y. J.; Liu, W.; Zu, Y. G.; Tong, M. H.; Li, S. M.; Yan, M. M.; Efferth T. y Luo, H. *Enzyme assisted extraction of luteolin and apigenin from pigeonpea [Cajanuscajan (L.) Millsp.] leaves*. Food Chem, 111(2); 508-512. 2008.
 15. Santamaria, R. I.; Reyes-Duarte, M. D.; Barzana, E.; Fernando, D.; Gama, F. M.; Mota, M. y Lopez-Munguia, A. *Selective enzyme-mediated extraction of capsaicinoids and carotenoids from chili guajillo puya (Capsicum annum L.) using ethanol as solvent*. J Agric Food Chem, 48(7): 3063-3067. 2000.
 16. Zuñiga, M. E.; Soto, C.; Mora, A.; Chamy, R.; y Lema, J. M. *Enzymic pre-treatment of Guevina avellana mol oil extraction by pressing*. Process Biochem, 39(1): 51-57. 2003.
 17. Li, F.; Yang, L.; Zhao, T.; Zhao, J.; Zou, Y.; Zou, Y.; y Wu, X. *Optimization of enzymatic pretreatment for n-hexane extraction of oil from Silybum marianum seeds using response surface methodology*. Food Bioprod Process, 90(2): 87-94. 2012.
 18. Li, B. B.; Smith, B.; y Hossain, M. M. *Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method*. Sep Purif Technol, 48(2); 189-196. 2006.
 19. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación ICONTEC, 1999. NTC 4592 Determinación de pH. s.l.:s.n.
 20. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación ICONTEC, 1999. NTC 4623 Determinación de la Acidez Titulable. s.l.:s.n.
 21. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación ICONTEC, 1999. NTC 4624 Determinación del Contenido de Sólidos Solubles. Método Refractométrico. s.l.:s.n.
 22. González, I. A.; Osorio, C.; Meléndez-Martínez, A. J.; González-Mirret, M. L.; y Heredia, F. J. *Application of tristimulus colorimetry to evaluate colour changes during the ripening of Colombian guava (Psidium guajava L.) varieties with different carotenoid pattern*. Int Journal Food Sci Technol, 46(4): 840-848. 2011.
 23. Papaioannou, E. H. y Karabelas, A. J. *Lycopene recovery from tomato peel under mild conditions assisted by enzymatic pre-treatment and non-ionic surfactants*. Acta Biochim Pol, 59(1): 71-74. 2012.
 24. Strati, I. F.; Gogou, E. y Oreopoulou, V. (2015). *Enzyme and high pressure assisted extraction of carotenoids from tomato waste*. Food Bioprod Process, 94: 668-674. 2015.

Recibido: 25/07/2016.

Aprobado: 26/09/2017.

RECYT

Año 19 / Nº 28 / 2017 / 16–20

Conservación *in vitro* de té a corto/mediano plazo en Argentina

Título inglés

Sandra P. Molina^{1,*}, Luis A. Mroginski², Hebe Y. Rey²

1- Equipo de Yerba Mate y Té, EEA Cerro Azul (CR Misiones) – INTA. Ruta Nacional 14, km 1085. Cerro Azul, Misiones; 2- Facultad de Ciencias Agrarias – IBONE (UNNE-CONICET). Sargento Cabral 2131. Corrientes.

* E-mail: molina.sandra@inta.gob.ar

Resumen

El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar metodologías para la conservación *in vitro* a corto plazo de germoplasma de té. Se utilizó el clon CH 14 INTA perteneciente al programa de mejoramiento de la EEA Cerro Azul – INTA. Se evaluaron dos métodos de conservación a corto/mediano plazo (bajas temperaturas y medios mínimos). Las bajas temperaturas permitieron la conservación de segmentos nodales y yemas axilares hasta un período de 5 meses, con 73% y 67% de supervivencia, respectivamente. El uso de medios mínimos tuvo como resultado una respuesta similar, en términos de supervivencia, con valores de entre 60 y 90%, hasta los 120 días. Los resultados de este trabajo permiten concluir que es posible la conservación de germoplasma de té, a corto/mediano plazo.

Palabras clave: germoplasma, *Camellia sinensis*, bajas temperaturas, medios mínimos, explantes.

Abstract

This work was done to evaluate methodologies for germplasm *in vitro* preservation of tea. A Clone CH 14 INTA of breeding program of the EEA Cerro Azul – INTA was used. Two methods of short/medium term storage (low temperatures and suboptimal media) were evaluated. Low temperatures allowed the conservation of nodal segments and axillary buds -up to 5 months, with 73% and 67% survival, respectively. The use of suboptimal media had a similar response, with survival between 60 and 90% up to 120 days. In summary, it is possible to use short/medium term conservation with germplasm tea.

Keywords: germplasm, *Camellia sinensis*, low temperature, slow growth media, explants.

Introducción

La seguridad de las colecciones requiere su conservación por varias técnicas. Un gran número de especies producen semillas ortodoxas, las que pueden ser almacenadas en forma deshidratada en bancos de semillas a bajas temperaturas. Pero hay muchas especies que producen semillas recalcitrantes o intermedias las cuales son incapaces de sobrevivir a la deshidratación y son sensibles a las bajas temperaturas (1).

El método tradicional para la conservación de especies con semillas recalcitrantes y propagadas vegetativamente es a campo (2, 3, 4 y 5). Esto presenta varios problemas incluyendo la exposición a pérdida de material por factores bióticos (plagas, enfermedades) y abióticos (inclemencias climáticas), sumado a elevados costos de mantenimiento (6, 1, 7 y 3).

El cultivo *in vitro* resulta en una alternativa viable para la conservación genética de especies para las cuales el banco de semillas no es posible (8 y 7). El cultivo *in vitro* no sólo provee un método para la propagación clonal y el intercambio seguro de material vegetal sino que también

es usado para la conservación de germoplasma a mediano plazo (9, 10 y 11).

Sin embargo, el mantenimiento de grandes colecciones en sistemas de cultivo *in vitro* convencional requiere de subcultivos sucesivos a intervalos de tiempo regulares, exponiendo al material a riesgos de contaminación y variación somaclonal (12). Una manera de disminuir estos problemas es a través de la conservación a corto o mediano plazo, que logra espaciar los tiempos de los subcultivos.

El almacenamiento a baja temperatura de germoplasma producido *in vitro* es una alternativa para la preservación de una variedad de especies vegetales (13, 14, 15, 7 y 5).

En la mayoría de los casos, la baja temperatura en combinación con baja intensidad de luz o completa oscuridad, es usada para limitar el crecimiento (16, 17, 18 y 5). Las mayores ventajas de esta técnica son los requerimientos reducidos en labor y espacio, la eliminación de problemas relacionados a patógenos y la reducción de la erosión genética si las condiciones de almacenamiento son logradas (12).

También es posible limitar el crecimiento por alteración del medio de cultivo, principalmente por reducción del contenido de azúcar o concentración de los elementos

minerales, aplicación de ácido absísico y reducción del nivel de oxígeno (12, 9, 10, 19, 2 y 7).

La técnica de conservación bajo condiciones de crecimiento mínimo ha sido desarrollada para varias especies: *Manihot esculenta* Cratz (20), *Castanea sativa* x *C. chestnut* y *Quercus* spp. (21), *Dioscorea* spp. (19), *Asparagus officinalis* (15) y *Fragaria vesca* L. (18). Hasta el momento, no existen antecedentes de conservación *in vitro* a corto/mediano plazo en té (*Camellia sinensis*). En el presente trabajo, las dos metodologías analizadas tienen como objetivo evaluar la aptitud del té para esta alternativa de conservación.

Material y Métodos

Se utilizaron como explantes segmentos nodales (con una longitud entre 0,5 y 1,0 cm), yemas axilares y meristemas caulinares (0,5 mm de longitud). Ellos fueron obtenidos de plantas madre del clon CH 14 INTA (Programa de Mejoramiento – EEA Cerro Azul – INTA) mantenidas en invernáculo, bajo un estricto control sanitario y nutricional.

La desinfección de los brotes se realizó por inmersión en etanol 70% durante 1 min seguida de una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) 1,5% durante 20 minutos y 3 enjuagues sucesivos con abundante agua destilada estéril.

Los explantes desinfectados fueron cultivados en tubos de vidrio (25 mm x 120 mm; 40 ml de capacidad) conteniendo 10 ml de medio de cultivo solidificado con 0,7% de agar Sigma (A-1296).

Para la conservación a baja temperatura, el medio consistió en las sales y vitaminas de Murashige y Skoog (1962) (22), reducido a la mitad ($\frac{1}{2}$ MS) con 3% de sacarosa y 0,7% de agar Sigma (A-1296). La suplementación se realizó con 1,0 mgL⁻¹ de 6-bencilaminopurina (BAP).

Para la conservación en medios mínimos, los segmentos nodales fueron cultivados en 4 medios de cultivo consistentes de $\frac{1}{2}$ MS o $\frac{1}{4}$ MS, con 3% de sacarosa y 0,7% de agar Sigma (A-1296). Estos medios estuvieron desprovistos de reguladores de crecimiento o fueron suplementados con 0,01 mgL⁻¹ de BAP.

En todos los casos, el pH del medio fue ajustado a 5.8 con hidróxido de potasio (KOH) o ácido clorhídrico (HCl), antes del agregado del agar y luego esterilizado en autoclave a 121° C por 15 minutos.

El cultivo a baja temperatura se realizó en heladera (4° C), en oscuridad, durante distintos períodos de tiempo (0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 días). Luego de cada tratamiento, los tubos fueron transferidos a un cuarto climatizado a 25 $\pm$ 2° C bajo un fotoperíodo de 16/8 h de luz/oscuridad con una irradiación de 116 μ mol.m⁻².s⁻¹ provista por lámparas fluorescentes frías. Finalmente, luego de 30 días en estas condiciones se registraron las siguientes variables: porcentaje de supervivencia, porcentaje de formación de vástagos y longitud de vástagos.

El cultivo en medios mínimos fue realizado en un

cuarto climatizado a 25 $\pm$ 2° C, en oscuridad durante 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 días. Al cabo de cada período se registró el porcentaje de supervivencia, porcentaje de formación de vástagos y longitud de vástagos.

Los experimentos fueron conducidos con un diseño de bloques completos al azar. Cada tratamiento fue repetido 3 veces, con 10 réplicas por repetición y 1 explante/tubo. Las figuras muestran los resultados promedios con el error estándar ($\pm$ SE). Los datos se analizaron mediante el análisis de la variancia (ANOVA) y las comparaciones de las medias fueron hechas usando el test de Tukey.

Resultados y Discusión

Conservación a baja temperatura

Existen referencias de la utilización de bajas temperaturas para la conservación *in vitro* en numerosas especies: *Solanum* spp. (13), cereza silvestre, castaño y roble (21), *Asparagus officinalis* (15), *Pyrus* sp. (23).

En el presente trabajo, con la conservación a baja temperatura (4° C) se obtuvieron los mejores resultados, en términos de sobrevivencia y formación de vástagos, cuando se utilizaron segmentos nodales y yemas axilares como explante. En cambio, con el uso de meristemas los valores de estos parámetros fueron significativamente más bajos. Los segmentos nodales de té lograron una elevada supervivencia (entre 97 y 73%) hasta los 5 meses de conservación a bajas temperaturas, momento a partir del cual disminuye drásticamente, llegando a valores aproximados al 10%. Un comportamiento similar se observó con el uso de yemas axilares como explante (Tabla 1).

Tabla 1: Supervivencia promedio (%) de segmentos nodales, meristemas y yemas axilares de té conservados a baja temperatura (4° C), durante diferentes períodos de tiempo. (Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas para $p < 0,05$).

Tratamiento	Segmentos nodales	Meristemas	Yemas axilares
Testigo (sin conservación a 4° C)	100,0 ^a	50,0 ^a	100,0 ^a
30 días a 4° C	93,3 ^a	6,7 ^b	93,3 ^a
60 días a 4° C	96,7 ^a	6,7 ^b	93,3 ^a
90 días a 4° C	90,0 ^a	0,0 ^b	73,3 ^a
120 días a 4° C	86,7 ^a	0,0 ^b	66,7 ^a
150 días a 4° C	73,3 ^a	0,0 ^b	66,7 ^a
180 días a 4° C	10,0 ^b	0,0 ^b	0,0 ^b

Si bien no existen diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de sobrevivencia hasta los 150 días, se observa una disminución progresiva a medida que el período de almacenamiento aumenta. Resultados similares fueron encontrados por Ahmed *et al.* (2010) (23) en la conservación de germoplasma de *Pyrus*.

En el presente trabajo, un mayor tiempo de exposición provocó el amarronamiento y posterior muerte de los explantes. Según Janeiro *et al.* (1995) (21), la necrosis de los explantes es común cuando se realiza el almacenamiento

a baja temperatura, pero aparentemente los explantes necróticos podrían sobrevivir un ciclo de sub-cultivo en cámara de crecimiento bajo condiciones normales, donde algunos cultivos marrones pueden proliferar, especialmente desde yemas laterales que permanecen inmersas en el agar.

Janeiro *et al.* (1995) (21), trabajando con castaño, encontraron que el porcentaje de supervivencia disminuyó dramáticamente a 42 y 29% después de 6 y 12 meses de conservación a baja temperatura ($2 \pm 1^\circ \text{C}$).

Respecto a la variable formación de vástagos, se observó en general el mismo comportamiento con los tres explantes utilizados. Los valores más altos correspondieron al testigo y a períodos de conservación más cortos. A medida que aumentó el tiempo de conservación a baja temperatura, disminuyó la formación de vástagos (Tabla 2). Los segmentos nodales presentaron los mayores porcentajes de formación de vástagos, seguidos por las yemas axilares, siendo los meristemas los explantes con menor capacidad de regenerar, luego de la conservación a baja temperatura.

Tabla 2: Formación de vástagos promedio (%) de segmentos nodales, meristemas y yemas axilares de té conservados a baja temperatura (4°C), durante diferentes períodos de tiempo. (Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas para $p < 0,05$).

Tratamiento	Segmentos nodales	Meristemas	Yemas axilares
Testigo (sin conservación a 4°C)	100,0 ^a	36,7 ^a	50,0 ^a
30 días a 4°C	73,3 ^{ab}	6,7 ^b	46,7 ^{ab}
60 días a 4°C	76,7 ^{ab}	6,7 ^b	40,0 ^{abc}
90 días a 4°C	76,7 ^{ab}	0,0 ^b	26,7 ^{abcd}
120 días a 4°C	70,0 ^b	0,0 ^b	13,3 ^{bcd}
150 días a 4°C	56,7 ^b	0,0 ^b	6,7 ^{cd}
180 días a 4°C	6,7 ^c	0,0 ^b	0,0 ^d

Para la variable longitud de vástagos, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los distintos tratamientos. Sólo se observó una mayor longitud de vástagos cuando se utilizaron segmentos nodales como explante (Tabla 3). En general, los vástagos no presentaron necrosis ni amarronamiento (Fig. 1).

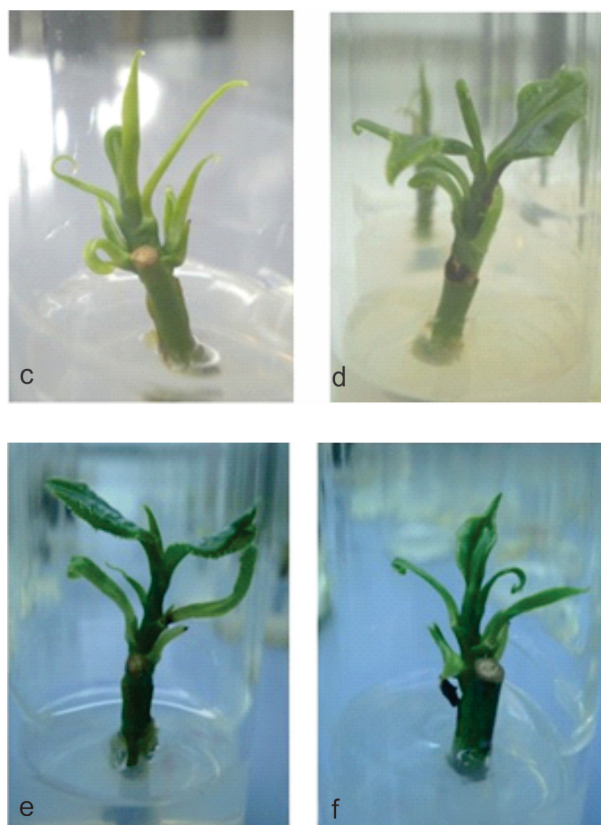
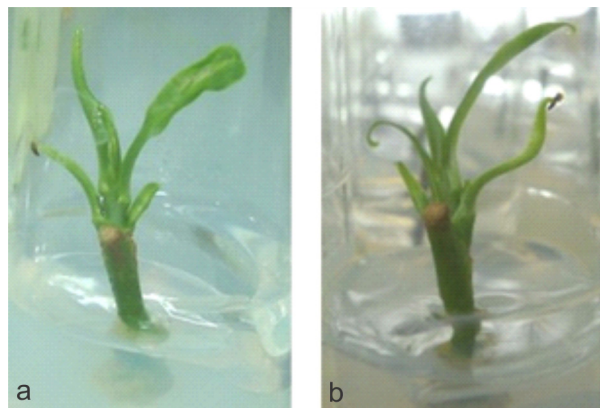


Figura 1: Vástagos formados en segmentos nodales de té, conservados a baja temperatura (4°C), durante diferentes períodos de tiempo: a) 30 días, b) 60 días, c) 90 días, d) 120 días, e) 150 días y f) 180 días. (Las barras verticales indican 1,0 cm).

Tabla 3: Longitud promedio de vástagos formados a partir de segmentos nodales, meristemas y yemas axilares de té, conservados a baja temperatura (4°C), durante diferentes períodos de tiempo. (Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas para $p < 0,05$).

Tratamiento	Segmentos nodales	Meristemas	Yemas axilares
Testigo (sin conservación a 4°C)	1,17 ^a	0,50 ^a	0,70 ^a
30 días a 4°C	1,03 ^a	0,17 ^{ab}	0,53 ^{ab}
60 días a 4°C	1,03 ^a	0,17 ^{ab}	0,60 ^{ab}
90 días a 4°C	1,17 ^a	0,0 ^b	0,53 ^{ab}
120 días a 4°C	1,23 ^a	0,0 ^b	0,43 ^{ab}
150 días a 4°C	0,77 ^a	0,0 ^b	0,17 ^{ab}
180 días a 4°C	0,73 ^a	0,0 ^b	0,0 ^b

Conservación en medios mínimos

El uso de bajas concentraciones de elementos minerales o de sacarosa en el medio de cultivo, es usado con éxito en el mantenimiento de colecciones *in vitro* de algunas especies, por ejemplo *Dioscorea* spp. (19) y *Lilium* sp. (24).

En el presente trabajo, el uso de medios mínimos para la conservación de segmentos nodales no tuvo la misma respuesta, en términos de supervivencia, que la baja temperatura. La modificación en la concentración de las sales del medio de cultivo y/o el regulador de crecimiento permitió una supervivencia relativamente alta (60-90%) hasta los 120 días. En general, hasta los 120 días no se registraron diferencias significativas entre los distintos medios de cultivo. Estas diferencias se registraron recién cuando el período de

conservación se extendió a 150-180 días (Fig. 2).

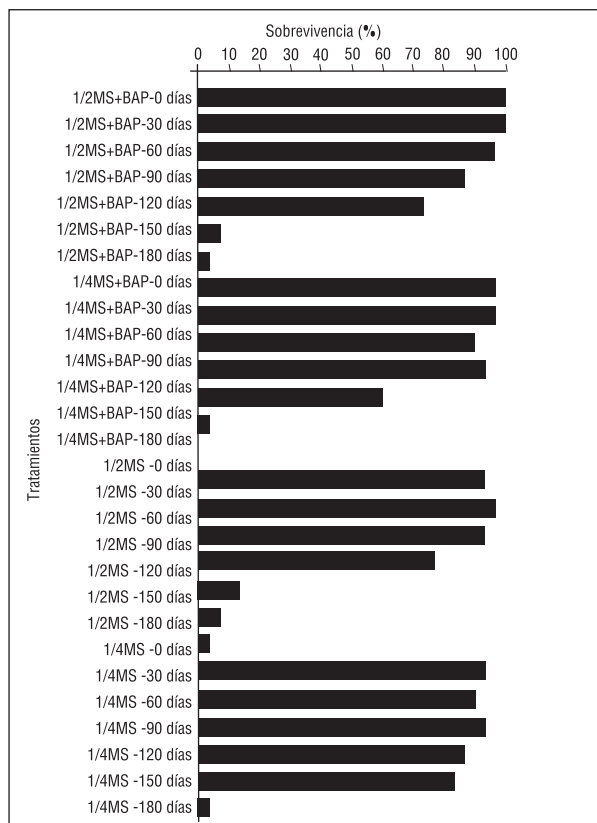


Figura 2: Supervivencia promedio (%) de segmentos nodales de té, conservados en medios mínimos, durante diferentes períodos de tiempo en oscuridad. (La barra vertical representa $\pm$ el error estándar).

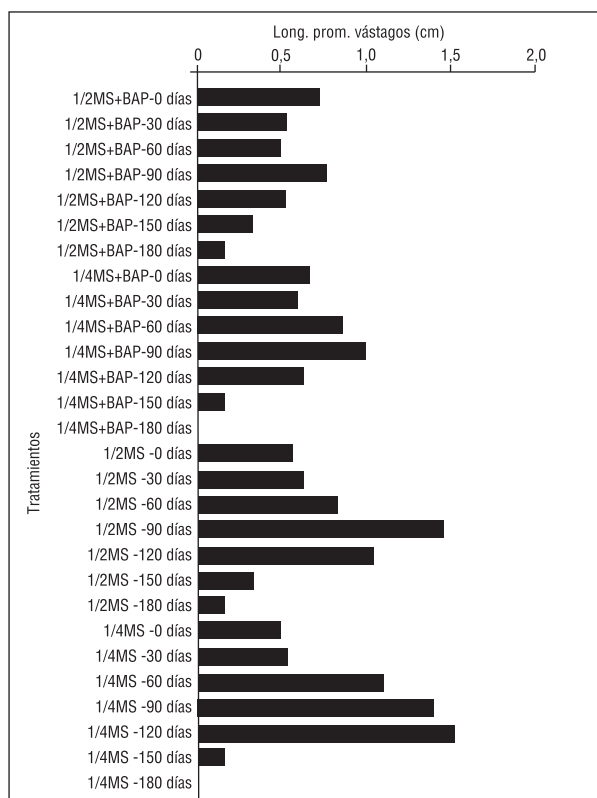


Figura 3: Longitud promedio de vástagos generados a partir de segmentos nodales de té, conservados en medios mínimos, durante diferentes períodos de tiempo en oscuridad. (La barra vertical representa $\pm$ el error estándar).

La oscuridad produjo la aparición de clorosis que se hizo más evidente a medida que aumentó la duración del periodo de conservación. Esta sintomatología fue observada principalmente en el medio constituido por $\frac{1}{2}$ MS sin BAP. Problemas de clorosis fueron también observados por Janeiro *et al.* (1995) (21) en la conservación de cereza silvestre a baja temperatura y por Corredoira *et al.* (2011) (25) en *Camellia* sp. y otras especies.

El mayor tiempo de exposición a la oscuridad provocó además el crecimiento de los vástagos (mayor longitud de entrenudos) generados a partir de los explantes. La mayor longitud de vástagos se registró en los medios de cultivo que carecían de BAP (Fig. 3).

Conclusiones

Los resultados de este trabajo permiten concluir que es posible la conservación de germoplasma de té, a corto/mediano plazo.

La conservación de cultivares de té a corto plazo, mediante la reducción de temperatura, es posible hasta 150 días con porcentajes de supervivencia relativamente altos. Los segmentos nodales y yemas axilares fueron los explantes con mejores respuestas.

En el caso de la utilización de medios mínimos, se podría conservar germoplasma de té hasta 120 días, sin que la capacidad de regeneración se vea afectada.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), a través del Proyecto Específico “Manejo Integrado y Gestión Ambiental de Cultivos Industriales”, perteneciente al Programa Nacional de Cultivos Industriales.

Referencias

- Engelmann, F.; Engels, J. 1999. *Efforts to sustain ex situ collections: technological aspects*. Implementation of GPA in Europe – Braunschweig Proceedings. Part I. Ex situ conservation. 88-95.
- Engelmann, F. y Engels, J.M.M. 2002. *Technologies and strategies for ex situ conservation*. In: Managing Plant Genetic Diversity. Engels, J.M.M.; Ramanatha Rao, V.; Brown, A.H.D. y Jackson, M.T. (eds.). IPGRI. p.89-103.
- Shibli, R.A.; Shatnawi, M.A.; Subaih, W.S.; Ajlouni, M.M. 2006. *In vitro conservation and cryopreservation of plant genetic resources: a review*. World Journal of Agricultural Sciences 2(4): 372-382.
- Engelmann, F. 2011. *Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity*. In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant 47:5-16.
- Kaviani, B. 2011. *Conservation of plant genetic resources*

- by cryopreservation. Australian Journal of Crop Science 5(6): 778-800.
6. Kuranuki, Y.; Sakai, A. 1995. Cryopreservation of in vitro-grown shoot tips of tea (*Camellia sinensis*) by vitrification. CryoLetters 16: 345-352.
 7. González-Benito, M.E.; Clavero-Ramírez, I.; López-Aranda, J.M. 2004. Review. The use of cryopreservation for germplasm conservation of vegetatively propagated crops. Spanish Journal of Agricultural Research 2(3): 341-351.
 8. Lambardi, M.; De Carlo, A. 2003. Application of tissue culture to the germplasm conservation of temperate broad-leaf trees. In: Micropropagation of Woody Trees and Fruits. (Jain, S.M.; Ishii, K. eds.). Kluwer Academic Publishers. pp.815-840.
 9. Ashmore, S.E. 1997. Status report on the development and application of in vitro techniques for the conservation and use of plant genetic resources. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), 67p.
 10. Withers, L.A. y Engelmann, F. 1998. In vitro conservation of plant genetic resources. In: Biotechnology in Agriculture. Altman, A. (ed.). Marcel Dekker Inc. Vol. 4. p.57-88.
 11. Rao, N.K. 2004. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. African Journal of Biotechnology 3(2):136-145.
 12. Engelmann, F. 1991. In vitro conservation of tropical plant germplasm – a review. Euphytica 57:227-243.
 13. Westcott, R.J. 1981. Tissue culture storage of potato germplasm. 1. Minimal growth storage. Potato Res. 24: 331-342.
 14. Ballester, A.; Janeiro, L.V.; Vieitez, A.M. 1997. Cold storage of shoot cultures and alginate encapsulation of shoot tips of *Camellia japonica* L. and *Camellia reticulata* Lindley. Scientia Horticulturae 71: 67-78.
 15. Bekheet, S.A. 2000. In vitro preservation of *Asparagus officinalis*. Biologia Plantarum 43(2): 179-183.
 16. Reed, B.M. 1991. Application of gas-permeable bags for in vitro cold storage of strawberry germplasm. Plant Cell Reports 10: 431-434.
 17. Reed, B.M. 1992. Cold storage of strawberries in vitro: a comparison of three storage systems. Fruit Varieties Journal 46(2): 98-102.
 18. Hassan, N.A.; Bekheet, S.A. 2008. Mid-term storage and genetic stability of strawberry tissue cultures. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 4(5): 505-511.
 19. Malaurie, B.; Trouslot, M.F.; Berthaud, J.; Bousalem, M.; Pinel, A.; Dubern, J. 1998. Medium-term and long-term in vitro conservation and safe international exchange of yam (*Dioscorea spp.*) germplasm. Electronic Journal of Biotechnology 1(3): 103-117.
 20. Roca, W.; Arias, D.I. y Chávez, R. 1991. Métodos de conservación in vitro del germoplasma. En: Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Roca, W. y Mroginski, L.A. (eds.). CIAT Cap. 31, Cali. p.697-713.
 21. Janeiro, L.V.; Vieitez, A.M.; Ballester, A. 1995. Cold storage of in vitro cultures of wild cherry, chestnut and oak. Ann. Sci. For. 52: 287-293.
 22. Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15(3): 473-497.
 23. Ahmed, M., Anjum, M.A.; Shah, A.H.; Hamid, A. 2010. In vitro preservation of *Pyrus* germplasm with minimal growth using different temperature regimes. Pak. J. Bot. 42(3): 1639-1650.
 24. Bonnier, F.J.M.; Van Tuyl, J.M. 1997. Long term in vitro storage of lily: effects of temperature and concentration of nutrients and sucrose. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 49: 81-87.
 25. Corredoira, E.; San José, M.C.; Martínez, T.; Valladares, S.; Couselo, J.L.; Janeiro, L.; Vieitez, A.M.; Ballester, A. 2011. Conservación de germoplasma en especies leñosas con técnicas de cultivo in vitro y almacenamiento en frío. Spanish Journal of Rural Development 2:15-24.

Recibido: 04/08/2016.

Aprobado: 10/08/2017.

RECYT

Año 19 / N° 28 / 2017 / 21–28

Deshidratación osmótica de ananá con reutilización del jarabe de sacarosa

Pineapple osmodehydration with reuse of the sucrose syrup

Paula Fernández¹, Nancy Lovera^{1,2}, Agostina Romero², Ariel Borsini^{1,2}, Laura Ramallo^{1,2}

1- IMaM (CONICET-UNaM), 2- FCEQyN, UNaM, Felix de Azara 1552, Posadas, Misiones, Argentina.

* E-mail: iram@fceqyn.unam.edu.ar

Resumen

Se analizaron cambios en la eficiencia del proceso, en las características del producto y de la solución hipertónica durante la aplicación de ciclos sucesivos de deshidratación osmótica de ananá, con reutilización de la solución de sacarosa sin reacondicionamiento. En la fruta se evaluó, en cada ciclo, la pérdida de agua, ganancia de soluto, contenido de ácido cítrico y pH; y en el jarabe osmótico los cambios en la transmitancia óptica, contenido de sólidos solubles, contenido de ácido cítrico y pH. El jarabe de sacarosa fue re-utilizado por cinco ciclos sucesivos de deshidratación osmótica a 40° C con agitación constante. Los ensayos se realizaron con concentración inicial del jarabe osmótico de 40 y 60° Brix; dicha concentración al final del quinto ciclo fue de 33 y 45° Brix, respectivamente. En ambos casos, la eficiencia del proceso de deshidratación del quinto ciclo se redujo en un 30% respecto del primero.

Palabras clave: Deshidratación; Ananá; Reutilización del jarabe osmótico.

Abstract

In this study, changes in the efficiency process, in the characteristics of the product and the hypertonic solution were analyzed during the application of successive cycles of osmotic dehydration of pineapple reusing the solution of sucrose without reconditioning. In each cycle it was evaluated water loss, solute gain, citric acid content and pH in the fruit; and changes in optical transmittance, soluble solids content, citric acid content and pH in the osmotic syrup. The sucrose syrup was reused for five successive cycles of osmotic dehydration at 40° C with constant stirring. Trials were performed with initial concentration of osmotic syrup of 40 and 60° Brix; this concentration at the end of the fifth cycle was 33 and 45° Brix, respectively. In both cases, the efficiency of the dehydration process of the fifth cycle was reduced by 30% in comparison to the first cycle.

Key words: Dehydration, Pineapple, Reuse of osmotic syrup.

Introducción

La deshidratación osmótica es una técnica que ha sido ampliamente aplicada para reducir el contenido de agua de vegetales con poca alteración de sus características originales. En este proceso la humedad del alimento se reduce sin incluir cambios de fase, directamente en forma de agua líquida, lo que permite un considerable ahorro energético respecto de otras tecnologías como el secado tradicional con circulación de aire [1]. No obstante la industria alimentaria no ha implementado esta tecnología en la magnitud de las expectativas [2]. Una de las restricciones de su aplicación industrial es el gran volumen y las dificultades del manejo del efluente resultante a partir del jarabe osmótico [3].

Durante el proceso de deshidratación osmótica se producen dos fenómenos de transferencia de masa en

contracorriente. En primer lugar, la salida de agua desde el sólido a la solución osmótica, en segundo lugar, una transferencia de soluto desde la solución osmótica hacia el alimento [4, 5]. El flujo de agua puede producir el arrastre de sustancias hidrosolubles propias del tejido alimenticio (azúcares, ácidos orgánicos, minerales, vitaminas) hacia la solución osmótica [6, 7, 8, 9]. Este flujo de sustancias desde el sólido es cuantitativamente no significativo en comparación con las dos corrientes antes mencionadas (agua y soluto), pero esencial con respecto a la composición del producto y a los cambios del jarabe osmótico.

La posibilidad de reciclar la solución osmótica (SO) es muy importante para que el proceso sea económicamente viable y ambientalmente amigable [10]. La reutilización de la SO en más de un ciclo de deshidratación está condicionada por los cambios que se produzcan en la composición de la solución; asimismo estos cambios

están estrechamente vinculados a la naturaleza de la fruta tratada y a las condiciones del proceso. Así, la dilución progresiva en cada ciclo podría afectar negativamente la velocidad de transferencia de masa durante el proceso [11, 9], como así también la relación pérdida de agua/ganancia de soluto. Para su reciclaje debería considerarse no sólo la variación en el contenido de agua, sino también otros cambios fisicoquímicos como la turbidez, el pH, etc. que podrían afectar la calidad del producto final.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar cambios en la eficiencia del proceso, en calidad del producto y de la solución hipertónica cuando el jarabe de sacarosa es re-utilizado sin reacondicionamiento en cinco ciclos sucesivos de deshidratación osmótica de ananá, aplicando dos condiciones de operación iniciales (40 y 60° Brix) y manteniendo constante la relación masa de jarabe/masa de fruta en cada ciclo de deshidratación.

Materiales y Métodos

Preparación de las muestras. Frutas maduras (de aproximadamente 12° Brix) de *Ananas comosus* cv. Cayena lisa fueron manualmente lavadas con agua clorada, peladas y seccionadas en láminas constituidas por medias rodajas de $0,60 \pm 0,05$ cm de espesor y $11,5 \pm 0,5$ cm de diámetro; con un sacabocados se retiró el centro de la fruta.

Deshidratación osmótica. Se efectuaron 5 ciclos sucesivos de deshidratación osmótica de ananá, reutilizando la solución hipertónica de sacarosa sin alteración alguna en su composición, y renovando la fruta en cada ciclo. Estos estudios se efectuaron partiendo de solución hipertónica de sacarosa de 40 y 60° Brix.

Cada ciclo de deshidratación osmótica se llevó a cabo colocando las muestras de fruta fresca en vasos de precipitado conteniendo solución acuosa de sacarosa comercial a 40° C. El sistema se mantuvo a temperatura y agitación constante en baño termostático con movimiento alternativo de 70 o.p.m. (modelo Dubnoff, VICKING SRL, Argentina), durante 2 horas. La relación masa jarabe/masa de fruta fue de 6/1 en cada uno de los ciclos.

Al inicio y final de cada ciclo se evaluó el contenido de sólidos solubles, pH y contenido de ácido cítrico en la solución osmótica y en la fruta. La transmitancia óptica de la solución hipertónica se cuantificó al inicio de proceso y al finalizar el quinto ciclo. Todas las determinaciones se efectuaron por triplicado.

Se cuantificó la variación de masa y contenido de agua en la fruta de ananá en cada ciclo de deshidratación osmótica. A partir de estos datos y suponiendo que se producen únicamente dos flujos simultáneos y en contracorriente, se calculó la reducción de peso (ΔM), la pérdida de agua (ΔW) y la ganancia de azúcar (ΔS) en cada muestra de fruta, de acuerdo a las Ecuaciones 1, 2 y 3, respectivamente.

$$\Delta M = \frac{M_0 - M_t}{M_0} \quad (1)$$

$$\Delta W = \frac{M_0 X_0 - M_t X_t}{M_0} \quad (2)$$

$$\Delta S = \Delta W - \Delta M \quad (3)$$

Donde: M_0 es la masa inicial de la muestra (kg); M_t es la masa de la muestra deshidratada (kg); X_0 es el contenido de agua inicial de la fruta (kg de agua/kg de fruta); X_t es el contenido de agua en la fruta procesada durante un período tiempo t (kg de agua/kg de fruta).

Contenido de agua. El contenido de agua de la fruta fresca y procesada se determinó gravimétricamente, mediante secado en estufa a 75 ± 1 °C hasta pesada constante (≈ 48 horas).

Sólidos solubles. Al inicio y final de cada ciclo se evaluó el contenido de sólidos solubles (° Brix) de la fruta y de la solución hipertónica de sacarosa mediante lectura en refractómetro digital (modelo HI96801, Hanna Instrument, Rumania), adaptación de la técnica 932.12 de la AOAC [12]. En la fruta, se efectuó la lectura del jugo obtenido por simple compresión mecánica de la muestra.

Acidez titulable y pH. El contenido de ácido cítrico, evaluado como acidez titulable, se determinó aplicando una adaptación del método AOAC 942.15 [13], por titulación con solución de hidróxido de sodio 0,1 N y expresada como g de ácido cítrico por 100 g de fruta y en g de ácido cítrico por 100 ml del jarabe osmótico. A tal fin, se homogeneizó con mixer (modelo HR1363, Philips, Argentina) 10 g de fruta con 90 ml de agua destilada durante 1 min y se enrasó a 100 ml con agua destilada. Esta solución se utilizó para cuantificar el pH de la fruta mediante lectura directa del potenciómetro (TPA-III, Altronix, Argentina), previamente calibrado con buffer pH 4 y pH 7 y posteriormente evaluar la acidez de la fruta mediante titulación con NaOH 0,1N. Para cuantificar el pH y la acidez titulable en el jarabe osmótico se tomaron 10 ml del mismo, se agregaron 90 ml de agua destilada y se procedió del modo descrito para la fruta.

