

## RELACIÓN ENTRE PARÁMETROS CINÉTICOS DE INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA Y ATRIBUTOS DE CALIDAD EN VEGETALES PRE-COCIDOS CONGELADOS

Pérez-Calderón, J (1), Santos, M.V (1) (2), Califano, A (1), Zaritzky, N (1) (2)

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos- Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata, Argentina , CONICET, CIC-PBA, Argentina. Dirección postal: 47 y 116 (CP. 1900)

(2) Depto. de Ingeniería Química- Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

e-mail: [lic.john.pecal@gmail.com](mailto:lic.john.pecal@gmail.com)

### INTRODUCCIÓN

Los repollitos de Bruselas (*Brassica oleracea gemmifera*) son crucíferas con un alto contenido de compuestos anti-cancerígenos y beneficios nutricionales. Dentro de los vegetales preparados para el consumo (“Ready to eat”) aquellos pre-cocidos congelados tienen gran aceptación. Estos vegetales contienen enzimas responsables de su deterioro aún cuando sean conservados congelados. Durante el procesamiento industrial de los vegetales la etapa de pre-cocción inactiva enzimas como la peroxidasa (POD) y lipoxigenasa (LOX), ambas presentes en crucíferas (Morales y col., 2012). POD es utilizada frecuentemente como indicadora del proceso dada su estabilidad térmica, por otro lado la presencia de LOX está asociada a modificaciones indeseables de olor y sabor. La completa inactivación de estas enzimas implica pérdida de atributos de calidad debido a una sobre-cocción. Para establecer tiempos adecuados de pre-cocción a nivel industrial, la simulación computacional aplicada a procesos de transferencia de energía es fundamental para la optimización del proceso. Las constantes cinéticas de inactivación enzimática y sus energías de activación son parámetros necesarios para determinar tiempos óptimos de tratamiento térmico. En este sentido los objetivos del trabajo son: a) determinar la cinética de inactivación de las enzimas POD y LOX, b) acoplar las cinéticas de inactivación a modelos numéricos de transferencia de energía para simular computacionalmente la etapa de pre-cocción, c) establecer los cambios en parámetros de calidad luego del almacenamiento congelado d) analizar la relación que existe entre los atributos de calidad y la actividad enzimática residual para optimizar el proceso.

### ACTIVIDADES Y METODOLOGÍA

Se preparó un extracto enzimático a partir del vegetal fresco, se homogeneizaron en un buffer de fosfato de potasio (0.2