Transmitancia óptica. Los cambios de color de la solución osmótica fueron evaluados a través de lecturas de transmitancia a 600 nm en un espectofotómetro UV-VIS (UV-2550, Shimadzu, Japón).

Resultados y Discusión

Pérdida de agua y ganancia de sacarosa en la fruta

Durante el proceso de deshidratación osmótica la migración de agua desde la fruta puede producir dilución del jarabe osmótico, alterando así la cinética de deshidratación del sólido. En los procesos con reutilización del jarabe ese efecto podría acrecentarse con el número de ciclos. Asimismo algunos sólidos solubles naturalmente presentes en la fruta pueden ser arrastrados con la corriente de agua;

la presencia de estos componentes en el jarabe osmótico podría incrementarse con la reutilización del mismo. La dilución y la incorporación de otros compuestos químicos en la solución osmótica podrían alterar el flujo de agua desde la fruta (ΔW) como así también la migración de soluto (ΔS). En la Figura 1 se muestran los valores medios y desvío estándar, en forma de barras de error, de pérdida de masa, pérdida de agua e incorporación de sacarosa en láminas de ananá durante 5 ciclos de deshidratación osmótica a 40 y 60° Brix y 40° C, con reutilización del jarabe osmoactivo. Si bien los valores de ΔW descienden y de ΔS se incrementan con el aumento del número de ciclos, el análisis estadístico (ANOVA) señala que no existen diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los valores de estos parámetros en diferentes ciclos para cada condición de operación (40 y 60° Brix) hasta el tercer ciclo de deshidratación osmótica de ananá. Se registró un marcado descenso en los valores de pérdida de agua en el quinto ciclo de DO respecto del primero, siendo de 36% y de 23% en los procesos con condiciones iniciales de 40 y 60° Brix. Peiró-Mena y col. [9] evaluaron el efecto de la aplicación de ciclos sucesivos de DO de ananá en jarabe de sacarosa de 55° Brix con relación masa de jarabe/masa de fruta de 20/1 y concluyeron que en 15 ciclos sucesivos de DO sin reacondicionamiento del jarabe osmótico el nivel de deshidratación de la fruta no se altera significativamente. Por comparación con nuestros resultados se puede inferir que la relación masa de jarabe/masa de fruta es un factor determinante para establecer el número de veces que puede re-utilizarse la solución osmótica salvaguardando la uniformidad de los resultados. Por otra parte, la ganancia de soluto se incrementó un 29 y 27% a 40 y 60° Brix respectivamente, en el quinto ciclo de DO respecto del primero; lo cual indicaría un incremento en la ganancia de sacarosa en ananá con la reducción de la concentración del jarabe osmótico. Esto puede atribuirse a la formación de una capa saturada en el soluto osmótico que se produce en la superficie del producto a concentraciones de solución más altas, lo que disminuye la fuerza impulsora entre la solución y el producto, reduciendo la velocidad de transferencia de masa. Nuestros resultados son concordantes con los publicados por Jena y Das [14], quienes señalaron que el incremento de la concentración del jarabe osmótico origina reducción en los valores del coeficiente de difusión del agua durante la DO de ananá sin reutilización del jarabe.

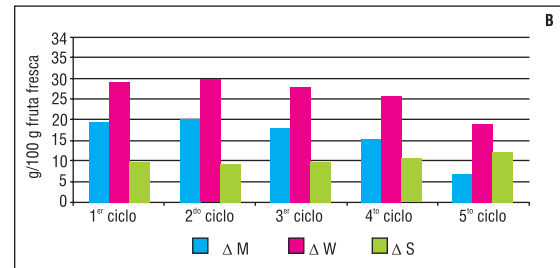
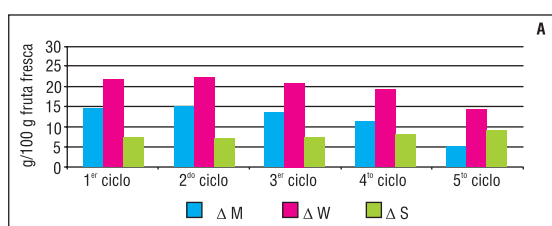


Figura 1: Pérdida de masa (ΔM), pérdida de agua (ΔW) e incorporación de sacarosa (ΔS) en láminas de ananá durante 5 ciclos de deshidratación osmótica a (a) 40° Brix y (b) 60° Brix, con reutilización del jarabe osmoactivo.

Los procesos de deshidratación osmótica se diseñan normalmente con el objetivo de maximizar la remoción de agua mientras se restringe la absorción de sólidos, para obtener un producto con características organolépticas similares a la del alimento fresco. La relación entre la pérdida de agua y la ganancia de soluto es un buen índice de la eficiencia del proceso [7]. En la Tabla 1 se muestran los valores medios de la eficiencia de los diferentes ciclos en las dos condiciones aplicadas (40 y 60° Brix), considerando la eficiencia como la relación $\Delta W/\Delta S$. La eficiencia de los procesos de 2 h de deshidratación osmótica de ananá, con reutilización del jarabe de sacarosa sin reacondicionamiento, decrece con el número de ciclos, este efecto es más marcado partiendo de una concentración de sacarosa de 40° Brix que de 60° Brix, cuando la relación masa de jarabe/masa de fruta en cada ciclo fue de 6/1. Esta reducción de la eficiencia del proceso vincula los efectos simultáneos de descenso de pérdida de agua y de incremento en la ganancia de soluto con la dilución del jarabe osmótico.

Tabla 1: Valores medios de la relación $\Delta W/\Delta S$ en cada ciclo de 2 h de deshidratación osmótica de láminas de ananá, para cada condición de operación

	Eficiencia, $\Delta W/\Delta S$	
	40° Brix	60° Brix
1er ciclo	3,01±0,23 a	3,23±0,29 a
2do ciclo	3,13±0,35 a	2,84±0,21 a
3er ciclo	2,81±0,28 a	2,89±0,25 a
4to ciclo	2,45±0,18 b	2,38±0,27 b
5to ciclo	1,56±0,03 c	1,97±0,23 b

*Letras diferentes en cada columna señalan diferencias significativas entre los valores a un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$)

En el proceso de deshidratación osmótica la transferencia de masa es una compleja combinación de flujos de agua y solutos en contracorriente, usualmente descritos como ecuaciones diferenciales independientes pero que deben ser resueltas de forma simultánea, su determinación exige extenso trabajo experimental y teórico para cada condición de operación ensayada. Por ello es importante el desarrollo de ecuaciones matemáticas sencillas que involucren las variables más relevantes del proceso y que estas relaciones sean independientes de las condiciones de operación [15].

De este modo se podría controlar el proceso mediante ensayos físicos sencillos, como el cambio de peso o el contenido de sólidos solubles, para obtener alimentos con características definidas. En base a lo antes descrito y con el objetivo de evaluar la factibilidad de encontrar correlaciones generales y simples para la variación de ΔW y ΔS , en el presente estudio los datos experimentales de pérdida de agua y ganancia de sacarosa se analizaron y se muestran de manera conjunta en la Figura 2. Como puede verse en dicha figura, para cada condición de operación todos los datos se alinean en forma consecutiva de acuerdo al número de ciclo correspondiente, con clara superposición de los resultados en gran parte del conjunto. Del análisis de regresión de los datos, realizado de modo independiente para cada condición de trabajo, resultan dos ecuaciones lineales (Ecuaciones 4 y 5, datos a 40 y 60° Brix respectivamente) con $R^2 = 0,999$, lo cual señala la estrecha correlación existente entre las variables ΔW y ΔS .

$$\Delta S = 12,73 - 0,25 \Delta W \quad (4)$$

$$\Delta S = 22,39 - 0,36 \Delta W \quad (5)$$

Floury y col. [16] determinaron una relación lineal entre ΔW y ΔS durante DO de mango. Tocci y Mascheroni [17] encontraron relaciones similares entre el contenido de sólidos solubles (SS) y el contenido de agua (WC) durante DO de kiwi en soluciones de sacarosa. Ramallo y Mascheroni [7] hallaron una ecuación lineal que vincula el contenido de sacarosa y de agua en la fruta de ananá durante el proceso de deshidratación en solución de sacarosa. Posteriormente, Rodríguez y Mascheroni [15] verificaron una correlación lineal entre SS y WC de frutas frescas y osmodeshidratadas de kiwis, pera, manzana, nectarina, ciruela, melón y frutilla. La correlación para cada fruta fue independiente del tipo de soluto, temperatura, agitación y concentración de la solución osmótica, tamaño y forma de las muestras y variedad de fruta. Sin embargo, nuestros datos experimentales de SS y WC (gráficas no mostradas) no presentan buena correlación ($R^2 \leq 0,44$).

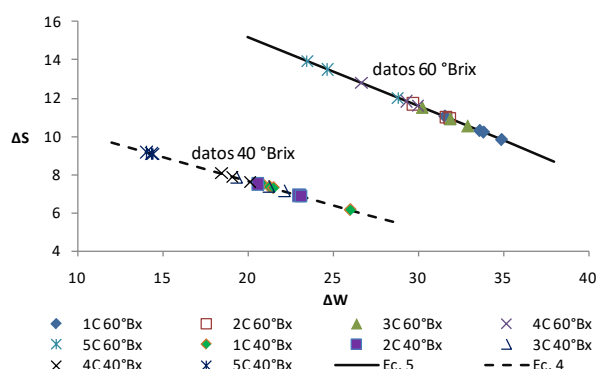


Figura 2: Valores medios de ganancia de sacarosa (ΔS) versus pérdida de agua (ΔW) en los 5 ciclos de DO, a 40 y 60° Brix. Las líneas, continua y de puntos, representan los resultados obtenidos mediante las Ec. 4 y 5.

Acidez titulable, pH y contenido de sólidos solubles en la fruta

Los datos presentados en la Tabla 2 señalan que si bien el pH de la fruta de ananá es levemente menor después del proceso de 2 h de deshidratación osmótica en los tres primeros ciclos, dichas variaciones del pH de la fruta por efecto del proceso no son significativas ($p \geq 0,05$). Asimismo, se registró un incremento en los valores del pH de la fruta ($p \leq 0,05$) en los siguientes ciclos. Este comportamiento se repitió en las dos condiciones de trabajo aplicadas (40 y 60° Brix).

En lo que respecta al contenido de sólidos solubles en la fruta, se registró un incremento significativo de estos valores ($p \leq 0,05$) durante los procesos de DO y esta variación no tuvo dependencia con el número veces que fuera reutilizado el jarabe osmótico o número de ciclo en el ensayo a 40° Brix; a 60° Brix el valor cuantificado de SS fue significativamente mayor en los dos últimos ciclos respecto de los tres primeros.

En todos los casos, la DO implica una considerable pérdida de ácido cítrico (AC) de las muestras ($p < 0,05$). Para cuantificar la pérdida de ácido cítrico (AC) en ananá por efecto de la DO, en las muestras de fruta deshidratada los resultados también se expresan en mg de AC en 100 g de fruta fresca. En la Tabla 3 se presentan, además, los resultados en mg de AC en 100 g de fruta osmodeshidratada. Si bien se observan fluctuaciones en los resultados de pérdida de AC, se registra tendencia al incremento de estos valores con el número de ciclo y con la concentración del jarabe osmótico, siendo el porcentaje de pérdida de AC inferior en los ensayos a 40° Brix respecto de aquellos a 60° Brix (Tabla 3) aunque estas diferencias, entre los tratamientos, no son significativas en los dos primeros ciclos. Así, estos resultados pueden resumirse en un promedio de pérdida de AC de 19% en los ciclos 1 y 2 y de 25 y 30% ($p < 0,05$) en los ciclos 3, 4 y 5, en condiciones de operación de 40 y 60° Brix respectivamente.

Tabla 2: Valores medios y desvío estándar del contenido de sólidos solubles (SS), pH, y humedad de fruta fresca (FrFr) y osmodeshidratada (Fr OD) de ananá en cada ciclo de deshidratación osmótica (1–5), en dos condiciones de operación (40 y 60° Brix).

	Muestra	40° Brix		
		SS (° Brix)	pH	Humedad (g/100 g fr)
	Fr Fr	8,71±0,10	3,31±0,11	89,99±2,12
1º ciclo	Fr OD1	19,10±0,96	3,27±0,04	79,83±0,21
2º ciclo	Fr OD2	21,92±0,42	3,12±0,07	79,85±0,47
3º ciclo	Fr OD3	22,55±0,17	3,14±0,06	78,22±1,85
4º ciclo	Fr OD4	19,73±0,80	3,53±0,05	81,44±1,13
5º ciclo	Fr OD5	23,35±2,20	3,63±0,04	79,16±1,81

		60° Brix		
	Muestra	SS (°Brix)	pH	Humedad (g/100 g fr)
	Fr Fr	8,75±0,07	3,31±0,11	89,99±2,12
1 ^{er} ciclo	Fr OD1	26,10±0,00	3,20±0,03	73,53±0,56
2 ^{do} ciclo	Fr OD2	26,72±0,97	3,05±0,08	73,17±0,25
3 ^{er} ciclo	Fr OD3	25,12±2,83	3,26±0,27	73,92±1,26
4 ^{to} ciclo	Fr OD4	31,55±1,05	3,53±0,03	74,17±1,10
5 ^{to} ciclo	Fr OD5	32,93±1,05	3,61±0,04	73,70±1,21

Tabla 3: Valores medios $\pm$ desvío estándar del contenido de ácido cítrico (AC) en fruta fresca (FrFr) y osmodeshidratada (Fr OD) de ananá y % de pérdida en cada ciclo de deshidratación osmótica (1–5), en dos condiciones de operación (40 y 60° Brix).

	40° Brix		60° Brix	
muestra	AC (g/100 g prod.)	AC (g/100 g FrFr)	AC (g/100 g prod.)	AC (g/100 g FrFr)
FrFr	0,96±0,01	0,96±0,01	0,97±0,01	0,97±0,01
Fr OD1	0,94±0,05	0,79±0,04	0,99±0,14	0,76±0,12
% pérdida		18		21
Fr OD2	0,92±0,01	0,78±0,01	0,98±0,03	0,79±0,03
% pérdida		19		18
Fr OD3	0,83±0,01	0,72±0,01	0,87±0,02	0,69±0,02
% pérdida		25		29
Fr OD4	0,82±0,02	0,72±0,02	0,82±0,03	0,68±0,03
% pérdida		25		30
Fr OD5	0,77±0,02	0,73±0,02	0,76±0,05	0,66±0,04
% pérdida		24		32

Características de la solución de sacarosa

Los datos de la dilución de la solución de sacarosa en cada ciclo son de gran importancia para el diseño de un proceso industrial. Esta dilución está ligada a las condiciones de operación. En el presente estudio se aplicó una relación masa de solución osmótica a masa de fruta relativamente baja (6:1), lo cual generó variación apreciable en la concentración de jarabe durante el proceso. Como puede observarse en la Tabla 4 la dilución del jarabe de sacarosa se incrementa con el número de ciclo y con la concentración original de sacarosa; así, al final del quinto ciclo la concentración del jarabe osmótico fue de 33,2 y 45,0° Brix, cuando la concentración original fue de 40 y 60° Brix respectivamente, lo cual revela un decremento de la concentración de sacarosa del 17% y 25% respectivamente. El incremento de la dilución del jarabe osmótico de modo directo con la concentración de la solución de trabajo, se explica con el hecho de que al incrementarse la presión osmótica del medio aumenta la velocidad de pérdida de agua de la fruta como se observa en las Figuras 1 (a) y 1 (b). Los porcentajes de dilución obtenidos en el presente estudio son marcadamente superiores a los publicados por Peiró-Mena y col. [9] en un estudio de deshidratación osmótica de ananá con re-utilización del jarabe en ciclos sucesivos,

lo que puede atribuirse a la diferencia en las condiciones de operación, especialmente al valor de relación masa de jarabe /masa de fruta (20/1).

Asimismo puede verse que los cambios en la composición del jarabe osmótico afectan los valores de pérdida de agua y ganancia de soluto de la fruta (Tablas 1 y 4), siendo especialmente notorias las variaciones en estos parámetros en los ciclos 4 y 5.

Tabla 4: Valores medios del contenido de sólidos solubles (SS), pH y contenido de ácido cítrico (AC) en la solución osmótica fresca (SO0) y al final de cada ciclo de deshidratación osmótica (SO1, SO2, etc.), en los ensayos a 40 y 60° Brix

		40° Brix		
	Muestra	SS (° Brix)	pH	AC (g/100 ml)
	SO0	40,0	6,32	0
1 ^{er} ciclo	SO1	38,4	4,65	0,04
2 ^{do} ciclo	SO2	36,4	4,40	0,08
3 ^{er} ciclo	SO3	35,3	3,47	0,11
4 ^{to} ciclo	SO4	32,5	3,70	0,14
5 ^{to} ciclo	SO5	33,2	3,60	0,17

		60° Brix		
	Muestra	SS (° Brix)	pH	AC (g/100 ml)
	SO0	60,0	6,07	0
1 ^{er} ciclo	SO1	58,3	5,67	0,01
2 ^{do} ciclo	SO2	57,4	5,71	0,05
3 ^{er} ciclo	SO3	48,9	3,65	0,12
4 ^{to} ciclo	SO4	45,1	3,60	0,17
5 ^{to} ciclo	SO5	45,0	3,40	0,15

Las variaciones más notorias en los valores de pH del jarabe osmótico se registraron en los primeros ciclos (Tabla 4) y estos cambios fueron más drásticos en la solución de 40° Brix que en la de 60° Brix. El pH desciende hasta alcanzar valores próximos al de la fruta al tercer ciclo y sin registrarse variaciones significativas en ciclos sucesivos ni diferencias entre las condiciones del proceso de DO. Observaciones similares fueron publicadas por Valdez-Fragoso y col. [10] en un estudio de deshidratación de manzanas a 60° Brix y por García-Martínez y col. [6] en deshidratación osmótica de kiwi a 55° Brix, ambos con reutilización del jarabe osmótico. Estos autores resaltan la importancia del descenso del pH en la estabilidad microbológica de la solución.

Por otra parte, en la Tabla 4 se puede observar que el contenido de ácido cítrico en el jarabe de sacarosa se incrementa con el número de ciclos, lo cual está relacionado con la reducción del mismo compuesto en la fruta durante cada ciclo de deshidratación. A diferencia del pH que tiende a estabilizarse a partir del tercer ciclo, la concentración de AC aumenta linealmente con el número de ciclos, lo cual podría explicarse por la presencia de compuestos buffer en la fruta y por el hecho de que la mayoría de los

ácidos orgánicos (ácido cítrico en este caso) son ácidos débiles, y por lo tanto los cambios en su concentración no afectarían el pH. Estos resultados son concordantes con los publicados por Peiró-Mena y col. [9] y Germer y col. [18].

La transmitancia óptica de la solución osmótica fresca se sitúa en el rango de 94-98 % respecto del agua pura y no depende de la concentración de sacarosa, en las condiciones del presente trabajo (40-60° Brix). Después de la reutilización en cinco ciclos consecutivos de DO, los valores de transmitancia óptica disminuyen en relación inversa a la concentración de sacarosa (Figura 3). Cabe mencionar que estos cambios en las características de calidad del jarabe no son un factor limitante para su posterior reciclado en otras formulaciones de productos u otros procesos de DO.

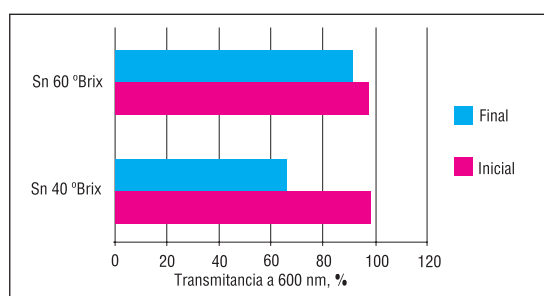


Figura 3: Comparación gráfica y estadística de los resultados promedio de las medidas de transmitancia a 600 nm de las soluciones hipertónicas antes del proceso osmótico (inicial) y al final del quinto ciclo (final).

Conclusiones

Es viable reutilizar el jarabe de sacarosa en la DO de ananá un número de veces limitado cuando la relación masa de jarabe/masa de fruta es de 6/1. La efectividad del proceso de deshidratación osmótica de ananá con reutilización del jarabe de sacarosa sin reacondicionamiento decrece con el número de ciclos. A pesar de ello no se registraron diferencias significativas entre los resultados de pérdida de agua y de ganancia de sacarosa hasta el tercer ciclo consecutivo de DO; este comportamiento se repitió en las dos condiciones de trabajo aplicadas (40 y 60° Brix). En cuanto a las características del jarabe de sacarosa se registró reducción de la concentración de sacarosa y del pH, incremento del contenido de ácido cítrico y disminución en los valores de transmitancia óptica con el número de ciclo. A diferencia del pH que se estabilizó a partir del tercer ciclo en valores próximos al de la fruta, la concentración de ácido cítrico aumentó linealmente con el número de ciclos. Por otra parte, comparando los resultados de ensayos de deshidratación osmótica a 40 y 60° Brix, los valores de transmitancia óptica del jarabe se redujeron en relación inversa a la concentración inicial de sacarosa.

Bibliografía

1. Tortoe, C. *A review of osmodehydration for food industry*. African Journal of Food Science, 4: p. 303-324. 2010.
2. Yao, Z.; Le Maguer, M. *Mathematical modelling and simulation of mass transfer in osmotic dehydration processes*. Part I: conceptual and mathematical model. J. Food Eng. 29: p. 349-360. 1996.
3. Rahman, MS.; Perera, CO. *Drying and food preservation*. In: Handbook of food preservation. Rahman, MS (Ed). Marcel Dekker, New York, USA. p. 173-216. 1999.
4. Fito, P.; Chiralt, A.; Barat, J.; Salvatori, JD; Andrés, A. *Some advances in osmotic dehydration of fruit/Algunos avances en deshidratación osmótica de frutas*. Food science and technology international, 4(5): p. 329-338. 1998.
5. Ramallo, LA.; Schvezov, C.; Mascheroni, RH. *Mass transfer during osmotic dehydration of pineapple*. Food Science and Technology International, 10: p. 323-332. 2004.
6. García-Martínez, E.; Martínez-Monzó, J.; Camacho, MM.; Martínez-Navarrete, N. *Characterisation of reused osmotic solution as ingredient in new product formulation*. Food Research International, 35: p. 307-313. 2002.
7. Ramallo, LA.; Mascheroni, RH. *Rate of water loss and sugar uptake during the osmotic dehydration of pineapple*. Brazilian Archives of Biology and Technology, 48 (5): p. 761-770. 2005.
8. Peiró-Mena, R.; Dias, VMC.; Camacho, MM.; Martínez-Navarrete, N. *Micronutrient flow to the osmotic solution during grapefruit osmotic dehydration*. Journal of Food Engineering, 74 (3): p. 299-307. 2006.
9. Peiró-Mena, R.; Camacho, M M.; Martínez-Navarrete, N. *Compositional and physicochemical changes associated to successive osmodehydration cycles of pineapple (Ananas comosus)*. Journal of Food Engineering, 79(3): p. 842-849. 2007.
10. Valdez-Fragoso, A.; Welti-Chanes, J.; Giroux, F. *Properties of sucrose solution reused in osmotic dehydration of apples*. Drying Technology, 6(7): p. 1429-1445. 1998
11. Dalla Rosa M; Giroux F. *Osmotic treatments (OT) and problems related to the solution management*. Journal of Food Engineering, 49(2): p. 223-236. 2001.
12. AOAC. *Official Method 932.12 Solids (Soluble) in Fruits and Fruit Products Refractometer Method*. Official method of Analysis of AOAC International, 37, p. 15. 1995.
13. AOAC. *Official Method 942.15. Acidity (Titrable) of Fruit Products*. Official method of Analysis of AOAC International, 37, p.10. 2005.
14. Jena, S; Das, H. *Modelling for moisture variation during osmo-concentration in apple and pineapple*. Journal of Food engineering, 66(4): p. 425-432. 2005.
15. Rodríguez, A.; Mascheroni, R. H. *Generalized correlations for characteristic variables and thermophysical properties of osmotically dehydrated fruits*. Drying Technology, 30: p. 1323-1331. 2012

16. Flourey, J.; Pham, Q.T.; Le Bail, A. *A COMSOL simulation of the osmotic dehydration of mango*. In 4th International Conference on Simulation and Modelling in the Food Industry, FOODSIM'2006, Napoli, Italy, June 13–15, 2006.
17. Tocci, A.M.; Mascheroni, R.H. *Some thermal properties of fresh and osmotically dehydrated kiwifruit above and below initial freezing temperature*. Journal of Food Engineering, 88: p. 20–27. 2008.
18. +Germer, SPM; Queiroz, MR; Aguirre, JM; Berbari, SA; Silveira, NFA. *Reuse of Sucrose Syrup in the Osmotic Dehydration of Peaches*. Drying Technology, 30: p. 1532–1540. 2012.

Recibido: 22/02/2017.

Aprobado: 25/09/2017.

RECyT

Año 19 / N° 28 / 2017 / 29–37

Isotermas de sorción de pure deshidratado a partir de diferentes variedades de raíz

Adsorption isotherm of dehydrated mashed cassava from different varieties

María M. Brousse^{1,*}, Ramón A. Linares¹, María L. Vergara¹, Andrea B. Nieto²

1- Faculty of Exact, Chemistry and Life Sciences, National University of Misiones. Posadas, Argentina;

2- Faculty of Exact and Life Sciences, National University of Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

* E-mail: brousse.mariamarcela@gmail.com

Resumen

Las isotermas de sorción de agua de puré de mandioca deshidratado de dos variedades de raíces, Concepción y Pomberí, se determinaron para un rango de temperatura entre 25° C y 45° C. El puré de mandioca deshidratado exhibió un comportamiento Tipo II. Las isotermas de sorción mostraron que para valores de a_w por debajo de 0.85, la capacidad de sorción disminuyó cuando la temperatura aumentó; comportamiento opuesto se observó a a_w por encima de 0.85. El punto de inversión ($a_w = 0.85$) se atribuyó al hecho de que los sitios más activos se expusieron a los procesos de adsorción, debido a que la movilidad molecular aumenta en las regiones amorfas por la cristalización del almidón. Los datos experimentales se ajustaron a diferentes modelos. Se obtuvieron las constantes de los modelos y los coeficientes de correlación. Las ecuaciones BET, GAB y PELEG mostraron los coeficientes de correlación más altos para todos los rangos de a_w . El calor de sorción total aumentó cuando disminuyó el contenido de humedad.

Palabras clave: Ecuaciones BET; Estabilidad de almacenamiento; Calor neto isostérico; Regresión no lineal; Modelos matemáticos.

Abstract

Water sorption isotherms of two varieties of dehydrated mashed cassava, Conception and Pomberí, were determined for a temperature range between 25° C and 45° C. The dehydrated mashed cassava exhibited Type II behavior. Sorption isotherms showed that for a_w values below 0.85, the sorption capacity decreased when temperature increased; opposite behavior was observed at a_w above 0.85. The inversion point ($a_w = 0.85$) was attributed to the fact that more active sites were exposed to the adsorption processes, due to the enhanced molecular mobility promoted in the amorphous regions by starch crystallization. The experimental data were fit to different sorption models. Model constants and correlation coefficients were obtained. BET, GAB and PELEG equations showed highest correlation coefficients for all range of a_w . Total heat of sorption increased when moisture content decreased.

Key words: BET equations; storage stability; net isosteric heat; nonlinear regression; mathematical models.

Introduction

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is considered a foodstuff of high nutritional value and one of the most economical sources of energy; because of carbohydrate yield is 40% greater than in rice and 20% greater than in corn (1). For this reason, processing of cassava root in order to obtain dehydrated mashed cassava was a product developed by a research group of Faculty of Exact, Chemistry and Life Sciences, National University of Misiones, and it is nowadays an alternative industrial production of the Agricultural and Industrial Cooperative San Alberto Ltd. in Province of Misiones, Argentina.

Dehydrated mashed cassava is presented as a new food

from Argentina to the world. It is a gelatinized product that will arrive to the market as dehydrated food, which when reconstituted with water; it is supposed to give a final product similar to cooked fresh root mashed cassava. In food, gelatinized starches can be used almost any time thickening is desired. The gelatinization of starch also significantly affects the characteristics and quality of food such as loaf volume and crumb bread, the elasticity and softness of paste products, digestibility and palatability, the tolerance of batter properties in cakes, frostings, and doughnut mixes, the sugar crystal growth in foods, and the texture, volume, shelf-life, and freeze-thaw stability of bread and cakes (2).

Sorption isotherms and sorption isosteric heat are the

basic information for the foodstuffs drying model (3). Moisture sorption isotherm information is required for drying and storing food products.

There is data in the literature on sorption behavior of starchy products (e.g., 4, 5) as well, water sorption data for cassava starch, such as the values presented by different authors (6), (7), (8). Sanni *et al.* (1997) (9) presented the sorption isotherm for two product off cassava roots processed, fufu and tapioca.

However, the published literature about the sorption isotherms of dehydrated mashed cassava is nonexistent.

Knowledge of the differential heat of sorption has a great importance in designing equipment for dehydration processes. Heat of vaporization of adsorbed water reaches values higher than the heat of vaporization of pure water when food is dehydrated to low moisture levels (10). Net isosteric heat is defined as the total heat of sorption in the food minus the heat of vaporization of water, at system temperature (11).

Heat of adsorption is a measure of the energy released on sorption, and the heat of desorption is the energy requirement to break the intermolecular forces between the molecules of water vapor and the surface of adsorbent (12). Thus, the heat of sorption is considered an indicator of the intermolecular attractive forces between the sorption sites and water vapor (13).

To prepare the mashed dehydrated cassava, the roots are washed with water in a hopper. Then they are peeled in a cylindrical peeler whose walls are covered with abrasive material, eliminating the remains of peels with a water stream. The roots are cooked in a continuous cooker heated by steam and after cooking time the mashed is prepared by a press designed for the purpose. The mash is placed in trays and dried in a continuous dryer with hot air. Once the mash is dried, it is milled and sieved to homogenize the size and it is packed in packages of 0.2 or 25 kg bags according to their destination.

There is a need to determine the sorption isotherms of mashed cassava to maximize their storage and to establish a reliable database for each of them. One important property of food product related to drying is its moisture sorption isotherm, since it will determine the degree of drying required to obtain a stable product (14).

The knowledge and understanding of sorption isotherms is highly important in food processing for the design and optimization of drying equipment, design of packages,

predictions of quality, stability, shelf - life and for calculating moisture changes that may occur during storage. Several preservation processes have been developed in order to prolong the shelf - life of food products by lowering the availability of water to micro - organisms and inhibiting some chemical reactions (15).

The main objective of this work is to evaluate the sorption isotherms of dehydrated mash from two different

cassava varieties: Conception and Pomerí, at three different temperatures.

Data analysis

Different models are available in the literature for predicting adsorption isotherms in food (16). Models used in this study for describing the moisture sorption isotherm of mashed cassava samples are chosen too by the researchers who work with foods high in starch (17), (4), (18) and are presented in Table 1.

Heat of sorption (Q_s), calculated by the Clausius–Clapeyron equation, is used to estimate the total energy necessary during drying. Heat of sorption is a measure of the binding energy of absorbed water by the solid materials (19). The moisture content at which the total heat of sorption approaches the heat of vaporization of pure water is often taken as an indication of bound water in the foodstuff (20). At higher moisture contents, water is available for utilization by microorganisms because it is mechanically free in the void spaces of the system (21). As mentioned earlier the “net” isosteric heat of sorption is obtained from the differential equation of Clausius–Clapeyron, that is given by Eq. 1.

$$\ln a_w = \frac{-q_{st}}{RT} + cte \quad \text{Eq. (1)}$$

where T is the absolute temperature, a_w is water activity, q_{st} is net isosteric heat of sorption and R is the universal gas constant ($R = 8.319 \text{ kJ/mol K}$).

Table 1
Models for fitting the adsorption isotherms

Model	Equation	Reference
BET	$X = \frac{X_m \cdot C \cdot a_w}{(1-a_w) \cdot (1+(C-1) \cdot a_w)}$	(22)
CAURIE	$X = \exp \left[a_w \cdot \ln(v) - \frac{1}{4.5 \cdot X_s} \right]$	
FERRO FONTAN	$X = \left[\frac{A}{\ln \left(\frac{B}{a_w} \right)} \right]^{\frac{1}{C}}$	(23)
GAB	$X = \frac{X_m \cdot C \cdot k \cdot a_w}{(1-ka_w) \cdot (1+(C-1) \cdot ka_w)}$	(24), (25), (26)
HALSEY	$X = \left[\frac{A}{\ln \left(\frac{1}{a_w} \right)} \right]^B$	(27)

HENDERSON	$X = \left(\frac{-\ln(1 - a_w)}{A} \right)^{\frac{1}{B}}$	(28)
PELEG	$X = k_1 \cdot a_w^{n_1} + k_2 \cdot a_w^{n_2}$	(29)

Some of the models in Table 1 include the effect of temperature. Also, constants are in some cases related to certain properties. For example, in the GAB model, X_m is the monolayer moisture content (kg water/kg solid), and C and k are related to monolayer and multilayer properties. The effect of temperature on GAB constants were calculated from the Arrhenius equation, they are shown in Eqs. 2, 3 and 4 (30).

$$X_m = X_{m0} \cdot \exp\left(\frac{\Delta H}{RT}\right) \quad \text{Eq. (2)}$$

$$C = C_0 \cdot \exp\left(\frac{\Delta H_c}{RT}\right) \quad \text{Eq. (3)}$$

$$k = k_0 \cdot \exp\left(\frac{\Delta H_k}{RT}\right) \quad \text{Eq. (4)}$$

ΔH is an Arrhenius-type energy factor (kJ/mol K); ΔH_c : H_1-H_m = heat of sorption of the first layer –heat of sorption of a multilayer (kJ/mol K); ΔH_k : H_L-H_m = heat of condensation of pure water vapor –heat of sorption of a multilayer (kJ/mol K); X_{m0} , k_0 y C_0 are pre-exponential factors.

Materials and Methods

Raw material

Dehydrated mashed cassava of Concepcion and Pomberí varieties were obtained from San Alberto Ltd., Misiones, Argentina.

Determination of equilibrium moisture content

The equilibrium moisture content of dehydrated mashed cassava of two varieties, Concepcion and Pomberí, was obtained by the static gravimetric method, as described by (31), at temperatures of 25, 35 and 45° C. The glass sorption jars were placed in a temperature controlled cabinet, with an accuracy of $\pm 1^\circ \text{C}$ at the selected temperatures. The temperatures were chosen to simulate variation in temperature across the country. Triplicate mashed samples ($3 \pm 0.001 \text{ g}$), were put into small crucibles and placed in

desiccators with saturated salt solutions of water activity between 0.11–0.97. The salts used were LiCl, KF2, NaI, NaBr, KI2, NaCl, KCl, K2SO4. Thymol was placed in the desiccators containing NaCl and BaCl2 in order to prevent the growth of mould (32). The samples were weighed within interval of 24 hours and allowed to equilibrate until there was no discernible weight change, as evidence by constant weight values ($\pm 0.002 \text{ g}$). The dry mass was determined gravimetrically. The time required for equilibrium was fifteen and twenty days.

Data analysis

A non-linear least square regression analysis was used to evaluate the model parameters. To evaluate the goodness of fit of each model, root mean square error (RMSE), the mean bias error (MBE), the coefficient determination (R^2) and the mean relative percentage deviation modulus (E) was used, which is defined by Eqs. 5, 6 and 7.

$$E \% = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{(m_i - m_{pi})}{c_{pi}}}{n} \cdot 100 \quad \text{Eq. (5)}$$

$$\text{RMSE} = \left[\frac{\sum_{i=1}^n \frac{(m_i - m_{pi})^2}{c_{pi}}}{n} \right]^{0.5} \quad \text{Eq. (6)}$$

$$\text{MBE} = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{(m_i - m_{pi})}{c_{pi}}}{n} \quad \text{Eq. (7)}$$

where m_i is the experimental value, m_{pi} is the predicted value, and n is the number of experimental data. A good fit is indicated by small values of RMSE and MBE and the mean relative percentage deviation modulus (E) below 10% indicative of a good fit for practical purposes (33).

Results and Discussion

All adsorption isotherms presented an increase in the equilibrium water content along with an increase in a_w (Figure 1).

The sigmoidal shape found is typically reported as a Type II isotherm (34), according to Brunauer's classification (35). The class II isotherms can be interpreted as a superposition of the localized monolayer adsorption on the internal material surface and the dilution of some part of the solids in solution (36). The mathematical expressions were developed for polymer hydration by (37).

Similar behavior was found in some fortified cassava products (38), in cassava starch (6), (7), (39), (9), (17), potato starch (4), (40), (7), (41), corn starch (40), (41), (42) and in starches modified of cultivars of cassava (43).

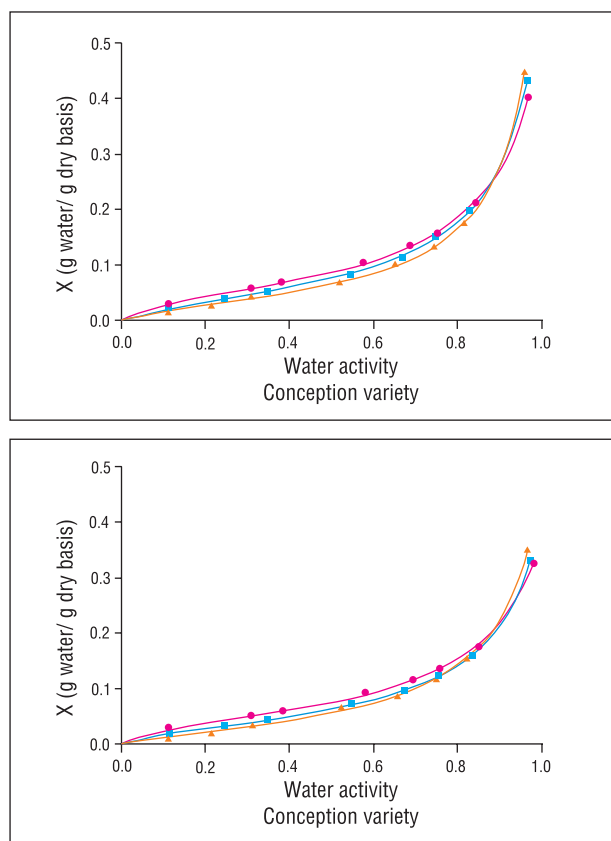


Figure 1: Sorption isotherms of dehydrated mashed cassava for a temperature range between 25 and 45 °C (● 25 °C, ■ 35 °C, ▲ 45 °C) for Conception and Pomberí varieties. Modified GAB fits are represented on the graph (solid line 25 °C, dash line 35 °C and dotted line 45 °C).

Figures show that for water activity values below 0.85, the equilibrium moisture content decreases when temperature increases, which was expected in an exothermic moisture adsorption process (at constant water activity), indicating that the dehydrated mashed cassava become less hygroscopic. However, for a_w values higher than 0.85 an isotherm cross-over with temperature is observed, i.e., the equilibrium moisture content increased with temperature for a given a_w value. Similar crossing was reported in cassava starch (17), (44); cornmeal, (45); potato starch (46) and wheat flour (18). It was observed that dehydrated mashed cassava samples stored at room temperature tended to crystallize when they were conditioned at high relative humidity. All of these authors reported this behavior and attributed it to the endothermic dissolution of sugars at elevated water activity. Nevertheless, the material considered here is neat starch, for which the isotherm inversion with temperature at high water activity (or moisture content), could be more related to a greater exposure of active sites or hydrophilic groups at high a_w or water contents as the temperature increases, as indicated by Brett and Figueroa (48). These authors presented evidence that relates the isotherm cross-over of oat flour and rice flour with temperature, to the onset of glassy to rubbery state transition taking place for the highest temperature sorption curve at high moisture contents or a_w 's.

On the other hand, at 45 °C (the highest temperature

tested in this work), it is assumed that samples stored at high humidity, could show a possible crystallinity development upon conditioning at that temperature. These results are similar to reported at Perdomo (17) in cassava starch. Hence, it can be suggested that as water is being squeezed out of the crystals due to the crystallization process, the amount of water adsorbed into the rubbery amorphous starch matrix of dehydrated mashed cassava will be greater, which in turn, due to its plasticizing effect will increase molecular mobility. Consequently, an increase of the available hydroxyl groups for sorption enhancement will be promoted. The deviation in the sorption capacity of starches as possibly linked to the onset of the glass transition range has also been previously suggested in the literature (57), (4), (48).

Sorption data for dehydrated mashed cassava is not available in the literature. Nevertheless, sorption data for cassava starch have been presented at one temperature, normally at room temperature (6), (7), (8), (41). Besides, water adsorption isotherms for cassava bagasse are presented (47). Nonetheless, results presented in this work for amorphous cassava starch are in line with the cross-over/ T_g relationship reported by (48) and cassava starch reported by (17).

Moisture sorption isotherm for dehydrated mashed cassava obtained at three temperatures (25 °C, 35 °C and 45 °C), were fitted to models the Table 1 and the results are shown in Table 2.

Table 2 shows that, except from the CAURRIE, FERRO FONTAN and HALSEY models fitted at 45 °C, models described well the experimental sorption behavior of mashed dehydrated cassava in the range of temperatures considered, as indicated by R^2 values greater than 0.90, small values of RMSE and MBE and mean relative errors lower than 10%.

These results are similar to reported for potato (4), (41); tapioca grits (44); cassava starch (17) and cassava bagasse (47).

BET and GAB equations showed that the monolayer water content decreased when the temperature increased for both varieties. This fact has been attributed in the literature to a reduction of the active sites in the food matrix due to chemical and physical changes (e.g., reduction in hydrogen bonding degree), taking place as the temperature increases, the extension of which will depend on food nature (4), (49).

The monolayer water content values obtained by the GAB model were higher than those obtained by the BET model. As expected, BET model refers to adsorption in the monolayer, however in GAB model the properties of water adsorbed in multilayer are considered (18).

Table 2

Fitting parameters for the mathematical expressions applied to sorption data of dehydrated mashed cassava at different temperatures. (C: Conception Variety; P: Pomeri Variety)

Model	a_w	Constant	Temperature (° C)					
			25		35		45	
			C	P	C	P	C	P
BET	< 0.6	Xm	0.049	0.045	0.041	0.038	0.039	0.047
		C	8.687	7.185	7.678	5.642	4.816	2.014
		R ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
		RMBE	2.E-03	3.E-03	1.E-03	1.E-03	2.E-03	1.E-04
		MBE	-3.E-05	2.E-04	4.E-06	1.E-03	1.E-04	3.E-04
		E%	4.2	6.4	3.4	2.9	6.2	7.4
CAURIE	0.1-0.8	v	10.4	10.29	16.6	15.16	18.3	22.51
		Xs	0.062	0.059	0.055	0.054	0.053	0.049
		R ²	0.99	0.98	0.99	0.99	0.99	0.99
		RMBE	4.E-03	4.E-03	4.E-03	3.E-03	3.E-03	4.E-03
		MBE	3.E-04	4.E-04	-1.E-04	2.E-04	3.E-04	1.E-03
		E%	7.4	9.3	7.1	7.5	8.8	18
FERRO	< 0.90	A	0.086	0.078	0.074	0.093	0.1018	0.114
FONTAN		B	1.250	1.276	1.155	1.268	1.233	1.281
		C	0.97	0.966	0.93	0.832	0.8	0.736
		R ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
		RMBE	3.E-03	3.E-03	3.E-03	2.E-03	3.E-03	4.E-03
		MBE	2.E-04	3.E-04	3.E-05	2.E-04	3.E-04	1.E-03
		E%	4.8	6.5	4.2	3.9	6.3	13.7
GAB	< 0.98	C	8.306	7.84	5.040	4.928	4.617	3.044
		Xm	0.056	0.05	0.051	0.044	0.043	0.043
		K	0.888	0.877	0.916	0.904	0.942	0.919
		R ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
		RMBE	2.E-03	3.E-03	3.E-03	1.E-03	2.E-03	3.E-03
		MBE	3.E-05	5.E-05	-2.E-05	1.E-04	7.E-05	3.E-04
		E%	2.8	4.5	2.9	1.2	4.2	8.4
HALSEY	0.1-0.8	A	0.023	0.018	0.033	0.024	0.032	0.033
		B	1.389	1.395	1.152	1.194	1.110	1.047
		R ²	0.99	0.98	0.99	0.99	0.99	0.98
		RMBE	5.E-03	6.E-03	2.E-03	3.E-03	4.E-03	5.E-03
		MBE	4.E-04	1.E-03	1.E-04	5.E-04	8.E-04	1.E-03
		E%	9.2	10.6	6.1	8.3	11.7	20.9
HENDERSON	< 0.95	A	13.020	16.950	9.699	12.970	9.969	10.420

		B	1.228	1.268	1.033	1.079	0.999	0.964
		R ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
		RMBE	5.E-03	3.E-03	7.E-03	4.E-03	5.E-03	3.E-03
		MBE	-6.E-04	-1.E-04	-1.E-03	-5.E-04	-1.E-03	-1.E-04
		E%	5.9	3.2	11.5	7.5	9.4	4.9
PELEG	< 0.98	k ₁	0.172	0.155	0.143	0.132	0.149	0.147
		k ₂	0.303	0.934	0.387	1.004	0.459	1.258
		n ₁	0.905	0.234	0.918	0.279	1.092	0.324
		n ₂	9.064	9.379	8.239	8.768	10.280	10.180
		R ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
		RMBE	2.E-03	1.E-03	4.E-03	1.E-03	3.E-03	1.E-03
		MBE	-1.E-04	4.E-05	-1.E-04	1.E-05	-1.E-04	1.E-04
		E%	2.5	1.1	3.7	2.4	4.2	2.1

GAB model has an advantage as compared to the BET model since it offers an objective method for drawing sorption isotherms up to 0.9 a_w while the BET model is limited to 0.2–0.6 a_w (50).

The values of monolayer water content reported for dehydrated mashed cassava were lower than those found by (7), for native cassava starch at 25° C (0.074 using BET model and 0.079 by the GAB model). These differences could be attributed to the fact that starch in mashed dehydrated cassava is completely gelatinized.

X parameter in CAURIE model is called “the security moisture content value” and it is important from a commercial point of view because it provides the maximum moisture content for the food during a possible storage and packing. In our study for both varieties, Conception and Pomeri, X values are similar to Xm values of GAB equation.

It should be noted that, although the PELEG models provide a good representation of the data, they provide no indication of the nature of the sorption process (4).

The temperature dependencies of the GAB constants calculated using linear regression are shown in Table 3.

Table 3

Characteristic GAB parameters for mashed dehydrated cassava

Variety	X_m		C		K	
	X_{mo}	ΔH (kJ/mol)	r^2	C_0	ΔH_c (kJ/mol)	r^2
Pomeri	2.9 ± 0.1	4.2 ± 0.4	0.95	3.2 ± 0.8	10 ± 2	0.77
Conception	2.3 ± 0.2	2.4 ± 0.3	0.73	5.6 ± 0.5	16 ± 2	0.95

ΔH_c represents the difference in enthalpy between mono-layer and multi-layer sorption (36). The positive value calculated is due to the strong exothermic interaction of water vapor with the primary sorption sites of starch

matrix. ΔH_k represents the difference between the heat of condensation of water and the heat of sorption of the multi-layer. The relatively lower magnitudes of ΔH_k observed implies the presence of less firmly bound multilayer molecules, at intermediary energy levels between those of mono-layer molecules and the bulk liquid. The small negative value of ΔH_k indicates that the heat of sorption of the multi-layer is greater than the heat of condensation of water, due to the endothermic dissolution of small molecular solutes (4) and it is related to isotherm cross-over behavior with temperature.

Values of the heat of sorption at a specific moisture content provides an indication of the state of the sorbed water and hence, a measure of the physical, chemical and microbiological stability of the food material under given storage conditions (51). This provides valuable data for energy consumption calculations and subsequent design of drying equipment, and knowledge of the extent of the water–solid versus water–water interactions (52). The net isosteric heat of sorption values with respect to moisture content are represented in Figure 2, for both varieties.

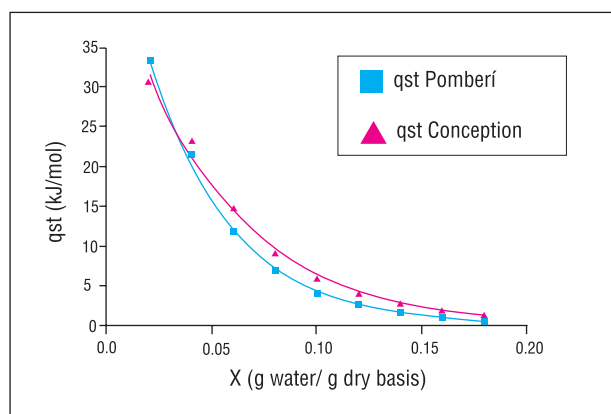


Figure 2: Variation of the isosteric heat of sorption of dehydrated mashed cassava with moisture content, Pomberí variety in solid line and conception variety in dash line.

The plot exhibits a steep initial drop in the monolayer region, continues to decrease smoothly as the multilayers are formed and finally approaches to zero at moisture levels of about 0.20 g water/g dry basis.

The decrease in the isosteric heats with the amount of water sorbed can be qualitatively explained by considering that sorption initially occurs on the most active sites giving rise to the greatest interaction energy. As the moisture content increases, the sites available for sorption of water diminish, resulting in lower values of Q_{st} . (11), (53), (54).

Variations of the isosteric heat of sorption with moisture contents (X) can be expressed as:

$$\text{Concepción} \quad Q_{st} = (47 \pm 2)e^{-(19.6 \pm 0.9)X} \quad R^2=0.993$$

Pomberí

$$Q_{st} = (56 \pm 1)e^{-(25.4 \pm 0.6)X} \quad R^2=0.998$$

It has been established that during the initial stages of the sorption process at low moisture

content, there are more active sites on the food surface covered by a monolayer of water, with a higher energy of binding than those existing at higher moisture content (multilayer water) (55), (56), (17).

Conclusions

The water sorption behavior of dehydrated mashed cassava of two varieties of roots, Concepción and Pomberí, was evaluated in order to optimize drying kinetics and minimize the energy expenses involved in dehydration processes. The adsorption isotherms obtained in this work presented the sigmoid shape. The adsorption isotherms of dehydrated mashed cassava were studied in temperatures from 25 to 45 °C, presenting increasing values of equilibrium moisture content when relative humidity increased and temperature decreased. The inversion (or cross-over) points, exhibited at a water activity of around 0.85, were explained by the result of more active sites exposed in virtue of the enhanced molecular mobility due to the water squeezed out of the crystals upon crystallization. The correlation coefficients (R^2) obtained for each model studied showed correlation coefficients above 0.98. The GAB, BET and PELEG models were more appropriate. The monolayer water content, if determined by GAB model, was found to be inversely related to temperature and their values ranging from 0.049 to 0.039 and 0.05 to 0.043 g/g (dry basis) for dehydrated mashed at Concepción and Pomberí varieties, respectively. Estimates of isosteric heat of sorption and their variation with moisture content were also presented for both mashed varieties.

An exponential relationship was found to describe this variation, within the moisture content range considered in this work.

Nomenclature

A, B, C	equations parameters (dimensionless)
a_w	water activity (dimensionless)
C_0	pre-exponential factor (dimensionless)
ΔH	Arrhenius-type energy factor (kJ/mol)
ΔH_c	difference in heat of sorption between mono-layer and multi-layer (kJ/mol)
ΔH_k	difference between the heat of condensation of water and the heat of sorption of the multilayer (kJ/mol)
E %	mean relative percentage
k_0	pre-exponential factor (dimensionless)
k	GAB model parameter (dimensionless)
k_1, y, k_2	equation parameters (dimensionless)

MBE	mean bias error
m_i	experimental value
m_{pi}	predicted value
n	number of experimental data
n_1, y, n_2	equation parameters (dimensionless)
q_s^n	net isosteric heat of sorption (kJ/mol)
q_s	isosteric heat of sorption (kJ/mol)
R	universal gas constant (8.314 (kJ/kmol K))
RMSE	root mean square error
R^2	coefficient determination
r^2	coefficient correlation
T	absolute temperature (K)
T_g	the glass transition temperature
X	equilibrium moisture content (g water/g dry solid)
X_m	monolayer moisture content (g water/ g dry solid)
X_s	security moisture content (g water/g dry solid)
X_{mo}	pre-exponential factor (dimensionless)

References

1. Tonukari, N. *Cassava and the future of starch*. Electronic Journal of Biotechnology. 7(1): p. 5–8. 2004.
2. Chiang, B. Y. and Johnson, J. A. *Gelatinization of starch in extruded products*. Cereal Chemistry. 54: p. 436–443. 1977.
3. Chen, C. *Obtaining the isosteric sorption heat directly by sorption isotherm equations*. Journal of Food Engineering. 74(2): p. 178–185. 2006.
4. Al-Muhtaseb, A. H.; McMinn, W. and Magee, T. *Water sorption isotherm of starch powders Part 1: Mathematical description of experimental data*. Journal of Food Engineering. 61(3): p. 297–307. 2004a.
5. McMinn, W. A. and Magee, T. R. *Studies on the effect of temperature on the moisture sorption characteristics of potatoes*. Journal of Food Process Engineering. 22: p. 113–128. 1999.
6. Chang, Y.; Cheah, P. and Seow, C. *Plasticizing effects of water on physical properties of tapioca starch films in the glassy state*. Journal of Food Science. 65: p. 445–451. 2000.
7. Chatakanonda, C.; Dickinson, L. and Chinacohoti, P. *Mobility and distribution of water in cassava and potato starches by H and H NMR*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: p. 7445–7449. 2003.
8. Mali, S.; Sakanaka, L. S.; Yamashita, F. and Grossmann, M. V. E., *Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect*. Carbohydrate Polymers. 60: p. 283–289. 2005.
9. Sanni, L.; Atere, C. and Ayoade, K. *Moisture sorption isotherms of fufu and tapioca at different temperatures*. Journal of Food Engineering. 34: p. 203–212. 1997.
10. King, C. J. *Rate of moisture sorption and desorption in porous, dried foodstuffs*. Food Technology. 22: p. 509–514. 1968.
11. Tsami, E.; Maroulis, Z. B.; Morunos-Kouris, D. and Saravacos, G. D. *Heat of sorption of water in dried fruits*. International Journal of Food Science and Technology. 25: p. 350–359. 1990.
12. Rizvi, S. S. H. *Thermodynamic properties of food in dehydration*. In: M. Rao, M., and S., Rizvi, (2nd ed.). Engineering properties of food. New York: Marcel Dekker Inc p. 223–309. 1995.
13. Wang, N. and Brennan, J. G. *Moisture sorption isotherm characteristics of potatoes at four temperatures*. Journal of Food Engineering. 14: p. 269–282. 1991.
14. Sereno, A.M.; Moreira, R. and Martinez, E. *Mass transfer coefficients during osmotic dehydration of apple in single and combined aqueous solutions of sugar and salt*. Journal of Food Engineering. 47: p. 43–49. 2001.
15. Siripatrawan, U. and Jantawat, P. *Determination of moisture sorption isotherms of jasmine rice crackers using BET and GAB models*. Food Science Technology. 12: p. 459–465. 2006.
16. Iglesias, H. A. and Chirife, J. *An empirical equation for fitting water sorption isotherms of fruits and related products*. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal. 11: p. 12–18. 1978.
17. Perdomo, J.; Cova, A.; Sandoval, A. J.; Garcia, L.; Laredo, E. and Müller, A. J. *Glass transition temperatures and water sorption isotherms of cassava starch*. Carbohydrate Polymers. 76: p. 305–313. 2009.
18. Erbas, M.; Ertugay, M. and Certel, M. *Moisture adsorption behaviour of semolina and farina*. Journal of Food Engineering. 69: p. 191–198. 2005.
19. McLaughlin, C.P. and Magee, T.R. *The determination of sorption isotherm and the isosteric heats of sorption for potatoes*. Journal of Food Engineering. 35(3): p. 267–280. 1998.
20. Kaymak-Ertekin, F. and Sultanoglu, M. *Moisture sorption isotherm characteristics of peppers*. Journal of Food Engineering. 47: p. 225–231. 2001.
21. Fasina, O. O. and Sokhansanj, S. *Equilibrium moisture relations and heat of sorption of Alfafa Pellets*. Journal of Agriculture Engineering Research. 56: p. 51–63. 1993.
22. Aguerre, R. J.; Suarez, C. and Viollaz, P. *New BET Type Multilayer Sorption Isotherms. Part: Modelling Water Sorption in Foods*. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 22: p. 192–195. 1989.
23. Ferro Fontan, C.; Chirife, J.; Sancho, E. and Iglesias, H. A. *Analysis of a model for water sorption phenomena in foods*. Journal Food Science. 47: p. 1590. 1982.
24. Anderson, R. *Modifications of the BET equation*. Journal of the American Chemical Society. 68: p. 686–691. 1946.
25. Guggenheim, E. *Applications of statistical mechanics, 1966*. In: M. Rao, M. and S., Rizvi, (2nd ed.). Engineering properties of food. New York: Marcel Dekker Inc. p. 251. 1995.

26. De Boer, J. (1953). *The dynamic character of adsorption*. Clarendon Press. Also In: Rao, M. and Rizvi, S., *Engineering properties of food* (2nd ed.). New York: Marcel Dekker Inc. p. 251. 1995.
27. Hasley, G. *Physical adsorption in non-uniform surfaces*. Journal of Chemistry and Physics. 16: p. 931–945. 1948.
28. Henderson, S. *A basic concept of equilibrium moisture*. Agricultural Engineering. 33(1): p. 29–31. 1952.
29. Peleg, M. *Assessment of a semi-empirical four parameter general model for sigmoid moisture sorption isotherms*. Journal Food Process Engineering. 16: p. 21–37. 1993.
30. Kim, S. S. and Bhowmik, S. R. *Moisture sorption isotherms of concentrated yogurt and microwave vacuum dried yogurt powder*. Journal of Food Engineering. 21: p. 157–175. 1994.
31. Pawar, V. S.; Pawar, D. K.; Rodge, V. D.; Surve, V. D. and More, D. R. *Moisture adsorption isotherms of ground turmeric at different temperature*. Journal of Food Science and Technology. 29: p. 170–173. 1992.
32. Klewicki, R.; Konopacka, D.; Uczciwek, M.; Irzyniec, Z.; Piasecka, E. and Bonazzi, C. *Sorption isotherms for osmo-convectively-dried and osmo-freeze-dried apple; sour cherry and blackcurrant*. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. Isafruit Special Issue: 75–79. 2009.
33. Lomauro, C. L.; Bakshi, A. S. and Labuza, T. P. *Evaluation of food moisture sorption isotherms equation*. Part I: Fruit, Lebensmittel - Wissenschaft und Technologies. 18: p. 111–117. 1985.
34. Al-Muhtaseb, A.; McMinn, W. and Magee, T. *Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review*. Transactions of the Institution of Chemical Engineers Part C. 80: p. 118–127. 2002.
35. Brunauer, S.; Deming, L. S.; Deming, W. E. and Troller, E. *On the theory of Van der Waals adsorption of gases*. Journal of the American Chemical Society. 62: p. 1723–1732. 1940.
36. van den Berg, C. *Description of water activity of foods for engineering purposes by means of the G.A.B. model of sorption*. In: McKenna, B. M., *Engineering and Foods*. Pp. 311–321. New York: Elsevier. 1984.
37. Hailwood, A. J. and Horrobin, S. *Absorption of water by polymers: Analysis in terms of a simple model*. Transactions of the Faraday Society, 42B: p. 84–102. 1946.
38. Sanni, L. and Kuye, A. *Effect of temperatures on water sorption isotherms of some fortified cassava products, Proceedings of the 12th International Drying Symposium IDS2000, ed by Kerkhof PJAM, Coumans WJ and Mooiweer GD*. Elsevier Science, Amsterdam, Paper 23. 2000.
39. Sanni, L.; Atere, C. and Kuye, A. *Moisture Sorption Isotherms of Fufu and Tapioca at Different Temperatures*. Journal of Food Engineering, 34: p. 203–2012. 1997.
40. Boki, K. and Ohno, S. *Equilibrium isotherm equations to represent moisture sorption on starch*. Journal of Food Science. 56: p. 1106–1110. 1991.
41. Mishra, S. and Rai, T. *Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches*. Food Hydrocolloids. 20: p. 557–566. 2006.
42. Palou, E.; López-Malo, A. and Argai, A. *Effect of temperature on the moisture sorption isotherms of some cookies and corn snack*. Journal of Food Engineering. 31: p. 85–93. 1997.
43. Osundahunsi, O. F.; Seidu, K. T. and Mueller, R. *Effect of presence of sulphurdioxide on acetylation and sorption isotherm of acetylated starches from cultivars of cassava*. Food Chemistry. 151: p. 168–174. 2014.
44. Adebowale, A. R.; Sanni, L.; Awonorin, S.; Daniel, I. and Kuye, A. *Effect of cassava varieties on the sorption isotherm of tapioca grits*. International Journal of Food Science and Technology. 42: p. 448–452. 2007.
45. Vega-Gálvez, A.; Lara-Aravena, E. and Lemus-Mondaca, R. *Isotermas de adsorción de harina de maíz*. Ciencia e Tecnología de Alimentos. 26: p. 821–827. 2006.
46. Viollaz, P. E. and Rovedo, C. O. *Equilibrium sorption isotherms and thermodynamic properties of starch and gluten*. Journal of Food Engineering. 40(4) : p. 287–292. 1999.
47. Polachini, T. C.; Betiol, L.; Lopes-Filho, J. and Telis-Romero, J. *Water adsorption isotherms and thermodynamic properties of cassava bagasse*. Thermochemica Acta. 632: p. 79–85. 2016.
48. Brett, B. and Figueroa, M. *Moisture sorption characteristics of starchy products*. Oat flour and rice flour. B.Sc. thesis, Simón Bolívar University, Venezuela (in Spanish) (2005).
49. Aviara, N. A., and Ajibola, O. O. *Thermodynamics of moisture sorption in melon seed and cassava*. Journal of Food Engineering. 55(2): p. 107–113. 2002.
50. Timmermann, E. O.; Chirife, J. and Iglesias, H. A. *Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters?* Journal of Food Engineering. 48: p. 19–31. 2001.
51. Ciro, H.; Osorio, J. and Cortes, E. *Determination of the isosteric heat to plantain pulp (musa paradisiaca) by sorption isotherms*. Dyna. 156: p. 127–134. 2008.
52. McMinn, W. A. and Magee, T. R. *Thermodynamic properties of moisture sorption of potato*. Journal of Food Engineering. 60: p. 155–157, 2003. 2003.
53. Delgado, A. E., and Sun, D.W. *Desorption isotherms for cooked and cured beef and pork*. Journal of Food Engineering. 51: p. 163–170. 2002b.
54. Jayendra Kumar, A.; Singh, R. R. B.; Patil, G. R. and Patel, A. A. *Effect of temperature on moisture desorption isotherms of kheer*. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie. 38: p. 303–310. 2005.
55. (55) Al-Muhtaseb, A. H.; McMinn, W. and Magee, T. *Water sorption isotherm of starch powders Part 2: Thermodynamic characteristics*. Journal of Food Engineering.

- 62(2): p. 135–142. 2004b.
56. Iglesias, H. A. and Chirife, J. *Isosteric heat of water vapor-sorption on dehydrated foods Part I: Analysis of the differential heat curves*. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie. 9: p. 116–122. 1976.
57. Van den Berg, C. (1981). *Vapour sorption equilibria and other water–starch interactions: Physico–chemical approach*. Ph.D. Thesis, Agricultural University Wageningen, The Netherlands. In Al-Muhtaseb et al. (2004a).

Recibido: 31/05/2017.

Aprobado: 13/10/2017.

Pretratamiento soda-etanol de pino y su influencia en la hidrólisis enzimática

Pretreatment soda-ethanol of pine and its influence on enzymatic hydrolysis

Julia Kruyeniski^{1,*}, Fernando E. Felissia, María C. Area

1- Instituto de Materiales de Misiones (IMAM) UNaM-CONICET

* E-mail: kruyeniskijulia@gmail.com

Resumen

La obtención de bioetanol de segunda generación a partir de aserrín de pino incluye: pretratamiento, hidrólisis enzimática (HE) y fermentación. Uno de los factores más influyentes en la hidrólisis es la composición química del sustrato, directamente relacionada con las condiciones y tipo de pretratamiento al cual es sometido el material. El objetivo fue estudiar la digestibilidad enzimática del aserrín de pino sometido a un pretratamiento etanol-soda. En el experimento se varió la carga alcalina y el tiempo a temperatura máxima. Para la caracterización del material, la actividad enzimática y la hidrólisis se usaron los Procedimientos Analíticos de Laboratorio (LAPs, NREL). Los materiales pretratados presentaron diferente composición química. Solo el efecto de la carga alcalina sobre el rendimiento de la HE fue significativo. Etanol y soda exhibieron una sinergia positiva con respecto al rendimiento. Los resultados sugieren una correlación negativa entre el rendimiento de la HE y el contenido de lignina.

Palabras clave: Deslignificación; Hidrólisis Enzimática; Aserrín de pino; Pretratamiento organosolv; Bioetanol.

Abstract

The production of second-generation bioethanol using pine sawdust involves pretreatment, enzymatic hydrolysis (EH) and fermentation. One of the most influencing factor in the cellulose hydrolysis is the chemical composition of the substrate, which is directly linked with the kind and conditions of the applied pretreatment to biomass. The aim of this work was to study the enzymatic digestibility of pine sawdust submitted to alkaline - ethanol pretreatments. In the experiments, we varied alkaline charges and time at maximum temperature. Laboratory Analytical Procedures (LAPs, NREL) were used for the chemical characterization of the material, the enzymatic activity and the hydrolysis. The pretreated materials presented different chemical compositions. Only the effect of alkaline charge on yield was significant. Ethanol and soda exhibited a positive synergy effect on yield. Results suggest the existence of a negative correlation between EH yield and lignin content.

Keywords: Delignification; Enzymatic Hydrolysis; Pine Sawdust; Organosolv Pretreatment; Bioethanol.

Introduction

Pine (*elliottii* and *taeda*) sawdust is one of the main residues of the primary industrialization of wood in the Northeast of Argentina (NEA Region). About 50% of industrially processed wood is become in waste, generating 1.5 million of dry ton wood wastes per year, which are not properly availed. A typical composition of *Pinus elliottii* from Misiones, Argentina is about 41–44% of cellulose, 28–31% of lignin, 27–33% of hemicelluloses, and 2–4% of extractives. Wastes from conifers sawmills constitute an attractive biomass for the production of bioethanol due to their high hexoses content and broad availability. Second generation bioethanol obtained from cellulose involves three stages: pretreatment/fractionation, hydrolysis and fermentation. Nevertheless, resinous pines have not been exhaustive studied, mainly because their high cellulose

crystallinity, high lignin content, and specially, their high extractives content [1]. For this reason, a pretreatment step is necessary to enhance cellulose digestibility.

In lignocellulose, cell wall polysaccharides are embedded in a complex lignin matrix that hinders the enzymes from accessing polysaccharides that can be converted to fermentable sugars [2]. Pretreatment choice depends on the raw material and has a significant influence in the following stages to bioethanol conversion [3, 4]. Pretreatments aim to extract hemicelluloses and lignin, and to increase the accessibility of the material to enzymatic hydrolysis, avoiding the formation of hydrolysis and/or fermentation inhibitors [5].

Most promising method to produce bioethanol from lignocellulosic materials is based on enzymatic hydrolysis and fermentation [6]. Enzymatic hydrolysis (EH) is friendlier with the environment than chemical hydrolysis.

Endoglucanases, exoglucanases and β -glucosidases or cellobiases form an enzymatic complex that acts synergically to degrade cellulose to glucose [6]. Enzymes and substrate are the main factors influencing the enzymatic hydrolysis; the last one is directly related with the pretreatment to which the material has been subjected [6].

The organosolv process was developed initially for pulp production from woody biomass and has demonstrated to be an effective pretreatment method for high-lignin lignocellulosic biomass because it. This treatment breaks down internal lignin and hemicelluloses bonds and thus, removes the portion of lignin from biomass [7]. The most common relation ethanol/water applied is 50/50, but there are works with 65/35 or 75/25. Most common catalysis uses sulfuric acid, but it has its disadvantages, it is toxic, corrosive, hazardous, and inhibitory characteristics [8]. Time at maximum temperature goes from 10 to 60 minutes generally. Temperatures used for loblolly pine and similar feed stocks go from 170° C to 190° C [8].

Alkali such as sodium hydroxide has been used for lignocellulosic biomass pretreatment since it is effective for lignin removal. Delignification improves the accessibility of the material and avoids lignin combination with enzymes. These effects also depend on the enzymatic charge [3]. The application of alkaline catalyst also increases surface area through alkaline swelling and causes defiberrization, which can improve enzyme accessibility.

With the hypothesis that resultant chemical composition of the material is an important factor on enzymatic saccharification, the aim of this work was to evaluate the effect of the chemical characteristics of pine sawdust (a mixture of *Pinus elliottii* and *Pinus taeda*) subjected to an ethanol and sodium hydroxide pretreatment on its enzymatic digestibility. Therefore, different conditions of alkaline charge and time were applied to evaluate the influence of the resultant chemical composition on saccharification.

Materials and methods

Raw material

Pine sawdust (mixture of *Pinus elliottii* and *Pinus taeda*) was provided by a local sawmill (Forestal AM, Misiones). The sawdust was air-dried, screened, and maintained in closed plastic bags. The fraction passing 3 mm² screen was used.

Organosolv pretreatment

Organosolv pretreatment was carried out in a 200 mL stainless steel reactor (into a glycerin bath) loaded with 20 g of wood sawdust (dry weight base) and 100 mL of a 35:65% (v/v) ethanol: water mixture containing sodium hydroxide. Liquor to wood ratio inside the reactor was 5:1 (w/w). The effect of alkaline charge (15 and 25 % w/w) and

time (60 and 90 min) were evaluated. These experiences were performed by duplicate. Three additional experiences were performed to evaluate effect of reagents separately; two without ethanol (experiences 5 and 6), and one without NaOH (experience 7). Table 1 summarizes conditions of each experience. The temperature was maintained at 170° C.

After the process ended, the reactor was cooled in a water-ice bath. The liquor and solid were separated by filtration. The solid was washed with water and with a mixture of water and ethanol, filtered through paper filter, and then stored in plastic bags at 4° C. The solid obtained in this process was named as “pretreated material”.

Table 1: Pretreatments conditions applied to pine sawdust.

Experience N°	Time at Tmax ^(a) (min)	NaOH (%w/w)	Ethanol/water (v/v)
1	60	15	35/65
2	60	25	35/65
3	90	15	35/65
4	90	25	35/65
5	90	15	0/100
6	90	25	0/100
7	90	0	35/65

^(a)Heating time was 20 minutes.

Substrates characterization

Raw material was characterized according to NREL-LAP standards, including: total solid and moisture (NREL/TP-510-42621), extractives in water and in ethyl alcohol (NREL/TP-510-42619), and structural carbohydrates, glucans, xylans and arabinans, acetyl groups, lignin soluble and insoluble in acid (NREL/TP-510-42618).

The pretreated solids were characterized in the same way, excluding the determination of soluble substances in water and ethanol. The quantification of sugars, organic acids and degradation products was carried out by liquid chromatography HPLC (Waters Corp. Massachusetts, USA), using a column AMINEX-HPX97H (BIO-RAD) with the following chromatographic conditions: eluent: H₂SO₄ 4mM, flow: 0.6 mL/min, temperature: 35° C, detector: refraction index and diode array.

The quantification of homopolymers (glucans, xylans, arabinans) in the solid was carried out multiplying sugars by the hydrolysis stoichiometric factors of 0.88 (or 132/150) for sugars with five carbons (xylose and arabinose) and 0.90 (162/180) for sugars with six carbons (glucose).

Enzymatic hydrolysis (EH)

Commercial Enzymes: cellulases from *Trichoderma Reesei* and cellobiases from *Aspergillus niger* (commercial enzymes provided by Sigma-Aldrich).

Enzyme activity assays: cellulose activity was done in

terms of “filter paper units” (FPU) according to NREL/TP-510-42628 standard. Activity of β -glucosidase was determined by its capacity to hydrolyze 4-nitrophenol β -D-glucopyranoside (p-NPG) to 4-nitrophenol (p-NP). This method consists in adding 0.5 mL of different enzyme dilutions to 2 mL of 1 mmol/L of p-NPG solution, incubating 30 min at 50° C, and then stopping the reaction with 2.5 mL Na_2CO_3 . Finally, the measure of absorbance is made at 400 nm and expressed in IU [9].

Enzymatic treatment: The never-dried solid material from the pretreatment stage was submitted to saccharification with cellulases and celobiases according to NREL-LAP standards (NREL/TP- 510-42629) [10], with a few modifications. Enzymatic hydrolysis was performed in 50 mL Erlenmeyer flask using 1 g dry weight of pretreated material suspended in 50 mL 0.05 M sodium citrate (pH 4.8), at 130 rpm and 50° C for 72 h. The enzyme dose was 20 FPU per gram of glucans (cellulases) [11] and 40 IU per grams glucans (cellobiose).

Glucose content in the resulting hydrolysates was determined by HPLC (Waters Corp. Massachusetts, USA), with an AMINEX-HPX87H column (conditions: 4 mM of H_2SO_4 as eluent, 0.6 ml/min, 35° C), and refractive index detector.

Hydrolysis yield (digestibility) was calculated according to equation 1.

$$EH \text{ yield (\%)} = \frac{\text{glucose} \times 0,9}{\text{glucans in the material}} \times 100 \quad (1)$$

EH yield (%): digestibility

Glucose: grams

Glucans in the material: grams

0.9: stoichiometric factor

The Statgraphics software was used to accomplish the statistical analysis.

Results and discussion

The raw material was composed (%od) of 39.85 % glucans (almost cellulose), 24.89% other sugar polymers (hemicelluloses), 31.41% lignin and 3.52% extractives. The digestibility of the raw material was very low (5.4% at 72h).

Table 2 shown chemical composition and yield of the solid materials after the application of the different pretreatments, as well as, the yields obtained after the EH of pretreated solid materials.

Table 2: Chemical composition and yields after different treatments

Experience number	Yield of pretreated material (%) ^a	Chemical composition (% odm)			EH yield (%)
		Glucans	Xilans-galactans-manans-arabinans	Lignin	72 h
1	59.18 ± 1.22	57.91	14.04	19.49	27.41 ± 1.03
2	47.31 ± 1.20	68.45	15.10	6.41	91.08 ± 3.18
3	57.35 ± 0.76	59.99	13.62	17.90	29.47 ± 0.82
4	46.15 ± 1.49	71.83	15.54	5.28	89.22 ± 2.64
5	66.97	52.03	11.08	27.64	14.18 ± 1.15
6	49.94	64.49	12.18	16.05	40.40 ± 1.42
7	72.92	50.64	11.41	30.35	8.70 ± 2.92

a: Mass (g) of pretreated material obtained from 100 g of dry sawdust.

The yields of pretreated materials with 25% NaOH (experiences 2, 4 and 6) were lower than 50%, mainly because their high delignification (Table 2). Nevertheless, the degradation of glucans did not exhibit significant change (3- 8%).

The Analysis of Variance determined that the effect of time was not significant (p-value<0.05), so 60 minutes of treatment are sufficient to reach the desired results. On the other hand, the alkaline charge affected the EH in a significant way (p-value<<0.05).

The enzymatic hydrolysis yields at 72 h and lignin contents for different pretreatment conditions (all at 90 minutes at maximum temperature) are shown in Figure 1. It is clear that the applied chemicals present a synergistic effect since the hydrolysis yields of the materials submitted to only one reagent (ethanol or sodium hydroxide) are much lower than those of the materials submitted simultaneously to both reagents.

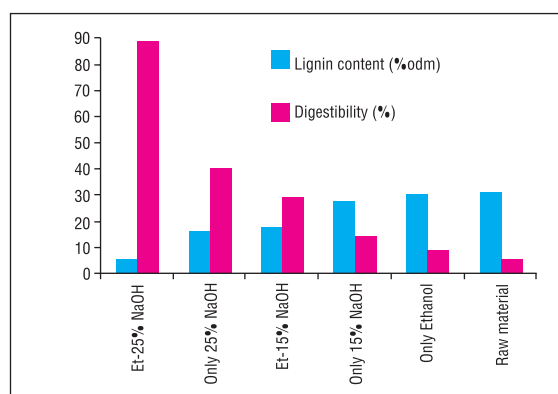


Figure 1: Enzymatic hydrolysis yields at 72 hours and lignin content for different pretreatment conditions (all at 90 minutes at maximum temperature).

The increased digestibility after delignification has also been confirmed by this study. Furthermore, there is a strong negative correlation between lignin content and hydrolysis yield ($r = -0.96$; p-value << 0.05). The explanation could be that lignin tends to irreversibly bind the enzymes through

hydrophobic interactions causing a loss in cellulases activity [12].

The comparison with results obtained by other authors treating similar raw materials (pine) is shown in Table 3. Results can vary appreciably if a different raw material is used because of differences in reactivity, structure, and distribution of lignin.

Table 3: Reported enzymatic saccharification of pines submitted to similar pretreatments.

Raw material	Pretreatment and EH conditions	Maximum enzymatic digestibility	Reference
Loblolly pine (<i>Pinus taeda</i>)	170° C, ethanol/water: 65/35, 1.1% (odm) sulfuric acid, 60 min. EH: 50° C, 8 FPU/g cellulose (Celluclast) and 16 IU/g cellulose (Novozym 188), 80h	≈70%	Sannigrahi <i>et al</i> 2010 [13]
Pitch pine (<i>Pinus rigida</i>)	a. 190° C, ethanol/water: 50/50, 20 min, 2% (w/v) NaOH. b. 210° C, ethanol/water: 50/50, 2% (w/v) NaOH, 20min. EH: 50° C, 60 FPU/g cellulose (Celluclast) and 64pNPGU/g cellulose (NS-50010, Novozym), 72h	a.58% and b.85.4%	Park <i>et al</i> 2010 [8]
Loblolly pine (<i>Pinus taeda</i>)	170° C, 75% ethanol, 1% (w/w) sulfuric acid overnight, 60min, SLR: 7:1. EH: 50° C, 10 FPU/ g glucan (Novozym 22C), 72 h	41.2%	Lai <i>et al</i> 2014 [14]
Pine	1. Autohydrolysis. Solid/liquid ratio 1:10; 180 °C; 60 min. 2. Ethanol-water delignification in two stages. a. First stage: 75% (v/v) aqueous ethanol solution + 1% w/w sulfuric acid; 10–15 min; b. Second stage: 180 ± 1 °C; 60 min. EH: 45° C, 25 FPU per g dry weight of pretreated biomass, 72 h	1. + 2. a. <10% b. 23%	Amiri <i>et al</i> 2016 [15]
<i>Pinus taeda</i> L.	Ethanol-water delignification: 170°C; 60 min; 1% dilute sulfuric acid; ethanol concentration 55%. EH: 55° C, 60 FPU/ g glucan, 48h	75% yield	Heringer <i>et al</i> 2016 [16]
<i>Pinus radiata</i>	189°C, ethanol/ water (v/v): 50:50; liquid/solid ratio (LSR): 6:1; 8 min and 1.1% w/w H ₂ SO ₄ . EH: 50° C, 0.044 g of enzyme per g of dry pretreated material, 96 h	94% (72h)	Valenzuela <i>et al</i> 2016 [17]
Mixture of <i>Pinus elliottii</i> and <i>Pinus taeda</i>	170° C, ethanol/water: 35/65, 25% (odm) NaOH, 60 min. EH: 50° C, 20 FPU/g glucans and 40 IU/g glucans, 72h	91%	this work

As shown in Table 3, the most frequent ethanol/water ratio used was 50/50, although it was reported that the use of low ethanol concentrations (about 30% v/v) is favorable for Organosolv processes [18].

Compared to Park *et al* [8], who worked with softwood and organosolv – NaOH process, higher EH yields were obtained in this work at lower temperatures and lower enzyme load, presumably due to differences in the ethanol-soda ratio or/and to the time at maximum temperature. The same conclusions can be reached when comparing with most of the acid organosolv treatments.

Ethanol-soda pretreatment has demonstrated to provide high EH yield at moderate temperature. Ethanol catalyzed with sulfuric acid has been the most applied organosolv process despite the fact that alkali has been recognized as

one of the most effective agents for swelling the biomass and the degree of swelling is an important property that affects enzymatic hydrolysis [7].

Conclusions

The soda-ethanol pretreatment and its conditions affect enzymatic hydrolysis.

Chemical composition, specifically lignin content is crucial on enzymatic hydrolysis yield.

Time effect resulted not significant between 60 and 90 minutes whereas alkaline charge affected delignification and EH yield.

Ethanol-soda pretreatment has demonstrated to provide high enzymatic hydrolysis yield at moderate temperature.

Abbreviations

NREL: National Renewable Energy Laboratory

LAP: Laboratory Analytical Procedure

EH: Enzymatic hydrolysis

HPLC: high performance liquid chromatography

odm: on oven dry material

v/v: Volume / Volume

w/v: Weight / Volume

w/w: Weight / Weight

References

1. Stoffel, R.B.; Felissia, F.E.; Silva Curvelo, A.A.; Gassa, L.M. and Area, M.C. *Optimization of sequential alkaline-acid fractionation of pine sawdust for a biorefinery, Industrial Crops and Products*, 61: p. 160-168. 2014.
2. Kafle, K.; Lee, C.M.; Shin, H.; Zoppe, J.; Johnson, D.K.; Kim S. H. and Park, S. *Effects of delignification on crystalline cellulose in lignocellulose biomass characterized by vibrational sum frequency generation spectroscopy and X-ray diffraction*, Bio Energy Research, 8 (4): p. 1750-1758. 2015.
3. Yu, Z.; Jamee, I.H.; Chang, H. and Park, S. *The effect of delignification of forest biomass on enzymatic hydrolysis*, Bioresource Technology, 102: 9083-9089. 2011.
4. Araque, E.; Parra, C.; Freer, J.; Contreras, D.; Rodríguez, J.; Mendonc, R. and Baeza, J. *Evaluation of organosolv pretreatment for the conversion of Pinus radiata D. Don to ethanol.*, Enzyme and Microbial Technology, 43: p. 214-219. 2008.
5. Luo, L.; Voet, E. V. D. and Huppel, G. *Biorefining of lignocellulosic feedstock – technical, economic and environmental considerations*, Bioresource Technology, 101: p. 5023-5032. 2011.
6. Balat, M. *Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: a review*, Energy Conversion and Management, 52: p. 858-875. 2011.
7. Koo, B.; Kim, H.; Park, N.; Lee, S.; Yeo, H. and Choi, I. *Organosolv*

- pretreatment of Liriodendron tulipifera and simultaneous saccharification and fermentation for bioethanol production*, Biomass and bioenergy, 35: p. 1833-1840. 2011.
8. Park, N.; Kim, H.; Koo, B.; Yeo, H. and Choi, I. *Organosolv pretreatment with various catalysts for enhancing enzymatic hydrolysis of pitch pine (Pinus rigida)*, Bioresource Technology, 101: p. 7046-7053. 2010.
 9. Matsuura, M.; Sasaki, J. and Murao, S. *Studies on β -glucosidases from soybeans that hydrolyzed aidzyn and genistin: isolation and characterization of an isozyme*, Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 59: p. 1623-1627. 1995.
 10. Selig, M.; Weiss, N.; Ji, Y. *Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass: Laboratory Analytical Procedure*, National Renewable Energy Laboratory, NREL/TP-510- 42629. 2008.
 11. Stephen, J. D.; Mabee, W. E. and Saddler, J. N. *Will second-generation ethanol be able to compete with first-generation ethanol? Opportunities for cost reduction*, Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 6: p. 59-176. 2012.
 12. Araya, F.; Troncoso, E.; Mendonça, R. T.; Freer, J.; Rencoret, J. and Del Río, J. C. *Structural characteristics and distribution of lignin in eucalyptus globulus pulps obtained by a combined autohydrolysis/alkaline extraction process for enzymatic saccharification of cellulose*, J. Chil. Chem. Soc., 60 (Nº 2): p. 2954-2960. 2015.
 13. Sannigrahi, P.; Miller, S. J. and Ragauskas, A. J. *Effects of organosolv pretreatment and enzymatic hydrolysis on cellulose structure and crystallinity in Loblolly pine*, Carbohydrate Research, 345: p. 950-970. 2010.
 14. Lai, C.; Tu, M.; Shi, Z.; Zheng, K.; Olmos, L. G. and Yu, S. *Contrasting effects of hardwood and softwood organosolv lignins on enzymatic hydrolysis of lignocelluloses* Bioresource Technology, 163: p. 320-327. 2014.
 15. Amiri, H. and Karimi, K. *Integration of autohydrolysis and organosolv delignification for efficient acetone, butanol, and ethanol production and lignin recovery*, Ind. Eng. Chem. Res., 55 (17): p. 4836-4845. 2016.
 16. Heringer, N. B. *Minimizing ethanol concentration in organosolv pretreatment for the saccharification of loblolly pine*, Biological and Agricultural Engineering Undergraduate Honors Theses. Paper 41. 2016.
 17. Valenzuela, R.; Priebe, X.; Troncoso, E.; Ortega, I.; Parra, C. and Freer, J. *Fiber modifications by organosolv catalyzed with H₂SO₄ improves the SSF of Pinus radiata*, Industrial Crops and Products, 86: p. 79-86. 2016.
 18. Mesa, L.; González, E.; Cara, C.; González, M.; Castro, E. and Mussatto, S.I. *The effect of organosolv pretreatment variables on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse*, Chemical Engineering Journal, 168: p. 1157-1162. 2011.

Recibido: 27/06/2017.

Aprobado: 26/10/2017.

RECYT

Año 19 / N° 28 / 2017 / 43–47

Premezcla de fécula de mandioca para pastas. Características químicas y vida útil en anaquel

Premix of cassava starch for pastas. Chemical characteristics and shelf life

Laura B. Milde^{1,*}, Miriam E. Chade¹, Carla G. Silva¹, Emilce R. Zubreski¹

1- Módulo de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Av. Mariano Moreno N° 1375, Posadas, Misiones, Argentina.

* E-mail: lauramilde@hotmail.com

Resumen

El consumo de pastas es masivo, no existiendo variedad en premezclas para fideos libres de gluten. El objetivo del trabajo fue evaluar características químicas de fideos elaborados a partir de una premezcla para pastas con fécula de mandioca, harina de maíz, leche, sal y goma xántica; y la vida útil en anaquel de la misma. Para conocer la composición centesimal y la digestibilidad de proteínas se recurrió a elaboración y cocción de fideos; para la vida útil se empaquetaron bolsas de premezcla y analizaron durante 12 meses de almacenamiento a temperatura y humedad ambiente. Se obtuvieron valores elevados de cenizas, grasas, fibra dietaria total y carbohidratos, y bajos de proteínas; la digestibilidad de proteínas fue 92,72%. El ANOVA reportó diferencia significativa para humedad a los diferentes meses, con disminución en el tiempo; no se detectaron microorganismos de interés sanitario. La premezcla resultó apta para consumo humano según Código Alimentario Argentino.

Palabras clave: Premezcla; Fécula de mandioca; Almacenamiento; Control microbiológico, Química.

Abstract

Pasta consumption is massive and there is no variety in premixes for gluten-free noodles. The objective of this work was to evaluate the chemical characteristics of noodles made from a premix for cassava starch, corn meal, milk, salt and xanthan gum; and its shelf life. In order to know the centesimal composition and the digestibility of proteins we used elaborate and cooking noodles. Premix bags were packaged for the shelf life and analyzed for 12 months of storage at room temperature and humidity. High values of ash, fat, total dietary fiber and carbohydrates, and low protein levels were obtained; the protein digestibility was 92.72%. The ANOVA reported a significant difference for humidity at different months, with a decrease in time; no microorganisms of health interest were detected. The premix was suitable for human consumption according to Argentine Food Code.

Keywords: Premix; Cassava starch; Storage; Microbiological control; Chemistry.

Introducción

Los cambios en el estilo de vida y en los hábitos de los consumidores se traducen en requerimientos y necesidades nuevas. Actualmente las personas buscan rapidez en la elaboración de sus alimentos lo que se puede encontrar en premezclas, que facilitan la obtención del producto final, al evitar la compra de ingredientes por separado; las premezclas simplifican el trabajo eliminando errores de formulación y evitan la dosificación aleatoria de los ingredientes; además, todas las premezclas están preparadas con materias primas seleccionadas. El diseño de alimentos que cubran estas demandas conlleva una oportunidad para la industria alimentaria [1]. Cuanto mayor sea la capacidad de la industria en cubrir esos requerimientos, mayor será el éxito en el lanzamiento de nuevos productos. Los procesos

de desarrollo implican varios pasos: definición, prototipo y formulación del producto y el desarrollo de procesos para la optimización, evaluación de la vida útil en anaquel y escalado de la producción. Toda innovación otorga valor a una empresa, con aumento en la rentabilidad, la satisfacción de los clientes y la atracción por gusto o necesidad nutricional. El desarrollo de una línea de productos alimenticios sin gluten actualmente hizo incrementar aún más el mercado de las premezclas. El consumo de pastas es masivo y cosmopolita, no existiendo variedad en premezclas para fideos; una opción para su elaboración sería la fécula de mandioca (yuca) como materia prima sin gluten, de gran producción regional en Misiones, Argentina. La sostenibilidad del crecimiento industrial de la mandioca depende en gran medida de la diversificación y el agregado de valor, para aumentar la demanda interna y los mercados

de exportación [2].

La industria alimentaria concentra muchos esfuerzos tanto en el desarrollo de nuevos productos como en la consiguiente problemática que genera el desconocimiento de su vida útil, sobre todo, en los productos de larga vida. La vida útil de un alimento depende del método de procesado, envasado y condiciones de almacenamiento [3]. Las causas de su deterioro, se encuentran influenciadas por factores ambientales como: temperatura, humedad, reacciones con oxígeno, luz, además del tiempo en anaquel. Estos factores pueden originar modificaciones por degradación o por síntesis de nuevos compuestos, cambios en términos de oxidación, rancidez, lo que puede ocasionar disminución de propiedades sensoriales, pérdida de vitaminas, etc. El deterioro de los alimentos se puede producir además por el incremento de microorganismos [4]. La humedad superficial resultante de ligeros cambios en la humedad relativa causa agregados y apelmazamientos; una pequeña condensación superficial permitiría la proliferación de bacterias, mohos o levaduras. La presencia de microorganismos en los alimentos no representa necesariamente un peligro para el consumidor o una calidad inferior en estos productos, teniendo en cuenta que la gran mayoría contiene naturalmente levaduras, mohos, bacterias y otros microorganismos inocuos, mientras no superen los valores establecidos en el Código Alimentario Argentino (CAA) [5]. El objetivo de este trabajo fue evaluar características químicas de fideos elaborados a partir de una premezcla para pastas con fécula de mandioca, y la vida útil en anaquel de la misma.

Materiales y Métodos

Se trabajó con una premezcla para pastas de formulación propia, compuesta de fécula de mandioca (*Montecarlo*, Misiones), harina de maíz (*Indelma*, Santa Fe), en proporción 4:1; 7% de leche en polvo entera (*Ilolay*, Santa Fe); 0,5% de sal (*Dos Anclas*, San Luis) y 0,6% de goma xántica; sin conservantes. A partir de esta mezcla de ingredientes secos, se elaboraron fideos con el agregado de 3,5% de grasa vegetal (*Margadan*, Buenos Aires), huevo entero (31%) y agua hasta formar una masa homogénea que permitió su laminado y corte. Todos los ingredientes utilizados fueron libres de gluten.

El equipo de trabajo se desempeñó en el Laboratorio de Química Biológica II, en el Laboratorio de Micología “Dra. Martha Medvedeff” y en el laboratorio de Microbiología y Biotecnología de los Alimentos “Dr. Fernando Benassi” de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Para conocer la *composición centesimal* se recurrió a la elaboración y cocción de los fideos a partir de la premezcla, durante 5 min en agua hirviendo, tiempo óptimo de cocción determinado previamente; a continuación fueron escurridos y con ellos se realizaron las determinaciones basadas en los métodos oficiales de la *Official Methods of Analysis-*

AOAC international (AOAC) [6] para: cenizas, grasas, proteínas (Kjeldahl, utilizando el factor de conversión del nitrógeno a proteínas 6,25 para todas las muestras); fibra dietaria total, soluble e insoluble (N° 991.43) con el kit K-TDFR-200A *Megazyme* y contenido de humedad (N° 925.09); carbohidratos totales se determinó por diferencia. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Asimismo, para determinar la *digestibilidad de proteínas in vitro*, a fin de conocer la cantidad de proteína que podría ser digerida y por lo tanto absorbida y utilizada en el organismo, se recurrió a la elaboración y cocción de los fideos (5 min) a partir de la premezcla en estudio. Las muestras se incubaron con pepsina (*Biopack*) y pancreatina (p3292, *Sigma-Aldrich*) de acuerdo con el método descrito por Akeson y Stahmann [7], con modificaciones. Se incubaron 2 g de muestras de fideos con 0,03 g de pepsina en 15 mL de HCL 0,1N a 37 °C durante 3 h; luego las muestras se neutralizaron con NaOH 0,2N. A continuación se incubaron con 0,08 g de pancreatina en tampón fosfato 0,2 mol/L (pH 8) y después se añadió azida sódica 0,005 mol/L. Se procedió a incubar 24 h a 37 °C. Luego, se añadió 0,5 mL de ácido tricloroacético (*Biopack*) al 20% y centrifugó a 3000 r.p.m. durante 20-30 min. La concentración de proteína se estudió a partir del sobrenadante por el método Kjeldahl, en base seca. Se efectuaron tres repeticiones para conocer la digestibilidad de los fideos elaborados a partir de la premezcla en estudio.

Para determinar la *vida útil en anaquel* de la premezcla, sin agregado de conservantes, se realizó el control microbiológico y la determinación del contenido de humedad durante su almacenamiento, en un período de 12 meses. Fueron envasados 250 g del producto en bolsas de empaque laminado en polipropileno biorientado (BOPP), rotuladas y selladas con cinta adhesiva plastificada, que se mantuvieron en lugar fresco y seco, a temperatura ambiente que osciló entre 19-40 °C. Se procedió a la evaluación de la vida útil cada 4 meses, analizando una bolsa distinta cada período de estudio.

Humedad

Para determinar el contenido de humedad en la premezcla, se utilizó el método analítico N° 925.09 de la AOAC.

Análisis microbiológico

El análisis bacteriológico se realizó según requerimientos de la *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF), [8].

Se tomó una unidad analítica de 25 g de la premezcla en agua de peptona al 0,1% (Oxoid), (dilución 10^{-1}); se homogeneizó por 3 min. A partir de ésta, se prepararon 5 diluciones seriadas (1:10) en tubos con 9 mL de agua peptonada alcalina estéril para su respectiva siembra en los medios correspondientes a cada microorganismo

analizado. Cada procedimiento se realizó por triplicado. Se utilizó: medio de cultivo PCA (Plate Count Agar, Merk) para bacterias aerobias mesófilas totales, que se sembró en profundidad y se incubó a 37 °C durante 24 h. Para recuento de coliformes totales y fecales, se utilizó caldo Verde brillante (Britania) con campana Durham que se inoculó con 1 mL de cada dilución (por duplicado) e incubó a 35° C durante 24 h para coliformes totales y a 44,5 ± 1° C para coliformes fecales. Para confirmar la presencia de coliformes fecales se trabajó con agar VRBA (Violet Red Bile Agar, Merck) que se incubó a 44 ± 1° C durante 24 y 48 h. Para la determinación de *Escherichia coli* se sembró en caldo EC (*Escherichia coli*, Britania), se incubó 24-48 h a 45 ± 5 °C y se buscó detectar producción de gas. Para detectar *Staphylococcus aureus* se utilizó agar Baird Parker (Britania), que se incubó a 35-37° C durante 24-48 h. Para *Salmonella spp.* se sembró en agar Salmonella Shigella (Britania), con estriado en superficie que se incubó durante 24-48 h, a 37° C.

Para el recuento de mohos y levaduras se trabajó según normas ISO 7218/2007 del *Microbiology of food and animal feeding stuffs* [9].

Se pesaron 10 g de la premezcla, diluyendo en 90 mL de caldo agua peptonada al 0,1% (dilución 10⁻¹) (Merk); se homogeneizó durante 3 min. A partir de esta suspensión se realizaron las diluciones decimales: 1 mL de la suspensión inicial se diluyó en 9 mL de diluyente (dilución 10⁻²). Se procedió de igual manera hasta dilución 10⁻⁴. Se sembró cada dilución según método de dispersión en superficie con espátula de Drigalsky, en AGS (agar glucosado de Sabouraud, Merk), y en YGC (agar extracto de levadura glucosa cloranfenicol, Merk), por duplicado. Las placas se incubaron a 25 ± 1° C durante 5 a 7 días.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos en las determinaciones de composición química y humedad fueron analizados utilizando estadísticos descriptivos de media y desviación estándar; y análisis de varianza (ANOVA) por medio del software “Statgraphics plus 5.1”, para establecer la existencia de diferencias significativas entre las muestras evaluadas, con un nivel de confianza del 95%. Los resultados del análisis microbiológico fueron analizados utilizando estadísticos descriptivos de media.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se presenta la **composición centesimal** obtenida del análisis de los fideos elaborados a partir de la premezcla, valores medios y desvíos estándares.

Tabla 1: Composición centesimal de fideos elaborados a base de fécula de mandioca listos para ser consumidos, valores medios y desvíos estándares

Determinaciones	Fideos
Humedad	72,1 ± 0,2%
Proteínas*	6,9 ± 0,2%
Cenizas*	1,6 ± 0,1%
Fibra Dietaria total*	9,7 ± 0,2%
Grasas totales*	1,9 ± 0,4%
Carbohidratos totales* ¹	89,6 ± 1,1%
Carbohidratos disponibles* ²	79,9 ± 1,1%

¹Carbohidratos totales = 100 – (Proteínas + Grasas totales + Cenizas)

²Carbohidratos disponibles = Carbohidratos totales – Fibra dietaria total

% b.s.: porcentaje en base seca.

Giuberti y col [10], analizaron la composición química de fideos libres de gluten elaborados con harina de arroz; obtuvieron valores similares a los hallados en el presente trabajo en proteínas, sin embargo, valores muy inferiores en cenizas, fibra dietaria total y grasas. Cuando sustituyeron harina de arroz con harina de frijol a diferentes porcentajes, obtuvieron valores mayores en proteínas únicamente, con respecto a las pastas a base de fécula de mandioca analizadas. Giménez y Bassett [11], desarrollaron fideos no tradicionales, libres de gluten partiendo de harina de maíz (control), la que fue reemplazada con harina de habas (70:30) y con harina de quínoa (80:20). lo que les produjo un incremento en proteínas, fibra dietaria total y cenizas. Al comparar con los resultados obtenidos en el presente trabajo, sólo se observó diferencia en el contenido de proteínas.

Los valores de fibra dietaria total (FDT) de los fideos a base de fécula de mandioca estudiados, fueron mayores considerando que los autores mencionados anteriormente [10], [11], trabajaron con harina de frijol (8%), harina de habas (7,35%), harina de quínoa (3,53%) adicionados a harina de arroz y maíz, respectivamente, en proporciones similares a la estudiada. Una explicación para el valor de FDT obtenido surgió al considerar al almidón resistente (AR), como un tipo de fibra dietaria, que se forma durante la cocción [12].

Hager [13], en su tesis post-doctoral comparó la composición química de pastas libres de gluten comerciales de distintos países de Europa con la elaborada con sémola de trigo (Italia). De las 36 pastas consideradas, la mayoría, excepto en tres formulaciones, resultó ser pobre en FDT, al contrario de los resultados hallados en el presente estudio. Las muestras procedentes de Alemania resultaron con valores bajos en proteínas, excepto cuando analizaron pasta con mezcla de harinas de maíz y garbanzo cuyo valor es similar al obtenido en el trabajo que se presenta.

Los valores de cenizas totales determinados en el presente estudio son mayores que los encontrados por el equipo de estudio de Mirhosseini y col [14], quienes elaboraron pastas libres de gluten a base de fécula y harina

de maíz, y estudiaron el efecto del reemplazo con harina de calabazas y por otro lado, con harina de semillas Durian a distintas concentraciones.

Digestibilidad de proteínas *in vitro*

La digestibilidad de proteínas *in vitro* de los fideos elaborados de la premezcla a base de fécula de mandioca, fue 92,72%, valor similar al encontrado por Susanna y Prabhasankar [15] cuando analizó pastas de harina de trigo (91,34%) y pastas libres de gluten con goma xántica (95,18%).

Giménez y col [11] estudiaron fideos con harina de maíz, otros con harina de quínoa y con harina de habas, además de sus mezclas; al determinar la digestibilidad de los fideos *in vivo* mediante la utilización de ratas, demostraron que al mezclar harina de maíz con los otros ingredientes citados disminuía la digestibilidad de proteína de los fideos. Todos esos valores son menores que los obtenidos en la digestibilidad de proteínas *in vitro* en el presente estudio.

Martínez [16] elaboró pastas con harina de trigo sustituidas con harina de amaranto y otras con harina de soja, y estudió la digestibilidad de las proteínas *in vitro* en ambas muestras; sus resultados fueron significativamente menor (81,2-89,7%) para todos los niveles de sustitución respecto a lo obtenido en la presente formulación a base de fécula de mandioca.

Vida útil en anaquel

En la Tabla 2 se presentan los valores de humedad correspondientes a cada período de análisis:

Tabla 2: Valores medios y desvíos estándar de humedad según el período de almacenamiento en meses.

Período de almacenamiento (meses)	Humedad (%) ^a
0	9,03 ± 0,27 ^a
4	8,14±0,41 ^b
8	7,07±0,36 ^c
12	6,68±0,27 ^c

^aDiferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (p< 0,05).

El análisis estadístico ANOVA reportó diferencia significativa para humedad a los diferentes meses (p=0,0005), con disminución hasta los 12 meses de almacenamiento, no encontrándose diferencia significativa los últimos 4 meses estudiados. Uchechukwu-Agua y col [17] almacenaron harina de mandioca proveniente de dos cultivares, empaquetados en bolsas de papel marrón de manera separada, a diferentes temperaturas y humedades relativas (temperaturas alta y ambiente a humedad relativa baja y a temperatura baja con elevada humedad relativa) durante 12 semanas, y analizaron el comportamiento de la humedad de la harina cada 4 semanas. Sus resultados fueron similares a los obtenidos con la premezcla para pasta del actual trabajo, en cuanto a

la disminución de la humedad durante el almacenamiento y que las condiciones de temperatura ambiente o alta a baja humedad relativa fueron las aceptadas para mantener las bolsas en buen estado (a baja temperatura y alta humedad relativa, obtuvieron deterioro a las 4 semanas).

Los resultados obtenidos a partir de los análisis microbiológicos realizados se expresaron, para mohos y levaduras en unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g), en número más probable (NMP) en el caso de coliformes, y presencia o ausencia en el caso de los otros microorganismos estudiados. La Tabla 3 muestra los valores promedios del análisis microbiológico.

Tabla 3: Valores promedios del análisis microbiológico de la premezcla almacenada durante 12 meses.

Período de almacenamiento (meses)	Mohos y levaduras UFC/g	Aerobios Mesófilos Totales UFC/g	<i>E. coli</i>	Coliformes totales NMP/g	Coliformes fecales NMP/g	<i>Stafilococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.
0	4,1. 10 ³	8	Ausencia en 0,1 g	NMP < 3	Ausencia	Ausencia en 0,01 g	Ausencia en 25 g
4	7,72 .10 ²	6	Ausencia en 0,1 g	NMP < 3	Ausencia	Ausencia en 0,01 g	Ausencia en 25 g
8	1,10. 10 ²	5	Ausencia en 0,1 g	NMP < 3	Ausencia	Ausencia en 0,01 g	Ausencia en 25 g
12	4,3. 10 ³	4	Ausencia en 0,1 g	NMP < 3	Ausencia	Ausencia en 0,01 g	Ausencia en 25 g

El comportamiento, en cuanto al desarrollo de mohos y levaduras, se encontró directamente relacionado con la humedad hasta el 8vo mes, parámetro esencial para el desarrollo de microorganismos.

La premezcla para pastas presentó condiciones higiénicas satisfactorias en el almacenamiento, resultó apta para el consumo humano hasta 12 meses, considerando que los resultados obtenidos se ajustan a las normas microbiológicas, según el Capítulo XVII del CAA, Alimentos de régimen o dietéticos, Art 1340, inciso B de “Productos que deben cocerse antes del consumo”.

Huayna Chara [18], optimizó una formulación de premezcla con sustitución parcial de la harina de trigo por harina de tarwi y quínoa para la elaboración de queque, y determinó la vida útil de la premezcla. Evaluó la misma, a temperaturas de 10, 25 y 40 °C, durante un período de almacenamiento de 84 días. Durante este tiempo, no se produjo desarrollo de coliformes totales y la presencia de mohos mostró cambios respecto a la temperatura y tiempo de almacenamiento, alcanzando valores máximos a los 25 °C, temperatura óptima de desarrollo de hongos ambientales, no superando el límite máximo de aceptabilidad; resultados concordantes a los encontrados en el presente trabajo durante 12 meses de almacenamiento.

Conclusiones

Los fideos elaborados a partir de la premezcla con fécula de mandioca presentan alto contenido en FDT,

además de una excelente digestibilidad de sus proteínas, lo que convierte a la presente formulación en un producto de interés para la industria alimentaria, como alimento saludable. Se manifiesta como una excelente alternativa para el mercado alimentario dirigido a la población en general y en especial, a personas celíacas.

La premezcla para pastas, presentó características microbiológicas aptas durante el período de 12 meses de almacenamiento aun cuando la misma fue almacenada en anaquel a temperatura de despensa sin ningún tipo de conservantes.

La premezcla aporta valor agregado a la fécula de mandioca y contribuye a la agroeconomía regional.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Misiones (UNaM), el financiamiento del proyecto de investigación: “Premezcla para producción de pastas libres de gluten. Validación bioquímica y tecnológica”, que dio lugar a este trabajo. A las prestaciones técnicas de los integrantes del Proyecto: Ingeniera en Alimentos Chigal, Paola S., Especialista en Bioquímica Clínica Acuña, María C. y alumna de la Carrera Bioquímica Chiola Zayas, María O., para poner a punto la prueba de digestibilidad de proteínas.

Bibliografía

- Hernandez-Nava, R.G.; Berrios, J. De J.; Pan, J.; Osorio-Díaz, P. and Bello-Pérez, L.A. *Development and Characterization of spaghetti with High Resistant Starch Content Supplemented with Banana Starch*. Food Science and Technology International; 15(1); p. 73-78. 2009.
- Cerda Ramírez, N.V. *Competitividad de los productos agrícolas no tradicionales 2009-2013*. Revista Electrónica de Investigación en Ciencias Económicas “Abriendo Camino al Conocimiento”, Facultad de Ciencias Económicas, UNAN-Managua REICE ISSN: 2308 – 782X; 3 (5): p. 51-78. 2015.
- Kilcast, D. and Subramanian, P. *The stability and shelf-life of food*. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. p. 340. 2000.
- Collar, C.; León, A.E. and Rosell, C.M. *Efecto de la formulación sobre la conservación de los productos de panificación. Alternativas tecnológicas para la elaboración y la conservación de productos panificados*. Ed. Universidad Nacional de Córdoba. ISBN: 978- 950-33-0739-7. p. 235-262. 2009.
- Código Alimentario Argentino. Capítulo XVII del CAA, Alimentos de régimen o dietéticos, Art 1340, inciso B de “Productos que deben cocerse antes del consumo”. 2008.
- AOAC Official Methods of Analysis-AOAC international. 1995. En <http://www.worldcat.org/title/official-methods-of-analysis-of-aoac-international/oclc/421897987>.
- Akeson, W. R. and Stahmann, M. A. A. *Pepsin Pancreatin Digest Index of Protein Quality Evaluation*. J. Nutrition, 83: p. 257-261. 1964. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), 2000.
- Microbiology of food and animal feeding stuffs*. General requirements and guidance for microbiological examinations, ISO 7218/2007.
- Giuberti, G.; Gallo, A.; Cerioli, C.; Fortunati, P. and Masoero, F. *Cooking quality and starch digestibility of gluten free pasta using new bean flour*. Food Chemistry; 175(1): p. 43-49. 2009.
- Giménez, M. A.; Bassett, N.; Lobo, M. and Sammán N. *Fideos libres de gluten elaborados con harinas no tradicionales: características nutricionales y sensoriales*. Diaeta (B.Aires) ISSN 0328-1310, 31 (144): p.19-23. 2013.
- Tovar, J.; Bello-Pérez, L. A. and Osorio Díaz, V. *Almidón resistente: caracterización y análisis*. Carbohidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos. Lajolo, FM, y E. Wenzel de Menezes (eds). USP Sao Paulo, Brasil. 2006.
- Hager, A.S. *Cereal products for specific dietary requirements*. Evaluation and improvement of technological and nutritional properties of gluten free raw materials and end products. PhD Thesis, University College Cork. 2013.
- Mirhosseini, H.; Abdul Rashid, N.; Amid, B., Cheong; K., Kazemi, M. and Zulkurnain, M. *Effect of partial replacement of corn flour with durian seed flour and pumpkin flour on cooking yield, texture properties, and sensory attributes of gluten free pasta*. Food Science and Technology; 63: p. 184 -190. 2015.
- Susanna, S. and Prabhasankar, P. *A study on development of Gluten free pasta and its biochemical and immunological validation*. LWT Food Science and Technology. Elsevier. 50(2): p. 613-621. 2013.
- Martínez, C.S. *Utilización de pastas como alimentos funcionales*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas. 2010.
- Uchechukwu-Agua, A. D.; Caleb, O. J.; Manley, M. and Opara, U.I. *Effects of storage conditions and duration on physicochemical and microbial quality of the flour of two cassava cultivars (TME 419 and UMUCASS 36)*. CyTA - Journal of Food. ISSN: 1947-6337. DOI: 10.1080/19476337.2015.1029524. 13(4): p. 635-645. 2015.
- Huayna Chara, C.D. *Optimización de formulación de premezcla para la elaboración de queque con sustitución parcial de harina de tarwi*. Tesis de Grado. Universidad Nacional del altiplano. Facultad de Ciencias agrarias. Perú. 2016.

Recibido: 04/09/2017.

Aprobado: 31/10/2017.

RECYT

Año 19 / N° 28 / 2017 / 48–56

Sistema informático web para el fortalecimiento de la participación social activa

Web computer system for the strengthening of active social participation

Christian R. Caicedo^{1,*}, Kleber A. Alvarez², Roberto W. Acuña³

1- Universidad Estatal del Sur de Manabí, Carrera Ingeniería en Computación y Redes, Comisión de Investigación de Carrera, Facultad Ciencias Técnicas, Investigador Acreditado Senescyt REG-INV-16-01626, Actualmente cursando el Doctorado en Gestión de la Tecnología y la Innovación, Universidad Pontificia Bolivariana, Grupo de Investigación GTI, Colombia, Medellín, Becario Senescyt ARSEQ-BEC-008857-2016, Km ½ vía Universitaria, Jipijapa, Manabí, Ecuador; 2- Universidad Estatal del Sur de Manabí, Carrera Ingeniería en Computación y Redes, Facultad Ciencias Técnicas, Km ½ vía Universitaria, Jipijapa, Manabí, Ecuador; 3- Universidad Estatal del Sur de Manabí, Facultad Ciencias Técnicas, Carrera Ingeniería en Computación y Redes, Investigador Acreditado Senescyt REG-INV-16-01402, Actualmente cursando el Doctorado en Ingeniería Informática en la Pontificia Universidad Católica de Perú, Becario Senescyt 065-CIBAE-2015, Km ½ vía Universitaria, Jipijapa, Manabí, Ecuador.

* E-mail: christiancaicedoplua@hotmail.com

Resumen

El objeto del trabajo presentado fue la determinación de un modelo de sistema informático web de comunicación virtual basado en un paradigma de programación para el desarrollo local. Se identificaron medios informáticos a utilizar, se estructuró un sistema de gestión de procesamiento de datos y se desarrolló un software on line para la recolección de información e interacción con los ciudadanos. El mismo integró herramientas interactivas a través de la aplicación de tecnologías emergentes lo que permitió fortalecer la participación social activa en el cantón Puerto López. Basado en los resultados de la investigación se concluye que la aplicación de la Tecnología de la información y comunicación por medio de un foro electrónico digital permitió fortalecer la democracia, generando un enfoque axiomático en los procesos de orden público y la toma de decisiones de competencias gubernamentales, promoviendo y cumpliendo así con el objetivo tres del Plan Nacional del Buen Vivir de acuerdo a la Constitución de la República del Ecuador.

Palabras clave: Sistema informático web; tecnologías emergentes; información; participación social y foro electrónico digital

Abstract

The aim of this research study was the determine a web computer model of virtual communication based on a paradigm of programming for local development. Computerized media were identified, a data processing management system was structured and an online software was developed to collect information and interact with citizens. It integrated interactive tools through the application of emerging technologies, which allowed to strengthen active social participation in the canton of Puerto López. Based on the results of the research, it is concluded that the application of Information and Communication Technology through a digital electronic forum allows the strengthening of democracy, generating an axiomatic approach in the processes of public order and the decision making of governmental competencies, promoting and complying with the objective three of the National Plan of Good Living according to the Constitution of the Republic of Ecuador.

Key words: Web computer system; emerging technologies; information; social participation and digital electronic forum

Introducción

El final del siglo XX y el principio del siglo XXI dio inicio a la ya conocida era de la información, donde los datos y las ideas tomaron una destacada importancia, se volvieron parte de los procesos diarios que realizan las

personas, ya que hacen más competitiva la coetaneidad social. La informática se vuelve multidisciplinar aportando grandes beneficios a un considerable número de doctrinas, que hoy más que antes, gracias al surgimiento de tecnologías emergentes conocidas como nuevas tecnologías de la información y comunicación (NTIC), provocan cambios y

mejoras graduales impensables en su momento.

De tal forma que la revolución tecnológica, centrada en torno a la información, transformó nuestro modo de pensar, de producir, de consumir, de comerciar, de gestionar, de comunicar, de vivir [...]. Una cultura de la virtualidad real, construida en torno a un universo audiovisual cada vez más interactivo, ya que ha calado la representación mental y la comunicación en todas partes, integrando la diversidad de culturas en un hipertexto electrónico. (Castells, 2004, pág. 26). Lo que demuestra con notable evidencia, el cambio de época que se vive actualmente. Las tecnologías de la información y comunicación quizás sean el indicador más destacable de todos los tiempos, porque su valiosa importancia no depende del hecho de haber desatado una revolución tecnológica, sino que es considerada así por la forma en cómo surge dicha revolución y en cómo marca el progreso social tanto en lo local como en lo global (Montecinos, 2006).

Actualmente América Latina se ha convertido en el centro de enormes transformaciones en lo social, político y tecnológico, considerando el accionar entre el Estado y la ciudadanía como inherente; lo que ha logrado ser un indicador clave en el desarrollo regional. Para el caso de Ecuador esta tendencia se ha visto gradualmente promovida en los últimos años con la entrada en vigencia de muchas leyes como lo son: La Ley Orgánica del Consejo de Participación Ciudadana y Control Social, conjuntamente con el Plan Nacional del Buen Vivir, entre otras.

Los Gobiernos Autónomos Descentralizados municipales del país sufren las herencias dejadas por gobiernos centrales pasados y es por esa razón que de entre los 221 municipios que tiene Ecuador solo el 30% distribuyen de mejor manera el presupuesto asignado por el Estado para generar desarrollo y competitividad social. Para respaldar el acápite anterior se tiene que de acuerdo con un estudio realizado por La Pontificia Universidad Católica del Ecuador, con el objetivo de medir el desempeño y distribución del presupuesto de los gobiernos seccionales del país se destaca que: “Al construir el índice se elaboró un ranking de desempeño de los 202 municipios analizados, donde 22 municipios presentan desempeño sobresaliente, 44 satisfactorio, 71 con desempeño medio, 61 con desempeño bajo y 4 municipios con desempeño crítico”. (Salgado, 2012). Pero dicho proceso fue posible debido a que todos los Gobiernos Autónomos Descentralizados municipales, que presentan un mayor desarrollo, comparten una acción en común que consiste directamente en la descentralización entendiéndose como un proceso permanente y obligatorio de integración, involucra la actividad pública y privada en todas sus modalidades, es también participativa: no excluye a nadie por el contrario el proceso requiere que participen colectivamente la mayoría de los ciudadanos (Keese, 2006).

De tal forma el Código Orgánico de Organización Territorial, Autonomía y Descentralización (COOTAD),

en su artículo 2, literal b y f, expresa que: “La democratización de la gestión del gobierno central y de los gobiernos autónomos descentralizados servirá para el fortalecimiento del impulso de la participación ciudadana en el desarrollo equitativo y sustentable del territorio” (Chugñay, 2016), de tal manera que actualmente “QuitoTech es el primer portal digital de habla hispana en el mundo, dentro de los diez que hay en el resto del planeta para el fortalecimiento social, este portal es para emprendedores apunta a convertir a Quito en una ‘Ciudad Digital’” (Cifuentes Ruiz, 2015). Para contextualizar este ejemplo se tiene que como medidas para promover la participación social y la descentralización, gobiernos como la alcaldía de Quito desarrollan y favorecen a quienes generan vías que acerquen a los ciudadanos en asuntos como la toma de decisiones y desarrollo urbano social. Una de éstas vías para materializar dicho objetivo permite generar soluciones informáticas que atiendan necesidades sociales, impulsando así el desarrollo de las ciudades digitales.

Desde esta premisa todas estas iniciativas buscan cambiar, mejorar o erradicar aquel modelo cerrado de gestión pública asumida desde siempre y que no ha demostrado ser la mejor elección para el desarrollo social, muchas de estas estimaciones se evidencian con la poca productividad y deficiente desarrollo logrado en la mayoría de los cantones nacionales, por sistemas estables de institucionalización y copropiedad pública para promover el control y actividad social en la acción gubernamental (Acuña Caicedo, 2017).

El cantón Puerto López es uno de los más jóvenes de la provincia de Manabí tomando como referencia que su cantonización apenas se efectuó en 1994, consta de dos cabeceras parroquiales Machalilla y Salango, la demografía del cantón se encuentra integrada por aproximadamente unos 20.451 habitantes, su economía se basa en el sector primario por lo que el desarrollo local crece y decrece en función de los efectos de dicho modelo. (Gobierno Autónomo Descentralizado Puerto López, 2014)

El Gobierno Autónomo Descentralizado municipal del cantón Puerto López es considerado el órgano clave para el desarrollo social, actualmente es consciente de que el progreso regional solo se logrará mediante la formulación de planes, políticas y proyectos que integren más la participación activa del ciudadano en asuntos de interés público y de toma de decisiones (Bozada, y otros, 2017).

Es por ello que en su Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial (PDyOT) emitido en 2014, establece que la ciudadanía juega un papel importante dentro de la institucionalidad, y es necesario buscar formas y vías que promuevan dicho accionar. Considerando éstas necesidades sociales resulta ideal hacer uso de las tecnologías de la información y comunicación para resolverlas, ya que el uso apropiado de las mismas es sinónimo de progreso en el siglo XXI.

Metodología

El sistema informático se realizó bajo el Modelo de gestión Open Government (Villoria, M., & Ramírez Alujas, Á., 2013), (Ruvalcaba, 2016), cuya metodología define tres fases llamadas análisis, diseño, desarrollo e implementación. Esto permitió visualizar el manejo de las TI en la gestión del Gobierno Autónomo Descentralizado – Puerto López, con el objeto de tener una ciudad digital de igual manera una estructura investigativa que abordó las siguientes etapas: 1) Identificación del problema; 2) Selección de la variable objetivo y sus valores; 3) Selección de las variables evidenciales y sus posibles valores; 4) Adquisición de la información relevante; 5) Selección de las herramientas de implementación; 6) Desarrollo y prueba del prototipo; 7) Desarrollo de subsistemas adicionales; 8) Implementación (Sandoval Yáñez, 2013).

Análisis

En esta fase se analizaron y caracterizaron diversos aspectos que demuestran la viabilidad de los múltiples beneficios que tiene la informática en las sociedades ya que, debido a la multidisciplinaria aplicación, resulta difícil atisbar las limitaciones de las TIC, sobre todo cuando surgen nuevas innovaciones para el beneficio social en busca del buen vivir.

Por ello la implementación de un sistema informático web en el Gobierno Autónomo Descentralizado permitió acercar a los ciudadanos desarrollando una sociedad digital, activa, participativa, informada e innovadora. *Puertodigital* es el nombre que se le ha proporcionado al proyecto en cuestión, el cual hace uso de internet para funcionar, tiene soporte para diversos sistemas operativos como: Windows, MacOS, Linux, Android, IOS, por tanto es perfectamente compatible tanto en ordenadores personales y de escritorio como en equipos smartphones de mediana y alta capacidad (Yejas, 2016). El sistema forma parte de una propuesta que logró una integración más completa entre la municipalidad y la ciudadanía especialmente para con los sectores más apartados, para que el regulador pueda procesar más eficientemente los requerimientos, denuncias, trámites, etc., mediante un entorno electrónico-digital fácil de utilizar y capaz de informar apropiadamente necesidades sociales (Macías Vázquez, 2013).

Diseño

En la etapa de diseño se utilizó un diagrama estructural para definir las diversas fases y actividades para el análisis, desarrollo e implementación del sistema informático que potencie al cantón Puerto López como una sociedad digital.

Fase 1: Análisis. La fase de análisis alude al objetivo específico número uno del proyecto de investigación que

consiste en: “Identificar medios informáticos que integren a la ciudadanía en los procesos de orden público”. Pero para identificar soluciones informáticas que se adapten a las necesidades sociales se debe partir de un análisis concreto del sector a investigar, que se encuentra delimitado por la cabecera cantonal de Puerto López (Perera & Cuevas, 2003).

Dicho análisis permitió integrar la primera etapa del proyecto que consistió en la identificación de la existencia de necesidades reales a resolver, para ello la etapa de identificación se compone de los siguientes procesos: 1) **Conocer la opinión social:** se desarrolló un proceso cuantitativo basado en encuestas como una técnica eficaz para recolección de datos; 2) **Conocer la opinión gubernamental:** basa su esencia en una investigación cualitativa ya que permitió medir el grado de subjetividad, es decir, la afinidad y el interés que tiene la institución municipal por implementar y promover el uso de herramientas informáticas orientadas al beneficio social. Este proceso hizo uso de la entrevista como técnica para la obtención de datos; 3) **Identificar una solución informática:** este proceso puede entenderse como el resultado de los dos anteriores, ya que mediante el análisis obtenido por los datos recabados tanto por encuestas, como por entrevistas y por una observación sistemática del problema en cuestión se ideó una solución informática adaptada a dicha realidad, atendiendo a las necesidades en base a lo previsto en la investigación de campo (Ardila, 2013).

De acuerdo con los resultados en su fase de análisis se logró determinar en primera instancia la viabilidad de proyecto, ya que en base a un conjunto de datos recabados en la localidad y comparados con las medidas desarrolladas en el marco nacional y extranjero orientada al impulso de la participación social, resulta conveniente el desarrollo de una solución informática orientada para tal efecto.

Fase 2: Desarrollo. La segunda consistió en el desarrollo del proyecto, que hace referencia al objetivo específico número dos: “Estructurar un modelo de gestión informática para el fortalecimiento de la participación social”. Para dicha estructuración se incluyeron los siguientes procesos en el desarrollo de la presente etapa: 1) **Tabular datos:** la tabulación de datos cuantificables en tablas más ordenadas resultó indispensable para conseguir un esquema representativo y legible de lo que se estudió, analizó y resolvió. Este paso se encuentra estrechamente vinculado a los procesos de la fase anterior ya que depende de ellos para poder generar resultados interpretables; 2) **Interpretar resultados:** consistió en generar ideas a partir de un análisis altamente crítico de todos aquellos datos recopilados y agrupados por tablas, estos datos demostraron de manera concreta la realidad social del cantón Puerto López, y a partir de dichas ideas se lograron soluciones integrales orientadas en atender verdaderas necesidades a través del uso de la informática; 3) **Desarrollar un modelo de gestión informática:**

solo luego de una adecuada tabulación e interpretación de resultados se desarrolló un nuevo modelo de gestión que ayude al Gobierno Autónomo Descentralizado municipal a vincularse más con la sociedad civil, permitiendo una comunicación bilateral, que conozca sucesos que ocurren diariamente en la localidad, atiendan sus requerimientos, etc., y así lograr una sociedad más participativa e integrada. La CEPAL a través de *Alejandra Naser y Gastón Concha*, dejan a disposición de las sociedades un estudio que identifica el rol que la informática aporta en lo referente a la gestión del ahora conocido Gobierno Electrónico (*figura 2*), el cual se considera un medio y no el fin de un modelo de gestión aplicado al desarrollo social, que busca una sociedad más integrada, participativa e investigadora, dejando a disposición de la sociedad civil las TIC como medios de innovación (Lirios, 2015).

“El Gobierno Electrónico es la transformación de todo el gobierno como un cambio de paradigma en la gestión gubernamental, es un concepto de gestión que fusiona la utilización intensiva de las TIC con modalidades de gestión, planificación y administración, como una nueva forma de gobierno.” (Ruvalcaba, 2016)

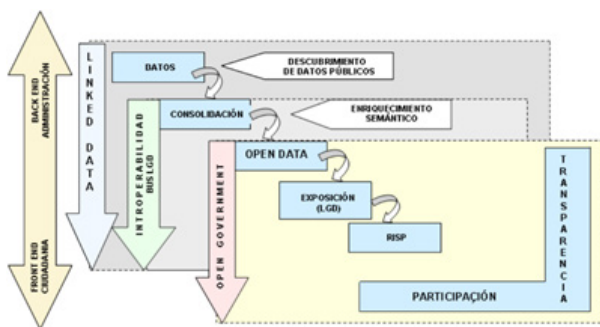


Figura 2: Modelo de gestión Open Government
Fuente: “Centro Tecnológico especializado en TIC” (CEPAL, 2011).

La Figura 2 permite analizar que para llegar a la colaboración y, antes, la participación, es necesario en primer lugar impulsar distintos conceptos como: datos públicos, interoperabilidad, semántica, opendata hasta el concepto RISP (Reutilización de Información del Sector Público). Un modelo conceptual interesante para entender cómo se llega al Open Government y también para visualizar hasta donde interviene el Estado para que sea la ciudadanía la que continúe. (Ruvalcaba, 2016)

Fase 3: Implementación. La tercera fase estuvo compuesta por la etapa más completa del proyecto, hace referencia al objetivo específico número tres del presente estudio que consiste en: “El desarrolló un software on line para la recolección de información e interacción con los ciudadanos”. La fase de desarrollo e implementación hace uso de los resultados expuestos por todos los procesos anteriores para poder constituirse. Además representó a cada uno de los objetivos específicos planteados en la propuesta

del proyecto de investigación, generando así los siguientes procesos: **1) Determinar la capacidad del Hosting:** uno de los aspectos más importantes para lograr que el proyecto funcione de forma esperada recayó en un adecuado servicio de alojamiento, por ello en la (tabla 1) se lista una serie de características que el hosting deberá cumplir antes de ser considerado apropiado para su adquisición:

Tabla 1: Características recomendadas del Hosting

Características recomendadas para el servicio de alojamiento (HOSTING)	
Espacio en disco	Ilimitado
Transferencia de datos por mes	Ilimitado
Tamaño límite por archivo	15MB
Panel de control	Acceso total
Base de datos	Con soporte MySQL
Soporte de hosting	24/7 profesional
Scanner de virus	Si
Copias de seguridad	Si – periódicas
PHP	Si
Seguridad de la capa de transporte (SSL)	Si
Capa de puertos seguros (SSL)	Si
Sistema Operativo	Linux

2) Generar GUI amigables: una medida significativa en la concepción del proyecto es el hecho de desarrollar un sistema informático con interfaces gráficas de usuario suficientemente amigables como para generar un entorno lúdico y profesional, favoreciendo así su uso y su fácil asimilación en cuanto a la interacción con el sistema, de modo que existió cronológicamente una concurrencia cada vez mayor de usuarios activos. **3) Desarrollar pruebas de operatividad:** que el sistema funcione en el 100% de su capacidad es una situación que se debe garantizar, es por ello que antes de lograr su implementación resultó preciso la ejecución de varias pruebas que confirmó su adecuado funcionamiento, tanto en back-end, como en el front-end a nivel local y externo, estas pruebas fueron ejecutadas bajo Nibble, Woopra y Charbeat.

El sistema informático se encuentra construido bajo una serie de tecnologías web, las cuales brindan funciones muy específicas para su desarrollo, de acuerdo con ello se las han agrupado en tecnologías básicas, gráficas, de scripting y de base de datos que corresponden al modelo de infraestructura LAMP (Cobo, 2005):

Dentro de las tecnologías básicas se pueden considerar las siguientes: **1) HTML:** para el desarrollo del proyecto se ha incorporado html en su quinta versión, lo que permitió generar una estructura adecuada para el sitio, debido a la incorporación de nuevas características y elementos que permitieron trabajar el backbone del sitio web de una manera más limpia y a la vanguardia de sitios web modernos. **2) CSS:** las hojas de estilos en cascada aportan toda la elegancia del sitio web en cuanto a su maquetación,

el proyecto en cuestión hizo uso de la tercera versión de ésta tecnología, ya que por sus características resultó ideal para generar interfaces adaptables mediante la inclusión de media query, la misma que a partir de una serie de parámetros y valores logró que los sitios web se adapten en función de las dimensiones de pantalla de los dispositivos.

En el caso de las tecnologías gráficas se trabajó con las siguientes: **3) SVG:** los gráficos vectoriales redimensionales forman parte de un concepto extremadamente importante dentro del proyecto, ya que debido a su amplia utilidad en cuanto a su escalabilidad a diferencia de archivos multimedia rasterizados, los contenidos vectoriales no se pixelan por lo que dan un mayor contraste y calidad en los objetos. **4) CANVAS:** componente nativo de html5 que permitió desarrollar gráficos vectoriales ligeros, animados y ajustables a través de coordenadas, el proyecto incluyó un conjunto de scriptings que se encargaron de gestionar las gráficas estadísticas a través de CANVAS. Como tecnologías de scripting se trabajó con: **1) PHP:** permitió la interacción del lado del servidor. Para el desarrollo del proyecto se ha hecho uso de la séptima versión del lenguaje PHP, su implementación resultó altamente importante ya que gracias al uso de ésta tecnología el proyecto adquirió dinamismo en cuanto a la administración de datos y directorios procedentes de bases de datos y folders de la unidad de disco rígido del servidor respectivamente: **2) JavaScript:** lenguaje interpretado que aporta toda la funcionalidad que un sistema informático web requiere para ser dinámico, el proyecto incluyó la versión 1.8.5 del lenguaje que es ampliamente usado para realizar validaciones, animaciones, control del DOM del sitio web, etc.: **3) AJAX:** cuya técnica asíncrona basada en JavaScript permitió desarrollar interactividad a tiempo real. Esta tecnología ha sido ampliamente usada dentro del proyecto para casi todas las funciones ya que gracias a ella el document object model (DOM) puede ser modificado sin que el sitio web recargue completamente su interfaz para realizar alguna función. En lo referente a base de datos se trabajó con: **1) MySQL:** que permitió almacenar toda la información que el usuario generó, para la realización del proyecto se ha hecho uso de la quinta versión del gestor de base de datos MySQL, debido a su robustez y eficiencia se ha incluido su uso en el proyecto en cuestión, la base de datos constó de cinco tablas y un total de 44 campos que almacenan los registros y devuelven información en base a las peticiones generadas por el sistema (Guerrero, 2010).

Entre otras tecnologías utilizadas tenemos: **1) Twitter bootstrap:** para el desarrollo del Font-end del proyecto se ha implementado bootstrap en su tercera versión, debido al concepto mobile first es altamente eficiente en lo que respecta a interfaces amigables y adaptables para diferentes dispositivos; **2) Librería JQuery:** es usada para simplificar diferentes tareas y actividades de propósito específico en cuanto a animaciones, el proyecto hace uso de la versión 1.11, que tiene notables mejoras en cuanto a rendimiento y

compilación de fallos, por lo tanto jquery es ampliamente usada para dotar de interactividad y animación profesional al sistema informático web.

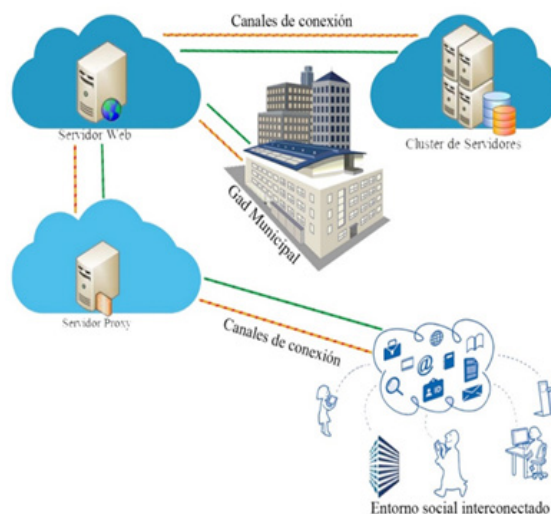


Figura 3: Esquema de implementación (not outsourcing)

La Figura 3 muestra el esquema que se utilizó para la implementación del sistema informático web sin hacer uso de la externalización de datos, a través de dicho esquema fue posible tener una idea clara sobre el funcionamiento del sitio, dicho funcionamiento constó de tres partes principales en cuanto a la infraestructura de interconexión de la plataforma, la cual se encuentra condicionada por tres estaciones de trabajos: **1) Clúster de servidores de BD:** debido a los múltiples fallos que pueden sufrir los equipos individualmente, resultó recomendable que la información generada por el sistema tenga un modelo de replicación de información automática y segura, es por ello que se consideró apropiada la implementación de servicios de alta disponibilidad, que permita al sistema, a pesar de sufrir por alguna razón daños físicos en sus equipos de bases de datos, seguir trabajando de manera habitual gracias al funcionamiento de un modelo de replicación de datos eficiente: **2) Servidor web:** el proyecto trabaja bajo el servidor web Apache en su versión 2.4, debido a que es uno de los servidores web más robustos, eficaces y populares. La ventaja de éste tipo de servidor es que constituye una pieza fundamental dentro de la infraestructura lamp, debido a su alta compatibilidad con las tecnologías implementadas, además de ser open source y multiplataforma: **3) Servidor proxy:** se lo utilizó debido a su gran utilidad. En cuanto al control de navegación y seguridad resulta recomendable asociar al proyecto un servidor proxy que permita mejorar la velocidad de navegación gracias al caché proxy, evitar ataques externos como la indexación de contenidos, controlar el tráfico web vía http y ftp, etc.

En cuanto al funcionamiento operacional distribuido para el público, el sistema web permitió la asociación de dispositivos móviles de mediana y alta capacidad así como de equipos de bajo rendimiento que puedan hacer

uso de un navegador web compatible con webkit para resolver nombres de dominios, estos equipos pueden ser smartphones, notebook, ordenadores de escritorio, entre otros. El modo de operación de los servicios consistió en recabar la información emitida por los usuarios para luego procesarla por el servidor proxy y gestionarla por el servidor web para posteriormente almacenarla en las bases de datos que estarán administradas por el ente regulador competente (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del cantón Puerto López), articulando de esta manera un flujo de datos dentro de una red corporativa propiamente gestionada sin recurrir a la externalización de información.

Interfaces del sistema y funcionalidad



Figura 4: Interfaces del Sistema Web Multiplataforma

En la Figura 4 se visualiza el sistema web en dispositivos con diferentes sistemas operativos, dimensiones de pantallas y características, lo que demuestra que el sistema goza de una gran flexibilidad y adaptabilidad para con la mayoría de equipos informáticos comerciales, todo esto fue posible debido a que es multiplataforma y está basado en el diseño web adaptable, además de aprovechar al máximo el consumo de memoria lo que le permitió funcionar aún en dispositivos de gama baja.



Figura 5: Interfaces de apertura del Sistema Web

La Figura 5 se muestran las interfaces de apertura del sitio es decir aquellas que se cargan en el arranque del sistema. Estas interfaces estuvieron pensadas principalmente para informar al usuario sobre la funcionalidad y el alcance del mismo, además actúan como formulario de enlace para abrir el inicio de sesión y registro de nuevos usuarios al dar clic sobre el logo del programa.

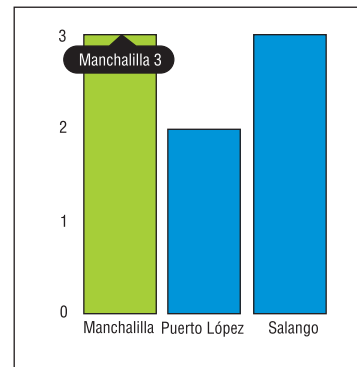


Figura 6: Gráficas estadísticas para visualizar las publicaciones según localidades

La Figura 6 muestra una interfaz únicamente disponible del lado administrativo. Los usuarios convencionales no tienen acceso a éste formulario, la consola muestra al administrador el número estimado de publicaciones posteadas en las tres principales localidades del cantón concernientes a la cabecera cantonal (Puerto López) y sus cabeceras parroquiales (Machalilla, Salango).

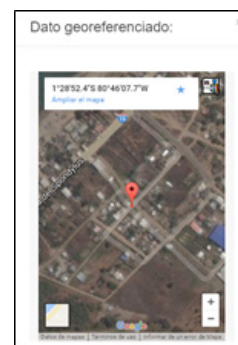


Figura 7: Mapa de Georreferenciación de acontecimientos publicados

En la Figura 7 se visualiza el mapa virtual para la georreferenciación de acontecimientos, el cual ofrece al usuario una vista rápida y precisa de los sucesos publicados mediante coordenadas GPS.

Pruebas de funcionamiento

En esta fase se verificó el funcionamiento del sistema informático de comunicación virtual basado en un paradigma de programación L.A.M.P., utilizando un sistema de evaluación de una aplicación web con participación pública según (Jeong, García-Moruno, Hernández-Blanco, & & Montero-Parejo, 2015), ensayos realizados a través de 1 Pc, un celular y una tablet para verificar que el sistema multiplataforma se adapte a diversos dispositivos tecnológicos.

Entrega

En esta etapa se entregó el sistema multiplataforma al Gobierno Autónomo Descentralizado – Puerto López, ma-

nual de usuario, manual técnico y metodología utilizada, cuya evidencia se puede encontrar en el siguiente enlace: <http://puertodigital.eu5.org/>

Resultados y Discusión

A continuación se enuncian los resultados relevantes de evaluar el sistema informático de comunicación virtual basado un paradigma de programación L.A.M.P. en la fase de prueba y funcionamiento.

De acuerdo al análisis realizado se determinó que los equipos informáticos clientes deberán cumplir con las siguientes especificaciones para poder interactuar con la plataforma: al menos 1GB de RAM, 2GB de espacio disponible en disco duro, navegador compatible con motor webkit o V8, disponer de GPS, para equipos smartphones (preferible GLONASS), al menos 64MB en gráficos (Ordenadores) o GPU Mali T-400 (smartphones), las especificaciones mínimas en lo referente al hosting son: Espacio cloud para disco virtual ilimitado, transferencia de datos por mes 100GB mínimo (Recomendable ilimitado), soporte de bases de datos MySQL, Acceso a panel de control, soporte para PHP, sistema operativo Linux o Unix, protección de password, soporte para SSL, y en cuanto al servicio de alojamiento se recomendó considerar la adquisición de certificados digitales y su incorporación en el sistema para ejecutar una navegación HTTPS, ya que la mayoría de navegadores requieren de ella para poder hacer uso del GPS de los dispositivos.

El sistema web es perfectamente operativo luego de ejecutarse completamente su instalación, es decir una vez publicado de forma on line está disponible ante la sociedad civil en formato 24/7/52 y podrá gestionar peticiones realizadas por cualquier usuario dentro y fuera de la localidad, el sistema web se ejecuta a través del motor V8 de Google y Webkit por lo que su funcionamiento estará condicionado a los sistemas operativos que brinden soporte a navegadores web con base en dichos motores y el sistema permitirá al GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO contar con un registro detallado y debidamente georreferenciado de aquellos lugares donde la ayuda resulta necesaria, los problemas sociales son claros y prioritarios, logrando así que el Gobierno Municipal actúe en beneficio de la ciudadanía.

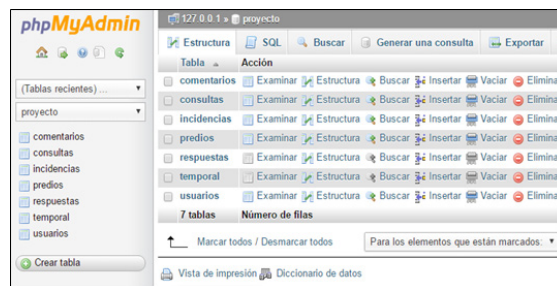


Figura 8: Pruebas del Sistema Multiplataforma

En la Figura 8 se presenta el momento de la respectiva prueba donde se verifica que el sistema permite adaptarse a diversos dispositivos.

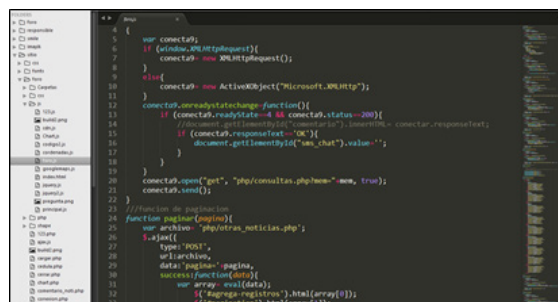


Figura 9: Editor de código SublimeText

La Figura 9 muestra el editor de código sublime text en su tercera versión utilizado en el proyecto de investigación como entorno de desarrollo, debido a que brinda soporte a un amplio número de lenguajes de programación de forma nativa evitando así el uso de diferentes entornos de trabajo.

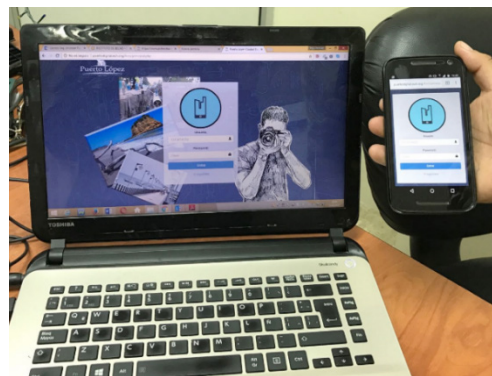


Figura 10: Bases de datos del sistema

En la Figura 10 se visualizan las tablas contenidas por la base de datos del proyecto que opera como banco de información para que la plataforma pueda funcionar, consta de siete tablas indispensables para la correcta operatividad del sistema web.

Por lo tanto debido a las múltiples necesidades que el Gobierno Municipal del Cantón Puerto López detallado en el Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial (PDyOT) emitido en 2014, en torno a la participación social en los procesos de orden públicos, se evidencian junto con los resultados obtenidos a partir de una serie de encuestas, el

alto nivel de insatisfacción en los ciudadanos, y la evidente necesidad del Gobierno Autónomo Descentralizado municipal por resolver dichas necesidades mediante la aplicación de diferentes medidas.

De tal forma que la presente propuesta de investigación trata de atender la insatisfacción comunitaria entorno a ésta problemática, ya que la mayoría de los ciudadanos creen no ser escuchados por el gobierno de turno debido al hecho de no saber cómo comunicarse con él, es por ello que resulta conveniente que el Gobierno Autónomo Descentralizado municipal del cantón Puerto López encuentre en las TI un medio para poder mejorar el actual nivel de participación social.

Todo esto es posible mediante el uso de las tecnologías de la información y comunicación ya que logran ofrecer una gran capacidad de adaptabilidad en diferentes sectores, aprovechando así el repunte en materia de telecomunicaciones por el cual Ecuador está atravesando, y lograr llevar al cantón Puerto López un proyecto innovador en materia informática que busca ser pionero en la zona sur de Manabí en lo que a sistemas de ciudades digitales se refiere (Plúa, Gonzalez, Castro, & Rodríguez, 2016).

Conclusiones

De los resultados mostrados en la aplicación del modelo de infraestructura de un servidor web, utilizando un paradigma de programación y tras concluir el estudio, diseño, desarrollo e implementación del proyecto de investigación se puede argumentar que: 1) el sistema informático web generó un doble beneficio: por un lado permitió el fortalecimiento de la participación ciudadana mediante la difusión de un canal de comunicación bilateral acreditado por el Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal, y por otro lado le permitió al Gobierno Autónomo Descentralizado cantonal ahorrar costes en la implementación y desarrollo de estrategias similares para atender la falta de inclusión social, problemática redactada en el PDyOT vigente; 2) se alcanzaron todos los objetivos tanto generales como específicos, ya que el proyecto fue desarrollado e implementado bajo la identificación, estructuración y creación de estrategias adaptadas a los requerimientos de la sociedad civil y el Gobierno Autónomo Descentralizado municipal respectivamente; 3) la hipótesis planteada se cumple ya que el sistema ha permitido elevar la recurrencia de personas que preguntan o notifican alguna necesidad en particular, especialmente para con los sectores más apartados a los que por su localización es difícil tener acceso.

Bibliografía

1. Acuña Caicedo, R. C. *Importancia de los entornos moocs para la divulgación de conocimientos académicos en entornos universitarios*. 3C Tecnología: glosas de innovación aplicadas a la pyme, 6(3), 33-47. 2017.

- doi: DOI: <<http://dx.doi.org/10.17993/3ctecno.2017.v6n3e23.33-47>>
2. Alvarado, V. *Ministerio de Turismo*. Obtenido de Ecuador sí será Potencia Turística”, Vinicio Alvarado en TMLA: <http://www.turismo.gob.ec/ecuador-si-sera-potencia-turistica-vinicio-alvarado-en-tmla/>. 2013.
3. Ardila, C. A. *Panorama de gestión cuantitativa de procesos de desarrollo de software en pequeñas organizaciones*. Sistemas & Telemática, 11(26). 2013.
4. Bieito, M. *Planificación estratégica del gobierno electrónico departamental en Uruguay*. Obtenido de CEPAL: openaccess.uoc.edu. 2016.
5. Bozada, S. P.; Pinczay, D. E.; Valencia, J. F.; Cercado, M. D.; Reyes, S. G., Vásquez, A. E.; & ... & Plúa, C. R. *Prácticas de innovación y gestión de la calidad en las organizaciones: Modelo de gestión organizacional para el fortalecimiento del desempeño profesional en servidores públicos*. España - Alicante: (Vol. 18). 3Ciencias. 2017.
6. Castells, M. *La era de la información. Economía, sociedad y cultura*. (S. XXI, Ed.) Ecuador : (Vol. 3). siglo XXI. 2004.
7. Chugñay, L. &. *El Código Orgánico de Organización Territorial, Autonomía y Descentralización y los bienes nacionales en el Ecuador*. (Bachelor's thesis, QUITO/UIDE/2016). 2016.
8. Cifuentes Ruiz, P. A. *Repensando la ciudad: estrategias de desarrollo urbano sostenible de las ciudades intermedias de América Latina*. Revista Nodo, 10(19), 73-83. 2015. Recuperado el 08 de 04 de 2016, de http://www.noticiasquito.gob.ec/Noticias/news_user_view/quitech_un_portal_que_hace_de_quito_una_ciudad_digital_y_emprendedora--16826
9. Cobo, Á. *Php y MySQL: En Á. Cobo, Tecnología para el desarrollo de aplicaciones web*. (pág. 189). Ediciones Díaz de Santos. 2005.
10. Gómez, O. S.-V.-S. *Ingeniería de Software e Ingeniería del Conocimiento: Reporte de las JIISIC-CEIS'2015*. . Revista Latinoamericana de Ingeniería de Software, 3(3), 111-116. 2015.
11. Guerrero, V. J. *Estudio de PHP y MySQL para el Desarrollo del Portal Web para el Municipio de Esmeraldas*. (Bachelor's thesis). 2010.
12. Jeong, J. S.; García-Moruno, L.; Hernández-Blanco, J. & Montero-Parejo, M. J. *Evaluación de una aplicación web con participación pública en la planificación espacial y toma de decisiones para la integración de construcciones rurales*. Informes de la Construcción, 67(539), 098. 2015.
13. Keese, J. R. *Decentralisation and NGO-municipal government collaboration in Ecuador*. . Development in Practice, 16(02), 114-127. Obtenido de Recuperado el 08 de 04 de 2016, de <http://www.ame.gob.ec/ame/index.php/component/content/category/11-institucion>
14. Lirios, C. G. *Educación e internet para el desarrollo local*. Revista de Comunicación de la SEECI, (36), 42-

67. 2015.
15. **Macías Vázquez, A. &.** *El Buen Vivir. Sumak Kawsay, una oportunidad para imaginar otros mundos (Reseña)*. Icaria. 2013.
16. **Martínez Vázquez, L.** *Exploración de las necesidades ocupacionales de las familias senegalesas en Galicia para la promoción de la inclusión social*. 2015. Obtenido de ruc.udc.es
17. **Montecinos, E.** *Descentralización y democracia en Chile: análisis sobre la participación ciudadana en el presupuesto participativo y el plan de desarrollo comunal*. . Revista de ciencia política (Santiago), 26(2), 191-208. 2006.
18. **Perera, M. V., & Cuevas, J. I.** *Sociedad de la información y cultura mediática*. Netbiblo. 2003.
19. **Plúa, C. R.; Gonzalez, A. D.; Castro, M. I. & Rodríguez, E. L.** *La universidad en el desarrollo del emprendimiento a través de una plataforma virtual en el CECADEL de la UNESUM-PAJAN*. 3C Tecnología, 5(4), 36-55. 2016.
20. **Ruvalcaba, E. A.** *Participación ciudadana en la era del Open Government*. Una mirada desde las publicaciones científicas. Paakat: Revista de Tecnología y Sociedad, 6(11). 2016. Obtenido de http://www.cepal.org/ilpes/noticias/paginas/3/54303/El_Gobierno_electronico_en_la_gestion_Publica.pdf
21. **Salgado, S.** *Construcción de un índice de desempeño municipal para el Ecuador, año 2008*. (Bachelor's thesis, Quito/Puce/2012).
22. **Sandoval Yáñez, C.** *Propuesta para implementar un sistema de gestión del conocimiento que apoye el diseño de un curso online*. Ingeniare. Revista chilena de ingeniería, 21(3), 457-471. Revista chilena de ingeniería, 21(3), 457-471. 2013.
23. **Torres Velandia, S. Á.; Aguilar Tamayo, M. F.; Girardo, S. & Villalobos Hernández, M.; M. Morelos** *¿ hacia una Sociedad del Conocimiento? consideraciones a partir del desarrollo de la ciencia, la educación superior y las TIC*. Revista electrónica de. Revista electrónica de investigación educativa, 14(2), 34-51. 2012.
24. **Villoria, M. & Ramírez Alujas, Á.** *Los modelos de gobierno electrónico y sus fases de desarrollo: Un análisis desde la teoría política*. Gestión y política pública, 22(SPE), 69-103. 2013.
25. **Yejas, D. A.** *Estrategias de marketing digital en la promoción de Marca Ciudad*. Revista EAN, (80), 59-72. 2016.

Recibido: 26/04/2017.

Aprobado: 31/10/2017.

RECYT

Año 19 / N° 28 / 2017 / 57–63

Implementación de entrevistas clínicas en la evaluación diagnóstica en una cátedra de portugués

The implementation of clinical interviews in the diagnostic evaluation in a portuguese class

Graciela C.Lombardo^{1, 2,*}, Marina E. Bulak¹, Alberto Gutiérrez¹, Mirta Rivera¹

1- Facultad de Ciencias Económicas, Universidad Nacional de Misiones, Km 7½, Miguel Lanús, Misiones, Argentina; 2- Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Félix de Azara 1552, CP 3300, Posadas, Misiones, Argentina

* E-mail: graciela.lombardo@gmail.com

Resumen

El propósito de esta publicación es mostrar la eficacia del uso de las entrevistas clínicas para llevar a cabo la evaluación diagnóstica inicial en una cátedra de portugués. La investigación exploratoria se efectuó durante el año 2016 en la asignatura Portugués I, perteneciente al plan de estudios de la carrera Secretariado Ejecutivo Universitario, de Puerto Iguazú, de la Facultad de Ciencias Económicas de la Universidad Nacional de Misiones, la que se dictó en el primer año de la carrera durante el segundo cuatrimestre del ciclo lectivo del año.

La implementación de esta herramienta metacognitiva permitió, al equipo docente, obtener información potente a fin de enmarcar la propuesta de enseñanza, fijar criterios de valoración de los aprendizajes logrados y establecer la existencia de concepciones alternativas a efectos de revertirlas.

Palabras clave: Portugués; Evaluación diagnóstica; Entrevistas clínicas.

Abstract

The aim of this publication is to show the efficacy of the use of clinical interviews to carry out diagnosis evaluation in a Portuguese Class. The exploratory research was conducted during the year 2016 in the subject Portuguese I, which is part of the curriculum of the Executive University Secretariat Career, in Puerto Iguazú, at the Faculty of Economic Sciences from Misiones National University; and was held during the second quarter of the year.

The implementation of this metacognitive tool allowed the teaching team to obtain powerful information to frame the teaching proposal, to set assessment criteria for the learning achieved and to establish the existence of alternative conceptions for the purpose of reversing them.

Key words: Portuguese; Diagnosis evaluation; Clinical interviews.

Introducción

La presente publicación corresponde al avance del Proyecto de Investigación “Beneficios de la lengua extranjera portugués en la inserción laboral y en el desempeño del egresado de Secretariado Ejecutivo Universitario en la localidad de Puerto Iguazú”, iniciado el año 2016 (Código 16/E177).

Se trabajó con alumnos cursantes de la asignatura Portugués I, del 1° año de la Carrera Secretariado Ejecutivo Universitario de la Facultad de Ciencias Económicas (FCE) de la Universidad Nacional de Misiones (UNaM).

El objetivo propuesto, correspondiente a esta etapa de investigación, fue evaluar la efectividad de la aplicación de las entrevistas clínicas integradas al proceso de evaluación diagnóstica en la asignatura.

A tal efecto, fue menester diseñar e implementar

entrevistas clínicas individuales para reconocer los conocimientos previos que posee el alumno, los que servirían de anclaje para la adquisición de los nuevos. La información recabada permitió, al equipo docente, trazar acciones para diseñar estrategias en beneficio de los aprendizajes de los estudiantes, teniendo en cuenta el diagnóstico inicial, producto de las entrevistas clínicas individuales. A tal fin, se implementaron actividades de manera acorde, adecuada y singular para ese grupo de alumnos.

Fundamentación

La evaluación

La actividad docente es una actividad cultural, social, humana, en la que se promueve la negociación de significados. En esta actividad se acomete la transmisión cultural de

contenidos que son construidos a partir del primer instante que comienzan a ser enseñados[1].

Estos no se ciñen únicamente a una suma de información de carácter científico-académico. Al tiempo que, en su enseñanza, subyacen prácticas, métodos, actitudes, destrezas, sentimientos, impresiones, etc., los que finalmente debe detentar el alumno y ser avalada, su fehaciente adquisición, por parte de la institución educativa [2].

En este proceso de transferencia y aplicación de conocimientos en situaciones ignotas se requiere de una actitud creativa, a efectos de propiciar que los alumnos resuelvan actividades novedosas, tendientes a generar nuevos conceptos en contextos distintos al del aprendizaje [3].

El desarrollo de competencias creativas presume: (a) Hacer frente a los acontecimientos afrontar situaciones imprevistas y tomar iniciativas, responder de manera pertinente y adecuada, ser responsable y autónomo, movilizar recursos; (b) capacidad de relación y de comunicación, aceptar trabajar conjuntamente con un objetivo común, manejo y destreza de las nuevas tecnologías, evaluar los efectos de las propias decisiones; y finalmente, (c) adoptar una lógica orientada hacia los demás, lo que implica: desarrollar capacidad de empatía, escuchar y comprender las necesidades del otro, autonomía y capacidad de iniciativa, búsqueda de soluciones adecuadas, entre otras [4].

Dado el valor que tiene la evaluación, en el proceso de enseñanza y aprendizaje, es menester diferenciar entre medir y evaluar. Esta confusión surge cuando el término evaluación, que es aplicado a la educación, se origina del término medición proveniente de la investigación experimental llevada a cabo en el campo de la psicología, más precisamente, a partir de los desarrollos en psicometría [5].

En general, cuando se alude a la evaluación en el ámbito académico suele decirse que es llevada a cabo “mediante un proceso” pero, contrario a esto, el docente concluye realizando el control y registro de los resultados, supuestamente objetivos, obtenidos de pruebas o exámenes parciales [1].

Cuando el docente evalúa no ha de limitarse a la calificación, al tiempo que debe promover que el alumno no se centre en el recuerdo y memorización de información, sino que debe evaluar capacidades cognitivas de orden superior [4].

“La evaluación se convierte entonces en un campo complejo y controvertido porque sirve tanto para acreditar y emitir juicios de valor como para diagnosticar, retroalimentar, reflexionar, regular y mejorar los aprendizajes” [6].

“Tres instancias de evaluación en el aula son consideradas relevantes por el sentido que cada una tiene y por su necesaria complementariedad práctica” [7]. Estas etapas son: **Diagnóstico inicial:** tiene como objetivo establecer y reconocer los saberes que han incorporado los alumnos en años previos para delinear la propuesta de enseñanza y repensar la práctica docente, para proponer actividades adecuadas a los conocimientos y herramientas disponibles

en la matriz cognoscitiva de los alumnos, y plantear adecuadamente los objetivos en función del grupo de alumnos.

Evaluación diagnóstica continua: su fin es recabar información sobre los saberes adquiridos por los alumnos durante el proceso de enseñanza y aprendizaje, a efectos de repensar la enseñanza, como también, establecer criterios tendientes a examinar los resultados de los aprendizajes de manera reflexiva y argumentada, para repensar la práctica docente.

Acreditación: en esta instancia, la atención se centra en la verificación de resultados para certificar y legitimar los conocimientos detentados ante la institución y la sociedad. [1].

Es fundamental, entonces, llevar a cabo antes, durante y al final del proceso de enseñanza y aprendizaje diagnósticos que reconozcan el nivel alcanzado por los estudiantes. Tales diagnósticos poseen un carácter formativo, ya que, si docentes y alumnos se informan del nivel alcanzado durante el proceso, las evaluaciones resultarán ser un medio potente para propender nuevos aprendizajes a través de las rectificaciones y ajustes realizados sobre la marcha del mismo. Al tiempo que permiten concentrarse en los aspectos conceptuales a efectos de fomentar la reflexión, eliminar la rutina y la tendencia a la memorización y al enciclopedismo. [1]

En tal sentido, es provechoso incorporar instrumentos de evaluación que posibiliten recabar información para el diseño de tareas de mayor complejidad acordes a los objetivos planteados y que permitan evaluar el proceso de aprendizaje. [8]

Resulta conveniente diseñar e implementar instrumentos de evaluación pues se constituyen en poderosas herramientas aliadas del docente. Pueden ser creados de manera rigurosamente estructurada, lo cual hacen prever todas o la mayoría de las formas de resolución, o de forma no estructurada, lo que posibilita al alumno dar diversas respuestas de acuerdo a la singularidad de su matriz de conocimientos. Entre los instrumentos de evaluación más conocidos y utilizados están: asociación libre y relaciones, dibujos e imágenes, uso de analogías, cuestionarios, mapas conceptuales, entrevistas clínicas, UVE heurística, etc. [1].

En particular, “[...] la entrevista clínica ha mostrado ser una herramienta poderosa a la hora de determinar el conocimiento previo de los alumnos o de verificar los resultados de nuestra instrucción” [9].

Entrevistas clínicas

Una herramienta útil, a los efectos establecidos en párrafos anteriores, es la entrevista clínica. Esta tiene sus antecedentes en trabajos de psicoanálisis realizados en el siglo XIX. La entrevista fue perfeccionada por Jean Piaget en la década del veinte del siglo pasado, en la cual se evaluaba la capacidad cognitiva de los niños y adolescentes [10].

[...] el profesor H. D. Novak, de la Universidad de Cornell, rescató la entrevista clínica, utilizada originalmente por Piaget, la adaptó con esta nueva finalidad y la utilizó ampliamente, tanto para determinar el conocimiento previo como para verificar los avances de los estudiantes a lo largo del proceso de instrucción. Entendemos como tal, el desarrollo o crecimiento de la estructura cognitiva de los estudiantes; es decir, lo que realmente debe ser el foco de máximo interés de la educación y del docente preocupado por sus estudiantes: el logro de aprendizajes significativos. La evidencia de que este tipo de aprendizaje sea el que realmente está ocurriendo, sólo se tendrá conocimiento la evolución de la estructura cognitiva del alumno en el área de conocimiento que se está impartiendo [9].

Las entrevistas clínicas representan una herramienta poderosa utilizada en investigación educativa. Mediante la implementación de estas herramientas metacognitivas pueden determinarse no solo las estructuras cognoscitivas de los educandos, sino que también preconcepciones y concepciones erróneas que puedan poseer y que son de difícil desarraigo [10].

El formato de la entrevista puede variar desde una entrevista altamente flexible (con tareas y preguntas que cambien de un estudiante a otro) hasta una entrevista estrictamente normalizada (con tareas y pautas de interrogación establecidas cuidadosamente), categoría esta última en que se encuadra la entrevista piagetiana. Las tareas y/o preguntas pueden variar dentro de márgenes estrechos o amplios, y los datos que se registran con los diferentes enfoques tienen utilidad para objetivos diferentes (para obtener conjuntos diferentes de enunciados). [...] Podríamos, por supuesto, elegir las tareas casi al azar y preguntar lo primero que se nos ocurra sobre el tema; pero, aunque quizás mantuviésemos una animada e interesante charla con el estudiante, tendríamos serias dificultades para convencer a los demás de cuáles eran los conocimientos y capacidades concretas que poseía el estudiante [11].

Es recomendable que las entrevistas se planifiquen con antelación, previendo el tipo de preguntas que se realizarán. De acuerdo a las preguntas y tareas que se lleven a cabo, las entrevistas pueden ser flexibles o de carácter más riguroso. Los resultados obtenidos de los registros en las entrevistas estarán en función del grado de flexibilidad de las preguntas formuladas y las actividades diseñadas. A mayor nivel de flexibilidad mayor es la posibilidad de determinar los conocimientos y competencias que poseen los alumnos, como así también estrategias de aprendizaje, formas de razonamiento, etc. [10].

De acuerdo al momento de la instrucción en el que sea desarrollada la entrevista, ésta servirá, o bien, como diagnóstico inicial, lo cual permitirá definir conceptos y actividades a llevar a cabo, o bien, como instrumento para el diagnóstico continuo, por permitir al educador evaluar los conocimientos adquiridos por los alumnos, además de reflexionar y repensar su práctica docente [10].

La lengua portuguesa

En la provincia de Misiones existe una pluralidad cultural mayormente influenciada por inmigrantes procedentes de Europa (Alemania, Polonia, Escandinavia, Rusia, Suecia, etc.), al tiempo de poseer nativos de la raza guaraní y de inmigrantes provenientes de la República Federativa de Brasil. Estas razones sumadas al hecho que esta provincia es un eslabón importante del MERCOSUR (Mercado Común del Sur) hacen reflexionar acerca de la necesidad de observar cómo estas situaciones contextuales (encuentro entre culturas, lenguaje, ideologías, etc.) influyen en lo cotidiano, en las decisiones comerciales, laborales y educativas. [12].

La Universidad no es ajena a esta realidad. En ella confluyen los actores que la integran, y en particular el docente a quien le cabe la responsabilidad moral de interrogarse cuál es la mejor manera de trasponer conocimiento científico que permita a los futuros profesionales adecuarse y superar las exigencias del medio. Los estudiantes esperan, en el proceso de adquisición de conocimiento de su disciplina, poder obtener las herramientas necesarias para abrirse camino en un mundo competitivo que les permitan desenvolverse con mayor eficacia.

Los actores de diferentes campos sociales sostienen que aprender otras lenguas y su cultura amplía la visión de mundo, con las consecuentes ventajas: entender que el mundo no es todo igual, que existen diversidades culturales que permiten desarrollar confianza en sus relaciones sociales porque mejora su interacción con el entorno, preparándolo para un futuro cada vez más competitivo [13].

En nuestro país se da otro fenómeno interesante, que refuerza el aprendizaje de una segunda lengua. Por nuestra ubicación geográfica somos vecinos de una de las potencias económicas del mundo y, tal vez, uno de los países con mayor proyección y crecimiento en los próximos años: Brasil. [...] Lo mejor y más importante para nosotros es que Brasil (por su proximidad geográfica y su afinidad cultural) será sin duda una referencia obligatoria para todos los argentinos en los próximos años.

[...] el portugués se ha convertido en un idioma de aprendizaje casi excluyente para todos aquellos que quieren hacer negocios, conseguir mejores trabajos o visitar las que para muchos son las mejores playas de la región [13].

La universidad promueve este tipo de desarrollo profesional y encontrándose en un lugar de fronteras geológicas y sociales es pertinente que ofrezca a sus futuros profesionales herramientas lingüística y culturales que faciliten el acercamiento e intervención en las mismas. Por ello incluye en los planes de estudios, de sus diversas carreras, lenguas extranjeras como el portugués y el inglés.

En toda la frontera de la provincia de Misiones con la República Federativa de Brasil, está presente el idioma portugués. La mayoría de los misioneros, habitantes en

esta región fronteriza, son descendientes de hasta cuatro generaciones anteriores con influencia de esta lengua, que está inmersa en la vida familiar y social, en el cual se genera el “portuñol”. El portuñol no es un dialecto estandarizado, sino una mezcla del portugués con el español, y por las interferencias del español se generan matices según el hablante, la situación vivida en el momento y el tema a ser tratado [14].

En este sentido, el portuñol hablado en la zona de frontera de la provincia de Misiones, es oral y no posee una historia o discurso escrito, no cuenta con normas para la escritura, es un sistema independiente y diferente al portugués o al español que tienen el status de lengua. En contra partida no sería posible la comunicación entre las personas que lo utilizan si no tuviera niveles de sistematización, estructura y reglas [15].

Metodología

El presente trabajo es un avance del Proyecto de Investigación “Beneficios de la lengua extranjera portugués en la inserción laboral y en el desempeño del egresado de Secretariado Ejecutivo Universitario en la localidad de Puerto Iguazú”, iniciado el año 2016 (Código 16/E177). La investigación tiene carácter exploratorio y descriptivo, y se enmarca en el Paradigma Hermenéutico o Interpretativo del campo socio educativo. Se tomó como referencia a los alumnos cursantes de la asignatura Portugués I, del 1° año de la Carrera Secretariado Ejecutivo Universitario de la Facultad de Ciencias Económicas (FCE) de la Universidad Nacional de Misiones (UNaM), la cual se dictó en el segundo cuatrimestre del ciclo lectivo 2015. Los instrumentos de análisis fueron los registros realizados por la totalidad de los miembros del equipo de cátedra durante las entrevistas clínicas individuales, llevadas a cabo el primer día de clases. Cuando se solicitó a los alumnos ser entrevistados, se les explicó los motivos y el alcance de las entrevistas. Inicialmente mostraron sorpresa ante esta práctica, hasta entonces, desconocida por ellos, pero accedieron gustosos al comprender que con su participación colaboraban en una investigación educativa llevada a cabo por sus profesores, los cuales pretendían realizar aportes positivos a la enseñanza y fundamentalmente a sus aprendizajes.

Cada uno de los jóvenes fue conducido individualmente a un gabinete, por un docente de la cátedra, para la implementación de la entrevista clínica. Estas tuvieron una duración entre 20 y 25 minutos, a fin de no exceder el tiempo recomendado para este tipo de actividades.

Teniendo en cuenta el sitio geográfico donde se dicta la mencionada carrera¹, los docentes presuponían que la mayoría de los cursantes contaban con algún conocimiento de la lengua portuguesa.

Para realizar la evaluación diagnóstica inicial los do-

centes formularon, en cada caso, una serie de preguntas, algunas de las cuales se enunciaron oralmente con el fin de ser respondidas de igual forma, en tanto que otras lo fueron a través de un cuestionario escrito, el cual debían completar en ese mismo momento. El propósito que se persiguió a través de las preguntas fue establecer si los jóvenes tenían, o no, algún conocimiento de la lengua portuguesa y en caso afirmativo, poder determinar el grado o nivel. En tal sentido se observó, el manejo de la gramática en la escritura y en la oralidad, como también la detección de palabras que puedan generar un doble sentido, tanto en esta instancia de diagnóstico inicial escrito como oral. Para lo cual, se tuvo en cuenta la fonética del idioma (pronunciación de las palabras), siendo esta una cuestión no menor dada la proximidad de la cultura brasilera a los estudiantes entrevistados.

Las entrevistas clínicas constaron de dos momentos, diagnóstico oral y diagnóstico escrito, cuyas preguntas y actividades obran en los Cuadros 1, 2, 3, 4, y 5. Cabe destacar que a aquellos alumnos que manifestaron no tener conocimiento alguno de la lengua portuguesa, sólo pudo formularse la primera pregunta del Cuadro 1, interrumpiéndose a partir de ese momento la entrevista clínica.

Cuadro 1: Diagnóstico oral

1. ¿Qué nivel piensa que tiene según su experiencia de aprendizaje con el idioma elegido? Le proponemos que siga estos breves pasos y consejos para realizar el diagnóstico: elegir solo uno de los tres niveles (básico, Intermedio o avanzado), es decir, el que crea que pueda resolver según su nivel de idioma.
2. A continuación le pedimos que, en la medida que pueda, responda las siguientes consignas que allí se encuentran:
 - 2.1. **Apresente-se oralmente e fale sobre a sua rotina, mencionando:**
 - a) Nome, sobrenome, idade, nacionalidade, local de nascimento, data de nascimento, profissão e estado civil. b) Sua rotina durante a semana e nos finais de semana. Atividades que realiza em lugares que frequenta. c) Mencione quais são suas atividades de lazer, quando e com quem as realiza.
 - 2.2. **Fale sobre alguma viagem que você tenha feito. Mencionando:**
 - a) destino, descrição do lugar; b) o que fez/ conheceu durante a viagem, atividades que realizou; c) roupas e acessórios que levou na mala; d) transporte utilizado; e) características da hospedagem; f) dê 3 dicas para alguém que vai viajar para este lugar.
 - 2.3. **Fale sobre o tema abaixo. Dê a sua opinião e argumente:**
 - a) Consumo na atualidade. Mencione: I) o que as pessoas mais consomem hoje em dia e como era antigamente; II) a influência da publicidade e da mídia no comportamento do consumidor; III) você se considera consumista? Que coisas você mais consome? Por quê?

1- La Ciudad de Puerto Iguazú, donde se conforma la frontera de Argentina con la localidad vecina de Foz do Iguaçu de la República Federativa de Brasil.

Cuadro 2: Diagnóstico escrito (a)

Escolha a opção certa para completar a frase:

1 - Bom dia, seu Ademar. _____?:
Como vai você?
Como vai o senhor?
Como vai a gente?

2 - Bom dia. Poderia trazer um refrigerante, por favor? - _____:
Pois sim.
Pois é.
Pois não.

3 - Vocês vão viajar nas férias de inverno? - ____

Não, a gente está com muito trabalho.
Vai, sim.
É, vamos ficar aqui.

4 - Ela é sua mãe? Qual é o nome _____?
sua
de ela
dela

5 - Oi, o que você está fazendo aqui? - Estou
indo _____:
da faculdade em metrô porque meu carro está no escritório.
à faculdade de metrô porque meu carro está na oficina.
na faculdade pelo metrô porque meu carro está no talher.

6 - No curso de inglês há pessoas do mundo todo: _____:
tem alemães, espanhóis, italianos e até chineses!
há alemães, espanhóis, italianos e até chineses!
tem alemães, espanholes, italianos e além chineses!

7 - A nova casa da Dona Maria é bonita. É _____:
mas pequena, mais confortável.
mais pequena, mas confortável.
menor, mas confortável.

8 - Estou cansada, esta semana tive muitos exames, _____:
ainda o trabalho de sempre.
além do trabalho de sempre.
embora que o trabalho de sempre.

9 - Você sabe quando serão as próximas _____?
eleições em Brasil
eleições de Brasil
eleições no Brasil

10 - A que horas você acorda para ir ao trabalho? _____:
Não muito cedo porque moro perto.
Não muito perto porque moro cedo.
Perto, às 8 horas da manhã.

Cuadro 3: Diagnóstico escrito (b)

Complete os espaços conjugando os verbos entre parênteses:

1. Meu nome é Maiara _____ (ter) 30 anos e moro em Fortaleza.

2. _____ (trabalhar) num escritório de importações e meu marido Marcos

3. _____ (ser) engenheiro.

4. Eu _____ (sair) de casa às 8h da manhã e só volto às 6h da tarde.

5. Segundas, quartas e sextas _____ (ir) à academia e nos outros dias fico _____ (ler) ou _____ (assistir) televisão.

6. Nos finais de semana, eu e Marcos visitamos a família ou convidamos amigos para jantar em casa. A gente _____ (querer) fazer uma viagem no final do ano, mas ainda não decidimos o destino.

7. Marcos _____ (gostar) de praia, enquanto que eu _____ (preferir) viajar pelo interior do país.

Cuadro 4: Diagnóstico escrito (c)

Escolha a opção certa para completar as frases:

1. -Você já reservou as passagens? -Não, vou _____ amanhã:
as reservar
reservá-las
reservá-as

2. -Você já reservou as passagens? É, _____ ontem:
as reservei
reservei-las
reservou-as

3. - Ele nunca estudou francês, _____ está decidido a viajar à França:
no entanto
enquanto
mesmo que

4. - Ontem, _____ entrei na loja, percebi que
tinha esquecido o cartão de crédito:
apenas
pronto
mal

Cuadro 5: Diagnóstico escrito (d)

Complete o espaço da segunda frase de modo que tenha o mesmo sentido que a primeira:

1.a) Tenho certeza de que ele vai chegar daqui a pouco.
1.b) É bem provável que ele _____ daqui a pouco.

2.a) Vocês não podem ficar mais um pouco? Que pena!
2.b) É pena que vocês não _____ ficar mais um pouco.

3.a) Ele é bastante egoísta, mesmo assim, é um grande amigo.
3.b) Embora ele _____ bastante egoísta, é um grande amigo.

4.a) Sai de casa, depois o telefone começou a tocar.
4.b) O telefone começou a tocar quando eu já _____ de casa.

Resultados

Las observaciones se realizaron sobre un total de 30 alumnos presentes. En el Cuadro 6 se muestran los criterios de valoración de las respuestas dadas por cada alumno en función del nivel de conceptualización. Se realizó un registro individual de cada uno de los estudiantes, asentando las respectivas valoraciones hechas en el Cuadro 6, a partir del diagnóstico inicial que fue posible en virtud de la implementación de la entrevista clínica.

Cuadro 6: Criterio de valoración para las respuestas dadas por el alumno en el diagnóstico inicial

Oral	Valoración	Básico	Intermedio	Avanzado
	Pregunta 1			
	Valoración	Bien	Regular	Mal
	Ítem 2 (2.1, 2.2, 2.3)			

Escrito	Valoración	Correcta	Incorrecta
	Actividad n°		

En términos generales, se pudo determinar las siguientes características de los jóvenes entrevistados:

Cuadro 1: el 80% de los estudiantes tiene conocimiento del idioma portugués, en tanto que el 20% manifestó no tener conocimiento del idioma. Asimismo, del total que tienen conocimiento del idioma, el 60% lo conoce por poseer familiares cercanos que lo hablan (abuelos, padres, tíos, amigos etc.) y el restante 40% a través de los medios masivos de comunicación (televisión, radio, WhatsApp y redes sociales). Cabe destacar, que tanto las interrelaciones entre parientes y amistades, o las provenientes de los medios de comunicación, generaron en los estudiantes la necesidad de un vínculo parlante y escrito no académico, adoptando así la interlengua distante de la gramática y pronunciación del español y/o del portugués, generando la variedad lingüística portuñol. Además, el 50% de los estudiantes que poseen conocimiento del idioma o que están en contacto con el mismo, manifestó hablar en forma básica, el 25% declaró expresarse en forma escrita y el resto indicó poseer ambas habilidades (hablar y escribir).

Del total de alumnos que realizaron el diagnóstico oral a partir de la pregunta 2 de este cuadro, el 91,67% reconoce que tiene conocimientos básicos del idioma y el 8,33% un nivel intermedio, por ende ningún estudiante tiene conocimientos avanzados del mismo. Respecto del punto 2.1, en el que las preguntas versan sobre aspectos cotidianos (presentación personal y rutina diaria), el 29,17% se expresó correctamente y el resto mostró dificultades en la formulación de oraciones, expresiones orales y fonética. Ya en los puntos 2.2 y 2.3, cuyas preguntas ofrecen mayor dificultad, pues necesitan de un vocabulario más específico y atienden cuestiones como descripción de lugares, vestimentas, accesorios, opinión de temas de actualidad, etc., mostraron inconvenientes en las expresiones orales, siendo solo el 8,33% que respondió en forma clara, con notable dominio del vocabulario y conocimiento de temas actuales.

Cuadro 2: se apreció que la generalidad de los alumnos han respondido las preguntas prácticamente sin incurrir en errores, no solo en la redacción sino también, en la casi ausencia de errores ortográficos.

Cuadro 3: en estas actividades, en las que los alumnos debieron realizar la conjugación de verbos, se constató un alto porcentaje de equivocaciones siendo el 28,83% de ellos los que realizaron correctamente la actividad. Cabe destacar que, esta actividad permitió, en la puesta en común, alertar a los jóvenes de la importancia de este contenido en pos de una correcta expresión escrita y oral y que es un contenido a ser trabajado tanto en las clases teóricas como en las prácticas.

Cuadro 4: el propósito que se persiguió con las actividades de este cuadro fue evaluar el conocimiento de los verbos y su relación con los pronombres oblicuos, como también el uso de conjunciones, adverbios y adjetivos. Cumplieron adecuadamente con tal objetivo el 62,5% de los entrevistados.

Cuadro 5: si bien en esta actividad se continúa con el manejo de verbos, se complejizó el carácter del ejercicio, en relación al anterior, con el fin de analizar y determinar cuáles son los contenidos gramaticales a ser incluidos en la planificación de las futuras labores en el aula. Se obtuvieron resultados análogos a los mencionados para el Cuadro 4, es decir, completaron en forma correcta el 62,5% de los alumnos entrevistados.

A partir de la recolección de datos, procesamiento de la información, análisis e identificación de problemas en el diagnóstico, los resultados obtenidos posibilitaron, al equipo de cátedra, adaptar las actividades teórico-prácticas acordes a los objetivos planteados, adecuar los contenidos a desarrollar como también delinear estrategias y metodologías a implementar acordes a las características intrínsecas del grupo. En tal sentido, se trabajó muy especialmente en mejorar la fonética, a través de videos con audios originales en ese idioma; se reforzó la práctica con el propósito de mejorar la gramática portuguesa, a efectos de optimizar la redacción escrita y la oralidad en situaciones reales de uso, mediante la inclusión de actividades dinámicas y comunicativas extraídas de artículos periodísticos provenientes de revistas y periódicos procedentes del vecino país.

En cuanto al nivel de conocimiento alcanzado, al finalizar el cursado de la asignatura, se tuvo que el 92% logró un nivel básico, mientras que el 8% alcanza el nivel intermedio.

Consideraciones finales

Tal como fue consignado en la sección anterior, las valoraciones de las respuestas dadas por cada uno de los alumnos entrevistados, permitió al equipo docente, hacer la evaluación diagnóstica inicial de la situación cognitiva de cada uno de los jóvenes.

Asimismo, el cúmulo de información recabada permitió al equipo docente, hacer un seguimiento individual del avance cognoscitivo operado por cada uno de los jóvenes.

Esta instancia, dentro del proceso de evaluación en general, posibilitó recabar información potente a efectos de plantear la metodología a aplicar, enmarcar la propuesta de enseñanza y determinar, en caso que existieran, concepciones alternativa con el fin de eliminarlas.

Esta reflexión encierra como propósito la construcción de una actitud crítica que permite observar, analizar y repensar la propia práctica docente.

A partir de este análisis comenzó a vislumbrarse resultados que cumplen con los objetivos propuestos por el equipo docente en beneficio de los aprendizajes de los alumnos, como así también de la posibilidad de realizar una práctica reflexiva y argumentada.

Bibliografía

1. 1. Lombardo, G. y Chrobak, R. *Uso de la Entrevista Clínica en la Evaluación Diagnóstica Continua en Geometría Proyectiva*. Revista de Ciencia y Tecnología RECyT. 17 (24), 65-69. 2015.
2. 2. Lombardo, G. *Aplicación de la lógica difusa en el proceso de evaluación en Matemática*. Universidad Nacional del Comahue. 2015.
3. 3. Donolo, D. Rinaudo, M. *Perspectivas y experiencias creativas para estudiantes universitarios*. Cuadernos FHyCS – UNJu, 35:91-103. 2008.
4. 4. Porto Currás, M. *Evaluación para la competencia creativa en la educación universitaria*. Cuadernos FHyCS – UNJu, 35:77-90. 2008
5. 5. Álvarez Méndez, J. *Didáctica, currículo y evaluación. Ensayos sobre cuestiones didácticas*. Miño y Dávila. (p.122). 2012.
6. 6. Anijovich, R. y González, C. *Evaluar para aprender. Conceptos e instrumentos*. Aique Grupo Editor. (p. 10). 2013.
7. 7. Palou de Maté, M. *Evaluar para enseñar y evaluar para acreditar. C. Palou de Maté (Comp.)*. La enseñanza y la evaluación. Una propuesta para matemática y lengua (pp. 19-48). GEEMA–UNCo Facultad de Cs de la Educación–CEDiCo. (p.19). 2003.
8. 8. Rodríguez M. *Resolución de Problemas*. M. Pochulu & M. Rodríguez. (Comps). Educación Matemática. Aportes a la Formación Docente desde distintos enfoque teóricos. (pp.153-174). Editorial UNGS – EDUVIM. (p. 164). 2012.
9. 9. Chrobak, R. *Volver a Aprender, el derecho a Enseñar*. Editorial EDUCO. 2010.
10. 10. Lombardo, G. *Análisis de la Efectividad de la aplicación de Herramientas Metacognitivas Integradas en el Proceso de Evaluación Continua en la Geometría Proyectiva*. Universidad Nacional del Comahue. 2008.
11. 11. Novak, J. y Gowin D. *Aprendiendo a aprender*. Martínez Roca. 1988.
12. 12. Carmona, J. *Características de la Provincia de Misiones, de su Población y de la Participación Productiva Sectorial en el Comercio Exterior. Tendencias y Cambios en la Última Etapa de la Economía Argentina*. Material presentado para Curso a Distancia: Las Etapas de la Economía Argentina. Granero del Mundo, Sociedad Industrial, Paraíso Especulativo. Los debates en la Actualidad, junio. Argentina. 2014.
13. 13. Varela, E. *La importancia de hablar otro idioma*. Clarín. Consultado el 20 de octubre de 2015 de <https://entremujeres.clarin.com/>
14. 14. Camblong, A. *Mapa semiótico para la alfabetización intercultural en Misiones*. La Impresión S.A. 2005.
15. 15. Carissini Da Maia, I., & Triches, S. *Lo lingüístico como reflejo de la dinámica social de la frontera*. Jornadas de Investigadores 2015. Secretaría de Investigación y Postgrado. FHyCS-UNaM. Jornadas llevadas a cabo en Posadas, Argentina. 2015.

Recibido: 11/05/2017.

Aprobado: 31/10/2017.

RECYT

Año 19 / N° 28 / 2017 / 64-70

Evaluación de la necesidad de biopsia en una población pediátrica con sospecha clínica de Celiaquía

Evaluation of the need for biopsy in a pediatric population with suspected Celiac clinical disease

Miryan S. López^{1,2}, Gianninna Fermoselle¹, María A. Manulak¹, Mónica D. R. Sprang^{1,2}, Fernando Vinuesa², Pedro D. Zapata¹, Gustavo A. Negri³

1- Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones; 2- Hospital Provincial de Pediatría Dr. F. Barreyro; 3- Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

Resumen

Nuestro objetivo fue evaluar el valor diagnóstico de pruebas serológicas de enfermedad celíaca en poblaciones pediátricas con sospecha clínica de celiaquía.

En el suero de los pacientes con síntomas clásicos, no clásicos o pertenecientes a grupos de riesgo de celiaquía se dosaron anticuerpos anti-transglutaminasa tisular de tipo IgA (a-tTG-IgA) y anticuerpos contra los péptidos deaminados de gliadina de tipo IgG (a-DGP-IgG). Fueron biopsiados 97 pacientes: 62 presentaron histología Marsh 3 (enfermedad celíaca confirmada), 7 histología Marsh 2 y 28 histología Marsh 0-1. Se obtuvo valor predictivo positivo 100% para valores de a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml y 96% para a-DGP-IgG ≥ 100 U/ml. Cuando ambos anticuerpos fueron ≤ 10 U/ml se obtuvo valor predictivo negativo 100%.

En nuestro estudio, los anticuerpos a-tTG-IgA permitieron el diagnóstico de celiaquía cuando su valor fue ≥ 100 U/ml. Cuando a-tTG-IgA y a-DGP-IgG fueron ambos ≤ 10 U/ml se pudo descartar enfermedad celíaca.

Palabras clave: Enfermedad celíaca; Transglutaminasa tisular; Anticuerpos; Péptidos deaminados de gliadina; Biopsia.

Abstract

The aim was to evaluate the diagnosis value of serological tests in a pediatric population with suspected celiac disease. In the serum of patients with classical symptoms, non-classical symptoms, or with an increased risk for celiac disease, antibodies anti-tissue transglutaminase IgA (a-tTG-IgA) and IgG anti-deamidated gliadin peptide (a-DGP-IgG) were measured. Endoscopic biopsy was performed on 97 patients: 62 of them had Marsh 3 lesion (celiac disease confirmed), 7 had Marsh 2 lesion and the other 28, Marsh 0-1 lesion. A 100% of positive predictive value for a tTG-IgA ≥ 100 U/ml, and 95% for a-DGP-IgG ≥ 100 U/ml were obtained. When both (tTG-IgA and a-DGP-IgG) were ≤ 10 U/ml, the negative predictive value was 100%. Values of a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml allowed the diagnosis of celiac disease in the studied population. When a-tTG-IgA and a-DGP-IgG, were both ≤ 10 U/ml it ruled out celiac disease.

Key words: Celiac disease; Tissue transglutaminase; Antibodies; Deamidated gliadin peptide; Biopsy.

Introducción

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía crónica de naturaleza autoinmune, que afecta a individuos genéticamente predispuestos, al entrar en contacto con alimentos que contienen gluten, el almacén de proteínas del trigo y granos similares (1-3). Moléculas no digeridas de la gliadina, como la alfa-gliadina, resistentes al jugo gástrico, pancreático y proteasas del borde en cepillo intestinal, permanecen en el lumen después de la ingestión del gluten y pueden atravesarlo posiblemente durante las infecciones intestinales o cuando hay un aumento en la permeabilidad

intestinal e interactuar con las células presentadoras de antígeno en la lámina propia (2, 3). Los péptidos del gluten en el intestino desencadenan una respuesta mediada por linfocitos T-helper que resulta en inflamación epitelial, un aumento del número de linfocitos intraepiteliales, atrofia vellositaria, producción de autoanticuerpos y síntomas de malabsorción (3). Como consecuencia puede producirse un defecto de malabsorción de nutrientes (principios inmediatos, sales minerales y vitaminas) que conduce a diversos estados carenciales responsables de un amplio espectro de manifestaciones clínicas (1). La lesión que se produce revierte con la supresión del gluten y reaparece

con su introducción (4-6).

Los hallazgos clave para el diagnóstico incluyen: cambios histopatológicos en una biopsia intestinal, caracterizados por destrucción de la superficie epitelial de revestimiento y evidencia de que la enteropatía del intestino delgado depende del gluten, a saber, anticuerpos positivos específicos de EC (1, 2, 4, 5, 7, 8).

La descripción en 1997 por Dieterich y cols. (9) que la transglutaminasa tisular (tTG) es el autoantígeno hacia el cual se dirigen los anticuerpos anti-endomisio (EmA) permitió un nuevo enfoque diagnóstico de EC. Este marcador posee una sensibilidad de 86,7- 99,0% y una especificidad de 92,8 - 99,7% (10). La tTG es una enzima calcio dependiente que se libera cuando se produce daño tisular y promueve la reparación por estabilización de la matriz extracelular a través de la unión entre la fibronectina y el colágeno (1, 2). Dada la adecuada área bajo la curva ROC (Característica Operativa del Receptor) de los anticuerpos anti-transglutaminasa tisular humana de tipo IgA (a-tTG-IgA), así como la facilidad de sistematización de la técnica, menor costo y consistencia inter-operador comparada con el ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizado para detectar los EmA, hacen de éste el anticuerpo de elección para el estudio inicial del paciente con sospecha de EC (6). Los ensayos ELISA e IFI de a-tTG-IgA y EmA son considerados las herramientas no invasivas más fiables para la detección y seguimiento de la EC (10).

También está disponible la determinación de anticuerpos anti-transglutaminasa tisular humana de tipo IgG (a-tTG-IgG), especialmente útil en caso de déficit de IgA asociado a EC (1, 2, 5, 7, 8); sin embargo tienen menor precisión diagnóstica (11).

Recientemente se han informado excelentes resultados con ensayos de ELISA para detectar anticuerpos anti-péptidos deaminados de gliadina de tipo IgG (a-DGP-IgG) en EC activa (11-13). La elevada precisión diagnóstica de la clase IgG de a-DGP los convierte en una herramienta potencial para el diagnóstico de EC en pacientes con deficiencia de IgA. Los ensayos para a-DGP-IgG fueron superiores a las pruebas de medición de anticuerpos contra gliadina nativa (13, 14). Los a-DGP-IgG aportan más al diagnóstico que los de clase IgA en EC, presentando una sensibilidad entre 80,7 - 95,1% y especificidad entre 86,3 - 93,1% (15, 16).

El estudio histopatológico de la biopsia intestinal en EC persigue la identificación de cambios estructurales y alteraciones citológicas caracterizadas por hiperplasia de las criptas, linfocitosis intraepitelial y destrucción del revestimiento epitelial superficial que en un adecuado contexto clínico y serológico lleven al diagnóstico de la enfermedad y a la instauración de una dieta libre de gluten. Los cambios histopatológicos son informados según la clasificación de Marsh (17), que reconoce cambios posibles en la mucosa intestinal que van desde una mucosa normal a otra hipoplásica, según el siguiente esquema: Tipo 0:

mucosa normal; Tipo 1: lesión infiltrativa, aumento de linfocitos intraepiteliales; Tipo 2: lesión hiperplásica, tipo 1 más elongación de criptas; Tipo 3: lesión destructiva, tipo 2 más atrofia vellositaria, 3a: atrofia vellositaria parcial, 3b: atrofia vellositaria subtotal, 3c: atrofia vellositaria total.

Si bien la biopsia intestinal aún se considera el patrón de oro para el diagnóstico de EC, el procedimiento a menudo es rechazado por los pacientes y los cambios observados en la biopsia duodenal adolecen de falsos positivos (alergias alimentarias, giardiasis, enteropatía autoinmune, enteropatía por VIH, enfermedad de Crohn, etc.) y falsos negativos (atrofia en parche o insuficiente cantidad de muestras tomadas) dependiendo de la subjetividad del operador especialmente cuando los cambios histológicos son mínimos (17-22). Por lo tanto, la serología actual, de alta sensibilidad y especificidad (23, 24) puede ser una alternativa a la biopsia intestinal en poblaciones seleccionadas (25-29).

La sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas realizadas en poblaciones de bajo riesgo difieren de las obtenidas en poblaciones de alto riesgo. La precisión diagnóstica de dichas pruebas se puede mejorar aumentando los valores de corte hasta obtener un valor predictivo positivo de 100%, o añadiendo otras técnicas serológicas de forma simultánea o secuencial. Con esta última estrategia, la concordancia en los resultados (si los resultados de ambas pruebas son positivas o negativas) implicaría muy altos valores de sensibilidad, especificidad y de los valores predictivos positivos y negativos (4, 16) logrando un incremento de los casos diagnosticados y una pronta instauración de la dieta libre de gluten. Una intervención dietética temprana, implica beneficios en la prevención de las complicaciones tardías de EC.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el valor diagnóstico de pruebas serológicas de EC en poblaciones pediátricas con sospecha clínica de celiaquía.

Material y Métodos

Diseño del estudio: estudio transversal, descriptivo y prospectivo

Población: se seleccionaron niños hasta 15 años con síntomas clásicos, no clásicos o asintomáticos y pertenecientes a grupos de riesgo de EC (6) que concurrieron al Hospital Provincial de Pediatría Dr. F. Barreyro (HPPP) de Posadas, Misiones durante el periodo 2013 a 2015.

El HPPP (nivel III de atención) perteneciente al Parque de la Salud de la ciudad de Posadas es el único hospital de pediatría de la provincia y recibe pacientes de 1 mes a 15 años. El laboratorio del HPPP es centro provincial de referencia de EC y pertenece a la Red Provincial de Laboratorios y al Programa Nacional de Detección y Control de Enfermedad Celíaca.

Criterios de inclusión: pacientes con indicación de biop-

sia (criterio médico en pacientes sintomáticos siempre que sea necesario conocer la existencia de alguna enfermedad en esófago, estómago o duodeno) cuyos padres o tutores hayan firmado el consentimiento.

Criterios de exclusión: lactantes que aún no hayan incorporado gluten, pacientes que estuvieran realizando una dieta libre de gluten al momento de la evaluación y aquellos con IgA total deficiente.

Pruebas serológicas: se determinaron en suero del paciente obtenido en ayunas los a-tTG-IgA por método ELISA, reactivo comercial ORGENTEC Diagnostika (valor de corte > 10 U/ml) y los a-DGP-IgG por método ELISA, reactivo comercial ORGENTEC Diagnostika (valor de corte > 10 U/ml). Ambos anticuerpos se cuantificaron con lector de placas Stat Fax 303 (Awareness). El dosaje de IgA total se realizó por método de inmunodifusión radial (Diffu-Plate, Biocientífica). Los niveles de IgA se consideraron deficientes cuando fueron menores a 20 mg/dl (30).

Endoscopia: la endoscopia digestiva alta (EGD) fue realizada por un gastroenterólogo pediátrico, con un gastroscopio Olympus 180 bajo anestesia general. Se tomaron 4 muestras de segunda porción de duodeno y 2 muestras de bulbo. La preparación para la gastroscopia consistió en 7-8 horas de ayuno y evaluación prequirúrgica realizada por el anestesista.

Las biopsias de los pacientes se realizaron en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Escuela de Agudos Dr. R. Madariaga del Parque de la Salud. Los cambios histopatológicos fueron informados según la clasificación de Marsh. Si bien la Sociedad Norteamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica recomienda considerar los tipos Marsh 2 y 3 indicativos de EC (31), para aumentar la especificidad diagnóstica en este trabajo se calificaron enfermos celíacos a los tipos Marsh 3. Se consideró que un número aumentado de linfocitos intraepiteliales (Marsh 1) no eran diagnóstico de EC.

Pruebas diagnósticas:

Valor predictivo positivo (VPP): es la probabilidad que tiene un individuo de estar enfermo cuando el resultado de la prueba es positivo (fórmula 1) (32).

Valor predictivo negativo (VPN): es la probabilidad de que un individuo que obtenga un resultado negativo a la prueba, no presente la enfermedad o esté sano (fórmula 2) (32).

Debido a que los valores predictivos dependen de la proporción de enfermos en la muestra estudiada se calcularon los cocientes de probabilidad (CP) positivo y negativo.

El CP positivo (CP+) se calcula dividiendo la probabilidad de un resultado positivo en los pacientes enfermos entre la probabilidad de un resultado positivo en los individuos sanos (fórmula 3) (32). El CP negativo (CP-) se calcula dividiendo la probabilidad de un resultado negativo en presencia de enfermedad, entre la probabilidad de un resultado negativo en ausencia de la misma (fórmula 4) (32).

Las fórmulas utilizadas fueron:

$$VPP = \frac{VP}{VP+FP} \quad (1)$$

$$VPN = \frac{VN}{VN+FN} \quad (2)$$

$$CP+ = \frac{Sen}{(1 - Esp)} \quad (3)$$

$$CP- = \frac{1-Sen}{Esp} \quad (4)$$

$$Sen = \frac{VP}{VP+FN} \quad (5)$$

$$Esp = \frac{VN}{VN+FP} \quad (6)$$

VP= verdadero positivo, FP= falso positivo, VN: verdadero negativo, FN: falso negativo, Sen: sensibilidad, Esp: especificidad.

Análisis estadístico: Se confeccionaron tablas de contingencia tomando como patrón de referencia (*gold standard*) la clasificación histopatológica Marsh y se calcularon los VPP y VPN de a-tTG-IgA y a-DGP-IgG para el punto de corte del fabricante y distintos puntos de corte.

Consideraciones éticas: Para la participación en el estudio se solicitó a los padres o tutores de los pacientes que firmaran el consentimiento informado aprobado por el comité de Ética del HPPP Dr. F. Barreyro (23/11/2012. DICTAMEN N° 10/12). Todos los padres o tutores de los pacientes con indicación de biopsia endoscópica firmaron además el consentimiento informado del procedimiento y la anestesia previa a la realización del mismo.

Resultados

Se analizaron sueros de 1302 pacientes con una edad media de 6 años (rango de 1 a 15 años), de los cuales 108 tuvieron criterios de inclusión para realizar la biopsia. Se realizaron 97 biopsias duodenales, informándose 62 pacientes (63%) con atrofia de las vellosidades (Marsh 3) y 7 con lesiones Marsh 2. Los 28 pacientes restantes presentaron histología Marsh 0 – 1 y fueron usados como VN o FP. En 11 pacientes no se realizó la endoscopia, tres por negación y ocho por falta de medios para trasladarse al lugar de realización del estudio.

En las tablas I y II se muestra la distribución de pacientes según los valores de a-tTG-IgA y a-DGP-IgG (límites reales) obtenidos y los resultados de la lesión intestinal.

Tabla 1: Distribución de pacientes según niveles de a-tTG-IgA y lesión histológica. N= 97

Rango de valores de a-tTG IgA U/ml	Clasificación histopatológica N° de pacientes			
	Marsh 0	Marsh 1	Marsh 2	Marsh3
< 9,5 (< 1 x UNL)	16	5	2	---
9,5 – 19,5 (> 1 x UNL)	0	3	---	6
19,5 – 29,5 (> 2 x UNL)	3	1	1	3
29,5 – 39,5 (> 3 x UNL)	---	---	---	4
39,5 – 49,5 (> 4 x UNL)	---	---	---	1
49,5 – 99,5 (> 5 x UNL)	---	---	2	3
≥ 99,5 (> 10 x UNL)	---	---	2	45

a-tTG-IgA: anticuerpos anti-transglutaminasa tisular humana de tipo IgA; UNL: límite superior de normalidad.

Tabla 2: Distribución de pacientes según niveles de a-DGP-IgG y lesión histológica. N= 97

Rango de valores de a-DGP-IgG U/ml	Clasificación histopatológica N° de pacientes			
	Marsh 0	Marsh 1	Marsh 2	Marsh3
< 9,5 (< 1 x UNL)	6	6	2	---
9,5 – 19,5 (> 1 x UNL)	3	5	1	14
19,5 – 29,5 (> 2 x UNL)	1	2	1	5
29,5 – 39,5 (> 3 x UNL)	---	---	1	5
39,5 – 49,5 (> 4 x UNL)	---	2	---	8
49,5 – 99,5 (> 5 x UNL)	2	---	1	10
≥ 99,5 (> 10 x UNL)	1	---	1	20

a-DGP-IgG: anticuerpos anti-transglutaminasa tisular humana de tipo IgA; UNL: límite superior de normalidad

Los síntomas presentados por 65 (94%) niños se caracterizaron por la aparición de diarrea crónica y/o malabsorbtiva, pérdida de peso, desnutrición, distensión abdominal. Cuatro pacientes presentaron otros cuadros: un paciente presentó diabetes tipo 1, un paciente presentó constipación crónica y dos pacientes presentaron síndrome de Down.

En la tabla III se presentan los VPP, VPN y CP de los anticuerpos estudiados. Se calcularon los VPP y VPN para la combinación de ambos anticuerpos > a 10 U/ml y < 10 U/ml.

Cuando ambos anticuerpos fueron negativos la probabilidad de que un individuo no presente la enfermedad o esté sano fue 100%.

Tabla 3: Valores predictivos positivos, negativos y cocientes de probabilidad para diferentes puntos de corte de anticuerpos a-tTG-IgA y a-DGP-IgG obtenidos en pacientes pediátricos con síntomas clásicos, no clásicos o pertenecientes a grupos de riesgo.

Rango de valores	VPP	VPN	CP+	CP-
a-tTG-IgA (U/ml)				
< 9,5 (< 1 x UNL)	---	100%	---	---
9,5 – 19,5 (> 1 x UNL)	67%	---	1,00	---
19,5 – 29,5 (> 2 x UNL)	43%	---	1,00	---
29,5 – 39,5 (> 3 x UNL)	100%	---	---	---
39,5 – 49,5 (> 4 x UNL)	100%	---	---	---
49,5 – 99,5 (> 5 x UNL)	100%	---	---	---
≥ 99,5 (> 10 x UNL)	100%	---	---	---
a-DGP-IgG (U/ml)				
< 9,5 (< 1 x UNL)	---	100%	---	---

9,5 – 19,5 (> 1 x UNL)	64%	---	1,00	---
19,5 – 29,5 (> 2 x UNL)	62%	---	1,00	---
29,5 – 39,5 (> 3 x UNL)	71%	---	1,00	---
39,5 – 49,5 (> 4 x UNL)	80%	---	1,00	---
49,5 – 99,5 (> 5 x UNL)	83%	---	1,00	---
≥ 99,5 (> 10 x UNL)	95%	---	1,00	---
a-tTG-IgA ≥ 9,5 U/ml y a-DGP-IgG ≥ 9,5 U/ml	97%	---	1,00	---

VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; a-tTG-IgA: anticuerpos anti-transglutaminasa tisular humana de tipo IgA; a-DGP-IgG: anticuerpos anti-péptidos deaminados de gliadina de tipo IgG; CP+: cociente de probabilidad positivo; CP-: cociente de probabilidad negativo.

Discusión

La confirmación diagnóstica de la EC actualmente es la histología intestinal, “patrón de referencia o patrón de oro”, que requiere una biopsia de intestino delgado que muestre atrofia de las vellosidades, aumento de los linfocitos intraepiteliales y criptas hiperplásicas (17-22). Teniendo en cuenta las molestias ocasionadas a los pacientes, los altos costos asociados con la biopsia intestinal y el advenimiento de las pruebas serológicas de detección fiables hay un creciente llamado a realizar pruebas menos invasivas para el diagnóstico.

Un aspecto importante de la práctica clínica en la EC es el uso de las pruebas serológicas. La serología actual, de alta sensibilidad y especificidad puede ser un complemento muy interesante o alternativa a la biopsia intestinal en poblaciones seleccionadas (24-27).

La dependencia exclusiva de la serología para el diagnóstico de EC es adecuada sólo si el VPP es del 100%. Nuestros resultados mostraron que con valores de a-tTG-IgA ≥ 30 U/ml (3 x UNL) se pudo diagnosticar la EC en el 100% de los pacientes pediátricos con síntomas de celiaquía. Si bien esto coincide con un reciente estudio pakistaní (33) la cantidad de pacientes con esos resultados no permite que esto sea usado como evidencia.

Diversas investigaciones en niños como las de Mubarak y col. (25) en los Países Bajos, Bürgin-Wolff y col. (26) en Suiza, Alemania y Austria o Berker y col. (27) en Canadá obtuvieron resultados comparables a los nuestros, con VPP 100% para valores de a-tTG-IgA > 100 U/ml en pacientes sintomáticos. Estos investigadores proponen que en los pacientes que presentan concentraciones de a-tTG-IgA muy altas la biopsia de intestino delgado no sería necesaria para confirmar el diagnóstico ya que esos niveles aumentados son altamente sugerentes de la EC. La Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición (ESPGHAN) (8) en el año 2012 ha modificado sus pautas y recomienda que en niños sintomáticos, la EC se puede diagnosticar sin una biopsia cuando los títulos de a-tTG-IgA son 10 veces superiores al límite de la normalidad (10 x UNL) verificado por EmA y presencia de haplotipo HLA-DQ2 o HLA-DQ8. Las nuevas directrices ESPGHAN pueden ser aplicables en niños sintomáticos en entornos de bajos recursos de países en desarrollo cuya

disponibilidad de recursos (por ejemplo, falta de instalaciones endoscópicas para niños) es limitada. La provincia de Misiones no escapa a esa situación, contando los hospitales de salud pública con un solo endoscopio pediátrico ubicado en la capital provincial.

Las guías BSPGHAN and Coeliac UK (Sociedad Británica de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición y Celiaquía del Reino Unido) (34) adaptadas de la ESPGHAN recomiendan que si la prueba EmA no está disponible localmente, puede ser sustituido por una segunda determinación a-tTG-IgA también con altos títulos de positividad y conservar el suero para una posterior confirmación con EmA.

El mayor VPP para a-DGP-IgG (95%) se obtuvo para valores ≥ 100 U/ml. Bürgin-Wolff y col. (26) publicaron un VPP de 93% para a-DGP-IgG > 10 U/ml, Basso y col. (35) VPP 97% para un valor de corte de a-DGP-IgG > 20 U/ml, mientras que nuestros hallazgos para valores de a-DGP-IgG > 10 y < 100 fueron entre 56% y 82%. Sin embargo, Niveloni y col. (13) informaron un VPP del 100% en población adulta usando un punto de corte > 20 U/ml. Nuestros resultados indicaron que los a-DGP-IgG no podrían ser utilizados como única prueba serológica para confirmar celiaquía.

Cuando ambos anticuerpos se emplearon de forma simultánea para valores de a-tTG-IgA y a-DGP-IgG > 10 U/ml se obtuvo el VPP de 97%; Bürgin-Wolff y col. (26) obtuvieron para la misma combinación de anticuerpos VPP y VPN de 96% y 98% respectivamente y Basso y col. (35) informaron VPP de 99,2% y VPN 77,8%. Estos datos sugieren que en ese rango de valores, en aquellos pacientes con clínica indicativa de EC la combinación de test propuestos puede mejorar la precisión diagnóstica. Cuando ambos resultados de las pruebas fueron negativos se pudo descartar EC.

Numerosos autores coinciden en la afirmación que un nuevo estándar de diagnóstico podría detectar con precisión los pacientes celíacos, basándose en VPP muy altos de pruebas serológicas fiables, de tal manera que la biopsia intestinal podría ya no ser obligatoria para el diagnóstico de EC en algunos pacientes (14, 25, 26, 35). Debido a que los cambios histológicos son característicos pero no patognomónicos, debería ser revisada la biopsia duodenal como "gold standard" y consensuar nuevos criterios diagnósticos para EC.

Conclusiones

-El dosaje de a-tTG-IgA permitió el diagnóstico de EC cuando su valor fue diez veces mayor al valor de corte utilizado (mayor a 100 U/ml), en una población pediátrica con sospecha clínica de celiaquía.

-Los a-DGP-IgG utilizados como única prueba serológica no fueron útiles para diagnosticar la EC de forma concluyente en individuos con alta sospecha clínica.

-La utilización de dos pruebas serológicas combinadas permitieron descartar el diagnóstico de la EC en el 100% de los pacientes con alta sospecha de enfermedad que presenten concentraciones de a-tTG-IgA ≤ 10 U/ml y a-DGP-IgG ≤ 10 U/ml.

Abreviaturas

EC: enfermedad celíaca

tTG: transglutaminasa tisular

EmA: anticuerpos anti-endomisio

ROC: Característica Operativa del Receptor

ELISA: enzimoimmuno ensayo

a-tTG-IgA: anticuerpos anti-transglutaminasa tisular humana de tipo IgA

IFI: inmunofluorescencia indirecta

a-tTG-IgG: anticuerpos anti-transglutaminasa tisular humana de tipo IgG

DGP: péptidos deaminados de gliadina

a-DGP-IgG: anticuerpos anti-péptidos deaminados de gliadina de tipo IgG

HPPP: Hospital Provincial de Pediatría Dr. F Barreyro

VPP: valor predictivo positivo

VPN: valor predictivo negativo

CP: cociente de probabilidad

EGD: endoscopia digestiva alta

UNL: límite superior de normalidad

ESPGHAN: Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición

BSPGHAN and Coeliac UK: Sociedad Británica de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición y Celiaquía del Reino Unido

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado con una Beca Carrillo Oñativia de la Comisión Nacional Salud Investiga. Los kits de anticuerpos anti-transglutaminasa tisular humana de tipo IgA fueron provistos por el Programa Nacional de Detección y Control de Enfermedad Celíaca

Bibliografía

1. **Diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca** *Rev Pediatr Aten Primaria*. 11:p.175-188.2000.
2. **Fasano, A.; Araya, M.; Bhatnagar, S.; Cameron, D.; Catassi, C; Dirks, M. et al.** *Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Consensus Report on Celiac Disease* *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 47:p.214-219.2008.
3. **Green, P. and Cellier, C.** *Celiac Disease*. *N Engl J Med*. 357: p.1731-1743.2007.
4. **Bai, J.; Zeballos, E.; Fried, M.; Corazza, G.; Schuppan, D.; Farthing, M. et al.** *Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología: Enfermedad celíaca*. [Disponi-

- ble en: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/celiac-disease-spanish-2013.pdf>. [Último acceso: 12 de enero de 2016].
5. James, S. *NIH Consensus Development Conference on Celiac Disease*. Gastroenterology. 128 (4, Supl 1): p. S1-S9. 2005.
 6. Guía de práctica clínica sobre diagnóstico y tratamiento de la enfermedad celíaca en el primer nivel de atención. Ministerio de Salud. Argentina. 2011.
 7. Wilches, Luna A.; Gómez López de Mesa, C. *Enfermedad celíaca en niños*. Rev. Col. Gastroenterol. 25 (2): p. 204-213. 2010.
 8. Husby, S.; Koletzko, S. y col. *ESPGHAN Guidelines for Diagnosis of Coeliac Disease*. JPGN. 54(1). 2012.
 9. Dieterich, W.; Ehnis, T.; Bauer, M.; et al. *Identification of tissue transglutaminase the auto-antigen of celiac disease*. Nat Med. 3: p. 797-801. 1997.
 10. Daniel, A.; Leffler, MS. and Detlef Schuppan, D. *Update on Serologic Testing in Celiac Disease*. Am J Gastroenterol. 105: p. 2520-2524. 2010.
 11. Villalta, D.; Tonutti, E.; Prause, C.; Koletzko, S.; Uhlig, HH.; Vermeersch, P.; Bossuyt, X.; Stern, M.; Laass, M.; Ellis, JH.; Ciclitira, PJ.; Richter, T.; Daehrich, C.; Schlumberger, W.; Mothes, T. *IgG Antibodies against Deamidated Gliadin Peptides for Diagnosis of Celiac Disease in Patients with IgA Deficiency*. Clinical Chemistry. p. 364-368. 2010.
 12. Prause, C.; Ritter, M.; Probst, C.; Daehrich, C.; Schlumberger, W.; Komorowski, L. et al. *Antibodies against deamidated gliadin as new and accurate biomarkers of childhood coeliac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 49: p. 52-58. 2009.
 13. Aleanzi, M.; Demonte, AM.; Esper, C.; Garcilazo, S. and Waggener M. *Celiac Disease: Antibody Recognition against Native and Selectively Deamidated Gliadin Peptides*. Clinical Chemistry. 47(11): p. 2023-2028. 2001.
 14. Niveloni, S.; Sugai, E.; Cabanne, A.; Vazquez, H.; Argonz J.; Smecuol, E. et al. *Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides as predictors of celiac disease: prospective assessment in an adult population with a high pretest probability of disease*. Clin Chem. 53: p. 2186-2192. 2007.
 15. Giersiepen, K.; Lelgemann, M.; Stuhldreher, N.; Ronfani, L.; Husby, S.; Koletzko, S. et al. *Accuracy of diagnostic antibody for coeliac disease in children: Summary of an evidence report*. J Pediatric Gastroenterol Nutr. 54: p. 229-241. 2012.
 16. Sugai, E.; Hwang, H.; Vázquez, H.; Smecuol, E.; Niveloni, S.; Mazure, R.; Mauriño, E.; Aeschlimann, P.; Binder, W.; Aeschlimann, D. and Bai, J. *New Serology Assays Can Detect Gluten Sensitivity among Enteropathy Patients Seronegative for Anti-Tissue Transglutaminase*. Clinical Chemistry. 56(4): p. 661-665. 2010.
 17. Marsh, MM. *Gluten histocompatibility complex and the small intestine: a molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ("celiac sprue")*. Gastroenterology. 102: p. 230-254. 1992.
 18. Green, PHR.; Rostami, K.; Marsh, MN. *Diagnosis of celiac disease* Best Pract Res Clin Gastroenterol. 19(3): p. 389-400. 2005.
 19. Ravelli, A.; Bolognini, S.; Gambarotti, M.; Villanacci, V. *Variability of histologic lesions in relation to biopsy site in gluten-sensitive enteropathy*. Am J Gastroenterol. 100(1): p. 177-185. 2005.
 20. Rubio-Tapia, A.; Hill, ID.; Kelly, CP.; Calderwood, AH. and Murray, JA. *ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease*. Am J Gastroenterol. 108: p. 656-676. 2013.
 21. Dewar, DH.; Ciclitira, PJ. *Clinical features and diagnosis of celiac disease*. Gastroenterology. 128 (4 Suppl 1): p. S 19-24. 2005.
 22. Kaukinen, K.; Maki, M.; Partanen, J.; Sievanen, H.; Collin, P. *Celiac disease without villous atrophy: revision of criteria called for*. Dig Dis Sci. 46(4): p. 879-887. 2001.
 23. Donaldson, MR.; Book, LS.; Leierman, KM., et al. *Strongly positive tissue transglutaminase antibodies are associated with Marsh 3 histopathology in adult and pediatric celiac disease*. J Clin Gastroenterol. 42: p. 256-260. 2008.
 24. Chan, AW.; Butzner, JD.; McKenna, R., et al. *Tissue transglutaminase enzyme-linked immunosorbent assay as a screening test for celiac disease in pediatric patients*. Pediatrics. 107: E8., 2001.
 25. Mubarak, A.; Wolters, VM.; Gmelig-Meyling, FHJ.; ten Kate, FJW.; Houwen, RHJ. *Tissue transglutaminase levels above 100 U/mL and celiac disease: A prospective study*. World J Gastroenterol. 18(32): p. 4399-4403. 2012.
 26. Burgin Wolff, A.; Mauro, B.; Faruk, H. *Intestinal biopsy is not always required to diagnose celiac disease: a retrospective analysis of combined antibody tests*. BMC Gastroenterology. p. 13-19. 2013.
 27. Barker, CC.; Craig, M.; Garet, J.; Mock, T. *Can Tissue Transglutaminase Antibody Titers Replace Small-Bowel Biopsy to Diagnose Celiac Disease in Select Pediatric Populations?* Pediatrics. 115: p. 1341-1346. 2005.
 28. Hill, PG.; Holmes, GK. *Coeliac disease: A Biopsy is not always necessary for diagnosis*. Aliment Pharmacol Ther. 27: p. 572-577. 2008.
 29. Sugai, E.; Moreno, ML.; Hwang, HJ.; Cabanne, A.; Crivelli, A.; Nachman, F.; Vazquez, Z.; Niveloni, S.; Argonz, J.; Mazure, R., et al. *Celiac disease serology in patients with different pretest probabilities: Is biopsy avoidable?* World J Gastroenterol. 16(25): p. 3144-3152. 2010.
 30. Prince, HE.; Norman, GI. and Binder, WI. *Immunoglobulin A (IgA) Deficiency and Alternative Celiac Disease-Associated Antibodies in Sera Submitted to a Reference Laboratory for Endomysial IgA Testing*. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 7(2): p. 192-196. 2000.
 31. Villar Rodríguez, JL. *Estudio anatomopatológico*. En: Todo sobre la enfermedad celíaca. Asociación de Celíacos de Madrid; 2012. [Disponible en: <http://www>.

- madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Contentdisposition&blobheadername2=cadena&blobheadervalue1=filename%3D%28%29.pdf&blobheadervalue2=language%3Des%26site%3DPortalSalud&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1181212900236&ssbinary=true]. [Último acceso: 14 de enero de 2016].
32. Donis, José H. *Evaluación de la validez y confiabilidad de una prueba diagnóstica*. Avances en Biomedicina; 2012, Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=331328015005>> ISSN. [Último acceso: 10 de abril de 2017].
 33. Paul, SP; Spray, C. *Diagnosing coeliac disease in children*. Br J Hosp Med (Lond). 75(5): p. 268-270. 2014.
 34. Murch, S.; Jenkins, H.; Auth, M.; Bremner, R.; Butt, A.; France, S.; Furman, M.; Gillett, P.; Kiparissi, F.; Lawson, M.; McLain, B.; Morris, MA.; Sarah Sleet, S.; Thorpe, M. *Joint BSPGHAN and Coeliac UK guidelines for the diagnosis and management of coeliac disease in children*. Arch Dis Child. 98: p. 806-811. 2013.
 35. Basso, D.; Guariso, G.; Fogarm, P.; Meneghel, A.; Zambon, C.; Navaglia, F.; Greco, E.; Schiavon, S.; Rugge, Mand; Mario Plebani. *Antibodies against Synthetic Deamidated Gliadin Peptides for Celiac Disease Diagnosis and Follow-Up in Children Clinical Chemistry*. 55(1): p.150 - 157. 2009.

Recibido: 22/05/2017.

Aprobado: 16/07/2017.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

I. ALCANCE DE LA REVISTA

1) La Revista de Ciencia y Tecnología (RECyT) publica artículos originales que representan una contribución para el desarrollo científico-tecnológico. Incluye trabajos de investigación básica y aplicada y de desarrollo tecnológico, revisiones bibliográficas de alto impacto, notas técnicas y, eventualmente, estudios de casos que por su relevancia ameriten publicarse¹.

2) Las áreas de incumbencia de la revista son Ingeniería, Tecnología, Informática, Biología, Genética, Bioquímica, Farmacia, Educación Científica y Tecnológica, con su correspondiente tecnología. La decisión última sobre la incumbencia de un artículo presentado, quedará a cargo del Cuerpo Editorial.

3) Los autores interesados en publicar artículos en la RECyT, deberán enviar sus trabajos de acuerdo con las normas que se estipulan más abajo.

4) Los artículos sometidos para publicación no deberán tener "Derechos de Autor" otorgados a terceros, a la fecha de envío del artículo. Caso contrario, el autor deberá gestionar, ante quien corresponda, la autorización por escrito para su nueva publicación en la RECyT.

5) Los conceptos y opiniones vertidos en los artículos publicados y del uso que otros puedan hacer de ellos, son de exclusiva responsabilidad de los autores, la cual se asume con la sola presentación del artículo enviado por los autores para su publicación. Los artículos se publicarán en español, inglés o portugués, con resúmenes, títulos y palabras clave en los tres idiomas.

II. PRESENTACIÓN Y REVISIÓN DE ARTÍCULOS

6) Los idiomas oficiales de la RECyT son español, inglés y portugués. Los manuscritos en español deberán ajustarse a las normas y usos gramaticales que establece el Diccionario y la Gramática de la Lengua Española de la Real Academia Española en sus últimas ediciones. Se debe evitar el uso de términos en otros idiomas, si existe uno equivalente en español. Los manuscritos en inglés deberán ajustarse a las normas y usos gramaticales que establece el Longman Dictionary of Contemporary English 4th Edition, aplicándose aquí también, lo expresado respecto del español. Los manuscritos en portugués deberán ajustarse a las normas y usos gramaticales que establece el Dicionário

Aurélío da Língua Portuguesa 5ta Edição, aplicándose aquí también, lo expresado respecto del español.

7) El manuscrito se presentará en formato electrónico como archivo tipo Word, anexo por correo electrónico a la dirección: recyt@fceqyn.unam.edu.ar. Todas las comunicaciones con los autores (revisión y aceptación de artículos) se realizarán por correo electrónico.

8) Los trabajos presentados para publicar serán sometidos a una primera evaluación interna de incumbencia, calidad general y categoría a cargo del Cuerpo Editorial y posteriormente a una evaluación externa de pertinencia y calidad científica por miembros del Comité de Revisión. El Comité de Revisión está integrado por reconocidos especialistas en los temas de incumbencia de la RECyT.

9) El proceso general de evaluación consiste en una exhaustiva revisión crítica de los contenidos y la estructura del artículo, la recomendación, o no, de su publicación y eventuales correcciones.

10) El Cuerpo Editorial se reserva el derecho de rechazar el trabajo por no ajustarse a las áreas involucradas, no cumplir las normas establecidas o no poseer la calidad científica requerida.

También se reserva el derecho de realizar modificaciones menores de edición para una mejor presentación final del trabajo.

11) El Cuerpo Editorial notificará al autor la aceptación o rechazo del artículo. De ser necesario, le solicitará que realice las modificaciones recomendadas para proceder a los trámites pertinentes previos a su publicación.

12) Los autores deberán realizar las correcciones y modificaciones requeridas por el Cuerpo Editorial y el CE en el plazo de 30 días. Los autores podrán solicitar aclaraciones sobre las correcciones. El Cuerpo Editorial decidirá sobre el particular, y realizará la revisión del trabajo modificado.

13) La aceptación del trabajo en su forma definitiva será comunicada por escrito a los autores. A partir de ese momento no se aceptarán modificaciones, salvo solicitud explícita y fundamentada al Cuerpo Editorial.

14) Los trabajos originales quedarán en poder de la RECyT, se publiquen o no.

1- Un artículo se considera trabajo cuando representa el resultado y las conclusiones de una investigación completa. Este tendrá categoría de nota técnica cuando trate de cuestiones como calibraciones, propuestas metodológicas, opiniones sobre normas, resolución de problemas operativos, etc.

III. NORMAS DE ELABORACIÓN DE ORIGINALES

Artículos

15) Los artículos completos deberán tener como máximo 6.000 palabras, 12 figuras y hasta 20 páginas. El Cuerpo Editorial podrá aceptar trabajos de mayor extensión en casos especiales.

En todos los casos deberá utilizarse letra tipo Arial tamaño 11 puntos, y formato de hojas tipo A4, numeradas en el margen inferior derecho, con interlineado doble, sin separación automática de sílabas al fin de línea y con los cuatro márgenes de 2,5 cm.

16) Las tablas y figuras deberán insertarse en el texto del artículo y deberán ubicarse lo más cerca posible del sitio en el que son mencionadas. De acuerdo con su tamaño, podrán presentarse por separado, correctamente identificadas.

Las figuras escaneadas deberán estar en formato TIFF y EPS, con 300 dpi de resolución. El CD podrá pedir a los autores, una vez aceptado el trabajo, que entregue las imágenes y los gráficos del artículo, con el formato, tamaño, dimensiones, resolución, etc. necesarios para la edición.

17) Los artículos científico-técnicos escritos en español e inglés se organizarán siguiendo el esquema general en orden sucesivo: título en español, nombres del (los) autores, nombres y direcciones de la institución a la que pertenecen, resumen y palabras clave en español, título en inglés, resumen y palabras clave en inglés. Los artículos científico-técnicos escritos en portugués se organizarán siguiendo el esquema general en orden sucesivo: título en español, nombres del (los) autores, nombres y direcciones de la institución a la que pertenecen, resumen y palabras clave en español, título en inglés, resumen y palabras clave en inglés, título en portugués, resumen y palabras clave en portugués. Posteriormente, en el idioma que corresponda, introducción, materiales y métodos, resultados y discusión, (juntos o separados), conclusiones, lista de abreviaturas (si corresponde), agradecimientos, referencias y apéndices o anexos (si corresponde).

18) Título en español: deberá ser breve (no mayor de 15 palabras), conciso y reflejar aspectos específicos del trabajo. Deberá corresponderse con el título en inglés y/o portugués.

19) Autores: se colocarán los autores separados por punto y coma, situando primero el o los apellidos seguidos de una coma, y a continuación, el primer nombre e inicial del segundo con un punto.

20) Dirección: debajo de los autores se indicará la institución a la que pertenecen o dónde fue llevado a cabo el

trabajo. Si los autores pertenecen a distintas instituciones, luego de cada nombre se colocará un número entre paréntesis, estableciéndose así la referencia a las instituciones y sus respectivas direcciones. Se sugiere incluir los nombres de las secciones y dependencias imprescindibles. Señalar, entre paréntesis, las direcciones electrónicas personales.

21) Resumen en español: deberá ser una condensación de todas las partes del trabajo en 150 palabras como máximo, sintetizando los objetivos, los métodos, los resultados y las conclusiones. Debe corresponderse al contenido del Resumen en inglés y/o portugués.

22) Palabras clave en español: el artículo deberá contener 5 palabras clave en idioma español, que servirán para catalogarlo en las bases de datos².

23) Título en inglés: deberá ser breve (no mayor a 15 palabras), conciso y reflejar aspectos específicos del trabajo. Deberá corresponderse con el título en español y/o portugués.

24) Resumen en inglés (Abstract): deberá ser una condensación de todas las partes del trabajo en 150 palabras como máximo, sintetizando los objetivos, los métodos, los resultados y las conclusiones. Debe corresponderse al contenido del Resumen en español y/o portugués.

25) Palabras clave en inglés (Key words): el artículo deberá contener 5 palabras clave en idioma inglés, que servirán para catalogarlo en las bases de datos².

26) Título en portugués: deberá ser breve (no mayor a 15 palabras), conciso y reflejar aspectos específicos del trabajo. Deberá corresponderse con el título en español e inglés.

27) Resumen en portugués (Resumo): deberá ser una condensación de todas las partes del trabajo en 150 palabras como máximo, sintetizando los objetivos, los métodos, los resultados y las conclusiones. Debe corresponderse al contenido del Resumen en español e inglés.

28) Palabras clave en portugués (Palavras-chave): el artículo deberá contener 5 palabras clave en idioma portugués, que servirán para catalogarlo en las bases de datos².

29) Introducción: debe presentar claramente el tema, haciendo solamente referencia a los antecedentes bibliográficos de interés. Los objetivos y las hipótesis deberán estar adecuadamente explicados.

30) Materiales y Métodos: el trabajo deberá describir en forma completa los materiales y metodologías utilizados.

Las normas reconocidas deberán ser citadas pero no explicadas.

Las técnicas publicadas deberán presentar en forma resumida sus características principales y las referencias correspondientes. Deberán detallarse todas las modificaciones efectuadas a cualquier norma o técnica³.

2- Si la disciplina que trata el artículo posee tesauros publicados, se sugiere utilizarlos para la definición de las palabras clave.

3- El criterio general es que con los datos de este ítem se pueda replicar correctamente el trabajo experimental. 4- Además de las que poseen signatura, se podrán colocar referencias inéditas o en prensa (indicando la revista en que se publicarán), comunicaciones personales y páginas web.

31) Resultados y Discusión: estas dos secciones podrán incluirse juntas o separadas. Los resultados se expondrán con estilo conciso y fácilmente entendible. La discusión de los resultados incluirá la comparación con resultados previos (propios o de otros autores, con las referencias correspondientes).

Se deberá evitar la duplicación de información en tablas y gráficos.

32) Conclusiones: deben presentarse en párrafos cortos y concretos. No deben hacer referencia a trabajos futuros ni a hipótesis no incluidas en el trabajo.

33) Agradecimientos: podrán incluirse a los organismos que financiaron el trabajo, así como a los colaboradores y al personal técnico o especializado, especificando las tareas realizadas por cada uno. Como referencia institucional de los autores se colocará el nombre completo de la entidad y la sigla entre paréntesis, por ejemplo, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

34) Referencias: las citas bibliográficas deberán consignarse con números correlativos colocados entre corchetes o paréntesis, de tamaño igual al del texto. El texto puede incluir nombres de autores, pero conjuntamente figurar el número de referencia bibliográfica correspondiente. En el ítem correspondiente, se consignarán según el orden en que aparezcan en el texto. No se incluirán referencias que no figuran en el texto. Las referencias se colocarán según el estilo de la disciplina correspondiente, figurando, en todos los casos: apellido e iniciales de los nombres de los autores en ese orden; nombre de la publicación periódica completo o con las abreviaturas oficiales; volumen; número, páginas inicial y final, año de publicación⁴. En el caso de libros: nombre; capítulo; editorial, páginas y año de edición. Las páginas web deberán tener la fecha de consulta.

Ejemplos orientativos:

1. Atanassov, Z; Zheringe, P y Wharton D., Evaluation of Wheat Response to Fusarium Head Blight Bases on Seed Set., Appl. Environm. Chem. 48: p. 993–998.1994.
2. Cole, R.J. y Cox R.H., Handbook of Toxic Fungal Metabolites, Assoc.Press, New York. p 356–379.1981.
3. Cotty, P.J., Agriculture, Aflatoxins and Aspergillus in The genus Aspergillus, K. A. Powll, Editor. Plenum Press, New York. p 1–27.1994.
4. National Agricultural Statistics Service (1997) Crops county data [Online]. Available at <http://usda.mannlib.cornell.edu/data-sets/crops/9X100> (verified 30 Nov. 1998).

35) Apéndices o Anexos: se reservan para detallar técnicas originales utilizadas o análisis teóricos que impedirían seguir fluidamente el trabajo si se incluyeran en el texto.

Las tablas de los apéndices pueden llevar números correlativos con los del texto o comenzar otra numeración.

36) Figuras: las figuras (gráficos, cuadros, fotografías, otros) deberán numerarse correlativamente en orden de aparición en el texto y deberán incluir un breve título explicativo en la parte inferior de la figura. Las imágenes y fotografías se designarán como figuras.

37) Tablas: las tablas deberán numerarse correlativamente según su orden de aparición en el texto y en forma independiente de las figuras. Deberán incluir un título explicativo en su parte superior. De ser necesario se agregarán al pie notas explicativas para detallar abreviaturas, signos, medidas, otros, de tal manera que el lector pueda comprender su contenido sin recurrir al texto.

38) Fórmulas: las fórmulas y expresiones matemáticas deberán ser escritas dejando dos espacios sobre, debajo y entre cada una de ellas. Las fórmulas se ajustarán al margen izquierdo y serán numeradas correlativamente y entre paréntesis sobre el margen derecho. Debe quedar definido el significado y las unidades utilizadas en cada término de las expresiones.

39) Unidades: debe utilizarse el sistema internacional de unidades (SI).

40) Presentar además:

- Un título resumido del trabajo, de 9 palabras como máximo.
- Datos de los autores: 80 palabras como máximo. Apellido y Nombres; Título de Grado; Estudios de Posgrado; Cargo / Posición en el lugar de trabajo; Categoría en el Sistema de Incentivos a los Docentes–Investigadores (si es argentino) o similar. Correo electrónico.

Notas técnicas

41) La Nota Técnica es el formato recomendado de presentación de investigaciones originales en los siguientes casos: divulgación de nuevos métodos, comparación del funcionamiento de instrumentos o técnicas, y descripción de los resultados experimentales de interés para la comunidad científica cuando no se pueden realizar investigaciones completas por alguna causa justificada. Deberán limitarse a 10 páginas o 3500 palabras, con no más de 4 figuras y tablas, y no más de 15 referencias, combinando resultados y discusión en una sola sección. El resto del formato será igual al de los artículos. Las Notas Técnicas son sometidas al mismo proceso riguroso de revisión por pares que los artículos.

4- Además de las que poseen signatura, se podrán colocar referencias inéditas o en prensa (indicando la revista en que se publicarán), comunicaciones personales y páginas web.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

I. Scope of the journal

1) The Journal of Science and Technology (RECyT) publishes original articles which represent a contribution to scientific and technological development. It includes works on basic and applied research and technological development, high-impact bibliographical reviews, technical notes, and occasionally case studies which, due to their relevance, deserve their publication¹.

2) The areas of concern are Engineering, Technology, Computer Science, Biology, Genetics, Biochemistry, Pharmacy, Scientific and Technological Education, with their corresponding technology. The final decision on the relevance of an article submitted will be the responsibility of the Editorial Board.

3) Authors who are interested in publishing articles in the RECyT should send their manuscripts in accordance with the norms established below.

4) The articles submitted for publication should not have "Copyright" granted to a third party at the date of submission of the article. Otherwise, the author should request written permission for a new publication in the RECyT.

5) The concepts and opinions expressed in the articles published and their use by others are the sole responsibility of the authors, which is assumed by merely submitting the paper for publication. Articles will be published in Spanish, English or Portuguese, with their abstracts, titles and keywords in three languages.

II. Submission and review of articles

6) The official languages of RECyT are Spanish, English and Portuguese. Contributions in Spanish must conform to the grammatical rules and practices established by the Dictionary and Grammar of Spanish Language of the Spanish Royal Academy in its latest edition. It is advisable to avoid terms in other languages, as long as there is an equivalent in Spanish. Manuscripts in English should conform to the grammatical rules and practices established by the Longman Dictionary of Contemporary English 5th Edition, authors should comply with the norms established for manuscripts in Spanish. Manuscripts in Portuguese should conform to Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa 5ta Edição, authors should also comply with the norms established for manuscripts in Spanish.

7) The manuscript should be submitted electronically

as a Word file, attached by email to: recyt@fceqyn.unam.edu.ar. All the communications with the authors (review and acceptance of articles) will be carried out by email.

8) Manuscripts submitted for publication will first undergo an internal evaluation regarding its relevance, overall quality and category, by the Editorial Board and later, to an external evaluation of relevance and scientific quality by Members of the Review Committee. The Review Committee comprises recognized specialists of the subject area of the RECyT.

9) The general process of Evaluation consists of a comprehensive critical evaluation of the contents and structure of the article, the recommendation or not, of its publication and possible corrections.

10) The Editorial Board reserves the right to reject the work if it does not conform to the areas involved, does not meet the standards established, or does not have the required scientific quality. It also reserves the right to make minor editing changes for a better final presentation of the work.

11) The Editorial Board will notify the author the acceptance or rejection of the article. If necessary, the recommended changes will be asked to proceed with the pertinent steps previous to its publication.

12) Authors should make the corrections and modifications required by the Editorial Board within 30 days. Authors could ask for clarification about the corrections made. The Editorial Board will decide whereafter, and will carry out the modifications requested.

13) The final acceptance of the manuscript will be notified to authors in written. After this step, no further changes will be accepted, unless explicitly requested and clearly justified to the Editorial Board.

14) The original manuscripts will be kept by the RECyT, whether published or not.

III. Manuscript writing rules

Articles

15) Full papers should be up to 6000 words, 12 figures and 20 pages. The Editorial Board may accept longer works in special cases. In all cases, authors should use Arial font, point size 11, and A4 sheets, numbered in the lower right margin, with double spacing, without automatic hyphenation at end of the line, and all margins of 2.5 cm.

16) Tables and figures should be inserted within the text

¹- A manuscript will be considered a full paper when it represents the outcome and conclusions of a full investigation. It will be considered a technical note when dealing with issues such as calibration, methodological proposals, opinions about standards, resolution of operational problems, etc

of the article and located as close as possible to the paragraph where they are mentioned. According to their size, they may be submitted separately, and correctly identified. The scanned figures should be in TIFF and EPS formats, with a 300 dpi resolution. The EB could ask authors to submit the images and graphs of the article, with the format, size, dimensions, resolution, etc. necessary for the edition, once the article has been accepted.

17) Scientific-technical articles written in Spanish and English will be organized following a general scheme as follows: title in Spanish, name of author/s, affiliation (name and address), abstract and keywords in Spanish, title in English, abstract and keywords in English. Scientific-technical articles written in Portuguese will be organized following a general scheme as follows: title in Spanish, name of author/s, affiliation (name and address), abstract and key words in Spanish, title in English, abstract and keywords in English, title in Portuguese, abstract and key words in Portuguese. Then, in the corresponding language: introduction, materials and methods, results and discussion (separately or together), conclusions, list of abbreviations (if applicable), acknowledgments, references and appendices or annexes (if applicable) in the corresponding language (i.e. Spanish, English or Portuguese).

18) Title in Spanish: it should be brief (no more than 15 words) and concise, and should reflect the specific aspects of the work. It must correspond to the title in English.

19) Authors: the authors should be separated by semicolons, placing first the last name followed by a comma, and then the first name and middle initial.

20) Institutional affiliation: affiliation of authors or where the work was carried out should be indicated below the authors. If the authors have different affiliations, a number will be placed in parenthesis after each name, thus establishing the reference to the institutions and their respective addresses. It is suggested that only the names of the essential sections and departments be included. The email addresses of each author should be indicated between parentheses.

21) Abstract in Spanish: It must be a condensation of all parts of the work in 150 words or less, summarizing the objectives, methods, results and conclusions. It must correspond to the content of the Abstract in Spanish and/or Portuguese.

22) Key words in Spanish: The article should contain five key words in Spanish, which will serve to categorize the work in databases².

23) Title in English: It should be brief (no more than 15 words) and concise, and should reflect the specific aspects of the work. It must correspond to the title in Spanish and/

or Portuguese.

24) Abstract in English: It must be a condensation of all parts of the work in 150 words or less, summarizing the objectives, methods, results and conclusions. It must correspond to the content of the Abstract in Spanish and/or Portuguese.

25) Key words in English: The article should contain five key words in English, which will serve to categorize the work in databases².

26) Title in Portuguese: It should be brief (no more than 15 words) and concise, and should reflect the specific aspects of the work. It must correspond to the title in Spanish and English.

27) Abstract in Portuguese (Resumo): it should be a condensation of all parts of the work in 250 words or less, summarizing the objectives, methods, results and conclusions. It must correspond to the content of the Spanish and English abstract.

28) Key words in Portuguese (Palavras-chave): The article should contain five key words in Portuguese, which will serve to categorize the work in databases².

29) Introduction: it should present the subject clearly, making reference only to bibliography of interest. The objectives and hypotheses must be adequately explained.

30) Materials and Methods: The paper must fully describe the materials and methodology used. Recognized norms should be quoted but not explained. The techniques published should briefly include their main features and the corresponding references. Details of all modifications made to any norm or technique should be indicated³.

31) Results and Discussion: These two sections may be included either together or separately. The results should be presented concisely and should be easy to understand. The discussion of the results should include a comparison with previous results (either the authors' own previous results or those of others, with the corresponding references). The authors should avoid duplication of information in tables and graphs.

32) Conclusions: the conclusions should be presented in short and concise paragraphs and must not refer to future work and hypotheses not included in the work.

33) Acknowledgements: these could include the organisms funding the work, as well as the names of the collaborators and technical or specialized staff, specifying the tasks performed by each. For institutional reference of authors, the name of the entity in full and the acronym in parentheses, for example, "Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)" should be.

34) References: References should be mentioned with consecutive numbers in parentheses or square brackets, and

2- If the article is about a discipline which has published thesauri, it is suggested that they be used to define the key words.

3- The general criterion is that the experimental work could be replicated correctly with the data in this item.

should be equal in size to that of the text. The text can include authors' names, but should also include the corresponding reference number. They should be listed according to the order in which they appear in the text. References not mentioned in the text should not be listed. References will be written according to the style of the corresponding discipline, mentioning in all cases: the last name and initials of the authors' names, the complete name or the official acronym of the journal, the volume, number, initial and final pages, and year of publication. For books: name, chapter, publisher, pages and year of publication. The web pages must have the date of access⁴. For books: name; chapter: publishers; pages and year of edition. Web pages should include the date they were retrieved.

Examples:

1. Atanassov, Z.; Zheringe, P. and Wharton D., Evaluation of Wheat Response to Fusarium Head Blight Bases on Seed Set, *Appl. Environm., Chem.* 48: p 993-998. 1994.
2. Cole, R.J. and Cox R.H., *Handbook of Toxic Fungal Matabolites*, Assoc. Press, New York. p 356-379. 1981.
3. Cotty, P.J., *Agriculture, Aflatoxins and Aspergillus in The genus Aspergillus*, K.A. Powll, Editor. Plenum Press, New York. p 1-27. 1994.
4. National Agricultural Statistics Service (1997) Crops county data [Online]. Available at <http://usda.mannlib.cornell.edu/data-sets/crops/9X100> (verified 30 Nov. 1998).

35) Appendices or Annexes: Appendices and Annexes are reserved to describe in detail the original techniques used, or theoretical analysis that would prevent the reader from following the manuscript fluently if they were included in the text. The tables in the appendices may bear numbers that correlate to the text or new numbers.

36) Figures: figures (graphs, charts, photographs, etc.) should be numbered in the order in which they appear in the text and should include a brief caption at its bottom. Images and photographs will be designated as figures.

37) Tables: Tables should be numbered in the order in which they appear in the text and independently of the figures. They must include an explanatory title on the top. If necessary, explanatory notes should be added as footer, detailing abbreviations, symbols, dimensions, etc, so that

the reader can understand their content without referring to the text.

38) Formulas: Formulas and mathematical expressions should be written leaving two spaces above, below and between each other. Formulas should be adjusted to the left margin and should be numbered correlatively and in parentheses on the right margin. The meaning and units used in each term of the expressions should be defined.

39) Units: the International System of Units (SI) should be used.

40) The authors should also provide:

- A short title of the work, comprising nine words or less.
- Authors' information: 80 words or less. Surname and Names; degree; postgraduate studies; position in the place of work; category in the Incentive System for Lecturers-Researchers (if they are Argentine) or similar; email address.

Technical Notes

41) A technical note is the recommended format for submission of original research in the following cases: description of new methods, comparison of the performance of instruments or techniques, and description of the experimental results of interest to the scientific community when a full investigation cannot be carried out for any reason. They should be limited to 10 pages or 3500 words, with no more than four figures and tables, and no more than 15 references, combining results and discussion into one section. The rest of the format will be equal to that of the articles. Technical Notes will be subjected to the same rigorous peer review process as the articles.

4- Besides those which have signature, unpublished references or in press (indicating the magazine where they will be published), personal communications and web pages can also be mentioned.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

I. Alcance da revista

1) A Revista de Ciência e Tecnologia (RECyT) publica artigos originais que representam uma contribuição para o desenvolvimento científico-tecnológico. Inclui trabalhos de investigação básica e aplicada e de desenvolvimento tecnológico, revisões bibliográficas de alto impacto, notas técnicas e eventualmente, estudos de casos que pela sua relevância mereçam ser publicados¹.

2) As áreas de incumbência da Revista são Engenharia, Tecnologia, Informática, Biologia, Genética, Bioquímica, Farmácia, Educação Científica e Tecnológica, com sua correspondente tecnologia. A decisão última sobre a incumbência de um artigo apresentado ficará a cargo do Conselho de Direção (CE).

3) Os autores interessados em publicar artigos na RECyT, deverão enviar seus trabalhos segundo as normas apresentadas mais abaixo.

4) Os artigos submetidos para a publicação não deverão ter “Direitos de Autor” outorgados a terceiros, à data de envio do artigo. Caso contrário, o autor deverá gerenciar, ante quem corresponder, a autorização por escrito para sua nova publicação na RECyT.

5) Os conceitos e opiniões expostos nos artigos publicados e o uso que outros possam fazer deles, são de exclusiva responsabilidade dos autores, a qual é assumida com a só apresentação do artigo para sua publicação. Os artigos se publicam em espanhol, inglês ou português, com resumos, títulos e palavras-chave nos três idiomas.

II. Apresentação e revisão de artigos

6) Os idiomas oficiais da RECyT são o espanhol, o inglês e o português. Os manuscritos em espanhol deverão se ajustar às normas e usos gramaticais que estabelece o Dicionário e a Gramática da Língua Espanhola da “Real Academia Espanhola” em suas últimas edições. Deve-se evitar o uso de termos em outros idiomas, caso exista um equivalente em espanhol. Os manuscritos em inglês deverão se ajustar às normas e usos gramaticais que estabelece o Longman Dictionary of Contemporary English 4th Edition, aplicando-se aqui também, o expresse respeito do espanhol. Os manuscritos em português deverão se ajustar às normas e usos gramaticais que estabelece o Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa 5ta Edição, aplicando-se aqui também o expresse respeito do espanhol.

7) O manuscrito se apresentará em formato eletrônico como arquivo tipo Word, anexo por correio eletrônico ao endereço: recyt@fceqyn.unam.edu.ar. Todas as comunicações com os autores (revisão e aceitação de artigos) se realizarão pelo correio eletrônico.

8) Os trabalhos apresentados para publicar serão submetidos a uma primeira avaliação interna de pertinência, qualidade geral e categoria a cargo do Corpo Editorial e, posteriormente a uma avaliação externa de pertinência e qualidade científica pelos integrantes do Comitê de Revisão. O Comitê de Revisão está integrado por reconhecidos especialistas nos temas de incumbência da RECyT.

9) O processo geral de avaliação consiste numa exhaustiva revisão crítica dos conteúdos e da estrutura do artigo, a sugestão, o não, de sua publicação e eventuais correções.

10) A Corpo Editorial se reserva o direito de rejeitar o trabalho por não se ajustar às áreas em referência, não cumprir as normas estabelecidas ou não possuir a qualidade científica requerida. Também se reserva o direito de realizar modificações menores de edição para uma melhor apresentação final do trabalho.

11) A Corpo Editorial notificará ao autor a aceitação ou rejeição do artigo. Caso ser necessário lhe solicitará que faça as modificações sugeridas para continuar com os trâmites pertinentes prévios a sua publicação.

12) Os autores deverão realizar as correções e modificações requeridas pela Corpo Editorial num prazo de 30 dias. Os autores poderão solicitar esclarecimentos sobre as correções. O CE decidirá sobre o particular e realizará a revisão do trabalho modificado.

13) A aceitação do trabalho em forma definitiva será comunicada por escrito aos autores. A partir desse momento não se aceitarão modificações, exceto solicitude explícita e fundamentada à Corpo Editorial.

14) Os trabalhos originais ficarão no poder da RECyT, se publiquem ou não.

III. Normas para a elaboração de originais

Artigos

15) Os artigos completos deverão ter no máximo 6.000 palavras, 12 figuras e até 20 páginas. A Corpo Editorial poderá aceitar trabalhos de maior extensão em casos especiais.

Em todos os casos se deverão utilizar letra tipo Arial, corpo 11 e formato de folha tipo A4, numeradas na margem

1- Um artigo se considera trabalho quando apresenta os resultados e conclusões de uma pesquisa completa. Este terá categoria de Nota Técnica quando apresente questões como calibrações, propostas metodológicas, opiniões sobre normas, resolução de problemas operativos, etc.

inferior direita, com espaçamento duplo, sem separação automática de sílabas no fim de linha e com as quatro margens de 2,5 cm.

16) As tabelas e figuras se deverão inserir no texto do artigo e deverão se colocar o mais perto possível do sítio no qual são nomeadas. Tendo em conta seu tamanho poderão se apresentar por separado, corretamente identificadas.

As figuras scaneadas deverão estar em formato TIFF e EPS, com 300 dpi de resolução. A Corpo Editorial poderá pedir aos autores, uma vez aceito o trabalho, que façam entrega das imagens e os gráficos do artigo, com o formato, tamanho, dimensões, resolução, etc. necessários para a edição.

17) Os artigos científicos - técnicos escritos em espanhol e inglês se organizarão seguindo o esquema geral em ordem sucessivo: título em espanhol, nome (s) de o (os) autor (es), nomes e endereços da instituição a qual pertencem, resumo e palavras-chave em espanhol, título em inglês, resumo e palavras-chave em inglês.

Os artigos científicos- técnicos escritos em português se organizarão seguindo o esquema geral em ordem sucessivo: título em espanhol, nome (s) de o (os) autor (es), nomes e endereços da instituição a qual pertencem, resumo e palavras-chave em espanhol, título em inglês, resumo e palavras-chave em inglês, título em português, resumo e palavras-chave em português. Logo, no idioma que corresponder, introdução, materiais e metodologia, resultados e discussão, (juntos ou separados), conclusões, lista de abreviaturas (se corresponder), agradecimentos, referências e apêndices ou anexos (se corresponder).

18) Título em espanhol: Deverá ser breve (no maior a 15 palavras), conciso e dar conta de aspectos específicos do trabalho. Deverá se corresponder com o título em inglês e/ou português.

19) Autores: Deverão ser nomeados separados por ponto e vírgula. Primeiro os sobrenomes seguidos de vírgula, e a continuação, o primeiro nome e inicial do segundo com um ponto.

20) Endereço: Em baixo dos autores se indicará a instituição a qual pertencem ou onde foi desenvolvido o trabalho. Caso os autores pertençam a diferentes instituições, logo de cada nome se escreverá um número entre parênteses, se estabelecendo assim a referência as instituições e seus respectivos endereços. Sugere-se incluir os nomes das seções e dependências imprescindíveis. Indicar, entre parênteses, os endereços eletrônicos pessoais.

21) Resumo em espanhol: Deverá ser uma condensação de todas as partes do trabalho num máximo de 150 palavras sintetizando os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões. Deve se corresponder com o conteúdo do Resumo em inglês e/ou português.

22) Palavras - chave em espanhol: O artigo deverá conter 5 palavras-chave no idioma espanhol, que servirão para catalogá-lo nas bases de dados².

23) Título em inglês: Deverá ser breve (no maior a 15 palavras), conciso e dar conta dos aspectos específicos do trabalho. Deverá se corresponder com o título em espanhol e/ou português.

24) Resumo em inglês (Abstract): Deverá ser uma condensação de todas as partes do trabalho num máximo de 150 palavras, sintetizando os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões. Deve se corresponder com o conteúdo do resumo em espanhol e/ou português.

25) Palavras - chave em inglês (Key words): O artigo deverá conter 5 palavras-chave no idioma inglês, que serão de utilidade para catalogá-lo nas bases de dados².

26) Título em português: Deverá ser breve (no maior a 15 palavras), conciso e dar conta dos aspectos específicos do trabalho. Deverá se corresponder com o título em espanhol e inglês.

27) Resumo em português (Resumo): Deverá ser uma condensação de todas as partes do trabalho num máximo de 150 palavras, sintetizando os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões. Deve se corresponder com o conteúdo do Resumo em espanhol e inglês.

28) Palavras - chave em português (Palavras - chave): O artigo deverá conter 5 palavras-chave no idioma português, que servirão para catalogá-lo nas bases de dados².

29) Introdução: Deve apresentar com clareza o tema, fazendo referência somente aos antecedentes bibliográficos de interesse. Os objetivos e as hipóteses deverão estar adequadamente explicados.

30) Materiais e Metodologia: O trabalho deverá descrever de maneira completa os materiais e metodologias utilizados. As normas reconhecidas deverão ser citadas mas não explicadas.

As técnicas publicadas deverão apresentar em forma resumida suas características principais e as referências correspondentes. Deverão se detalhar todas as modificações realizadas a qualquer norma o técnica³.

31) Resultados e Discussão: Estas duas seções poderão se incluir juntas ou separadas. Os resultados serão expostos com estilo conciso e facilmente compreensível. A discussão dos resultados incluirá a comparação com resultados prévios (próprios ou de outros autores, com as referências correspondentes). Deverá - se evitar a duplicação de informação em tabelas e gráficos.

32) Conclusões: Devem se apresentar em parágrafos curtos e concretos. Não devem fazer referência a trabalhos futuros nem a hipóteses não incluídas no trabalho.

33) Agradecimentos: Poderão se incluir os órgãos que financiaram o trabalho, assim como os colaboradores e o pessoal técnico ou especializado, especificando as tarefas

2- Caso a disciplina que é abordada pelo artigo possua tesouros publicados, se sugere utilizá-los para a definição das palavras-chave.

3- O critério geral é que com os dados deste item se possa replicar corretamente o trabalho experimental.

realizadas por cada um. Como referência institucional dos autores se escreverá o nome completo da entidade e a sigla entre parênteses, por exemplo: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

34) Referências: As citas bibliográficas deverão se consignar com números correlativos, entre parênteses, de tamanho igual ao do texto. O texto pode incluir nomes de autores, mas conjuntamente figurar o número de referência bibliográfica correspondente. No item correspondente, se consignarão segundo a ordem na que apareçam no texto.

Não se incluirão referências que não figuram no texto. As referências se colocarão segundo o estilo da disciplina em questão, figurando, em todos os casos: sobrenome e iniciais dos nomes dos autores nessa ordem; nome da publicação periódica completa ou com as abreviaturas oficiais, volume, número, página inicial e final, ano de publicação⁴. No caso de livros: nome, capítulo, editorial, página e ano de edição. As páginas web deverão ter a data de consulta.

Exemplos:

1. Atanassov, Z; Zheringe, P y Wharton D., Evaluation of Wheat Response to Fusarium Head Blight Bases on Seed Set., Appl. Environm. Chem. 48: p. 993–998.1994.

2. Cole, R.J. y Cox R.H., Handbook of Toxic Fungal Metabolites, Assoc.Press, New York. p 356–379.1981.

3. Cotty, P.J., Agriculture, Aflatoxins and Aspergillus in The genus Aspergillus, K. A. Powll, Editor. Plenum Press, New York. p 1–27.1994.

4. National Agricultural Statistics Service (1997) Crops county data [Online]. Available at <http://usda.mannlib.cornell.edu/data-sets/crops/9X100> (verified 30 Nov. 1998).

35) Apêndices ou Anexos: Reservam-se para detalhar técnicas originais utilizadas ou análises teóricos que seriam de impedimento para seguir fluidamente o trabalho caso foram inclusos no texto.

As tabelas dos apêndices podem levar números correlativos com os do texto ou iniciar outra numeração.

36) Figuras: As figuras (gráficos, Quadros, fotografias, outros) deverão se numerar correlativamente em ordem de aparição no texto e deverão incluir um breve título explicativo na parte inferior da figura. As imagens e fotografias se designarão como figuras.

37) Tabelas: As tabelas deverão se numerar correlativamente segundo sua ordem de aparição no texto e de maneira independente das figuras. Deverão incluir um título explicativo na parte superior. Caso ser necessário se somará no rodapé notas explicativas para esclarecer abreviaturas, signos, medidas, outros, de maneira que o leitor possa compreender seu conteúdo sem ter que ir para o texto.

38) Fórmulas: As fórmulas e expressões matemáticas deverão ser escritas deixando dois espaços sobre, embaixo e entre cada uma delas. As fórmulas se ajustarão à margem esquerda e serão numeradas correlativamente e entre parênteses sobre a margem direita. Deve ficar definido o significado e as unidades utilizadas em cada termo das expressões.

39) Unidades: Deve se utilizar o sistema internacional de unidades (SI).

40) Apresentar também:

- Um título resumido do trabalho, no máximo de 9 palavras.

- Dados dos autores: No máximo de 80 palavras. Sobrenome e Nomes; Título de Graduação e Pós-graduação; Cargo / Posição no local de trabalho; Categoria no Sistema de Incentivos de Docentes–Pesquisadores (se é argentino) ou semelhante. Correio eletrônico.

Notas técnicas

41) A Nota Técnica é o formato de apresentação sugerido para pesquisas originais nos seguintes casos: Divulgação de novas metodologias, comparação do funcionamento de instrumentos ou técnicas, e descrição dos resultados experimentais de interesse para a comunidade científica, quando não se possam realizar pesquisas completas por alguma causa justificada. Deverão se limitar a 10 páginas ou 3500 palavras, com não mais de 4 figuras e tabelas, e não mais de 15 referências, combinando resultados e discussão numa só seção. As demais características do formato serão iguais às dos artigos.

As Notas Técnicas são submetidas ao mesmo processo rigoroso de revisão por pares que os artigos.

4- Além das que possuir assinatura, se poderão colocar referências inéditas ou em imprensa (indicando a revista em que se publicarão), comunicações pessoais e páginas de Internet.

CONFIRMACIÓN DE AUTORÍA Y DERECHOS DE PUBLICACIÓN
al presentar un trabajo, completar y enviar por fax a la revista

Fecha: _____

Los autores del trabajo titulado:

confirman a través de sus firmas al final del texto que:

1. Este trabajo no fue enviado para publicación a ninguna otra revista científica;
2. Cada autor leyó y aprobó el trabajo enviado;
3. Si el trabajo pudiera afectar los derechos humanos, o ser causa de un eventual daño al medio ambiente, a los animales y/o a las generaciones futuras, los autores deberán informar las previsiones tomadas para evitar riesgos emergentes y garantizar el buen uso y manejo de la información;
4. Eventuales contenidos del texto o figuras u otras partes del manuscrito tomados de otras publicaciones están debidamente citados y en caso necesario, los permisos para publicaciones de tales partes son de responsabilidad de los autores;
5. En el caso específico de la Investigación Biomédica, los investigadores deben conocer y realizar las salvaguardas previstas en todos los requisitos éticos, legales y jurídicos, establecidos en las normas bioéticas nacionales e internacionales¹;
6. Los autores no tienen conflictos personales, financieros u otro tipo de conflictos de intereses y no han realizado ningún acuerdo que pueda interferir con el acceso a los datos de la investigación.

Nombre completo	Firma	Dirección electrónica

CONFIRMATION OF AUTHORSHIP AND PUBLICATION REGULATIONS
When submitting a manuscript, please complete and fax to the journal

Date: _____

The authors of the manuscript entitled:

by signing at the end of this text, certify that:

1. This article has not been previously published and is not under consideration for publication elsewhere;
2. All authors have seen and approved the manuscript being submitted;
3. If the article affects the human rights in any way, or is a reason of possible damage to the environment, animals and/or future generations, the authors will have to inform the precautions taken to avoid consequent risks and to guarantee the good use and managing of the information;
4. Contents of the text or figures or other parts of the manuscript taken from other publications should be declared when submitting; and in such a case, the permissions for publications of those parts are the author's responsibility;
5. In the specific case of the Biomedical Research, the investigators must know and be sure about all the ethical, legal and juridical requirements, established in the national and international bioethical procedures²;
6. The authors have no personal, financial or another type of conflicts of interests and have not assumed any agreement that could interfere with the access to the information of the research.

Full Name	Signature	e-mail

1- Nacionales: Disposición ANMAT 5330/97. Internacionales: Código de Núremberg, Declaración de Helsinki y sus modificaciones, Declaración Universal sobre Genoma Humano y Derechos Humanos aprobada por la Conferencia General de la UNESCO, del 11 de noviembre de 1997.

2- National: ANMAT 5330/97 file. International: Núremberg Code; Helsinki's declaration with modifications, Universal Declaration about Human Genome and Rights proved by UNESCO General Conference; on November 11th, 1997.

CONFIRMAÇÃO DE AUTORIA E DIREITOS DE PUBLICAÇÃO
Para apresentar um trabalho, preencher e enviar por fax à revista

Data: _____

Os autores do trabalho titulado:

Confirmam através de suas assinaturas no final deste texto que:

1. Este trabalho não foi submetido para a publicação em nenhuma outra revista científica;
2. Cada autor leu e aprovou o trabalho submetido;
3. Caso o trabalho pudesse afetar os direitos humanos, ou ser causa de um eventual dano ao médio ambiente, a os animais e/ou as gerações futuras, os autores deverão informar as previsões necessárias para evitar riscos emergentes e garantir o bom uso e emprego da informação;
4. Eventuais conteúdos do texto ou figuras ou outras partes do artigo retiradas de outras publicações estão devidamente referenciados e, caso necessário, as permissões para publicações desses conteúdos são de responsabilidade dos autores;
5. No caso específico da Investigação Biomédica, os pesquisadores devem conhecer e realizar as salvaguardas previstas em todos os requisitos éticos, legais e jurídicos, estabelecidos nas normas bioéticas nacionais e internacionais³;
6. Os autores não tem conflitos pessoais, financeiros ou outro tipo de conflitos de interesses nem tem realizado nenhum convênio que possa interferir com o acesso aos dados da pesquisa.

Nome e Sobrenome	Assinatura	Endereço eletrônico

3- Nacionais: Disposição ANMAT 5330/97. Internacionais: Código de Nuremberg, Declaração de Helsinki e suas modificações, Declaração Universal sobre Genoma Humano e Direitos Humanos aprovada pela Conferência Geral da UNESCO, do 11 de novembro de 1997.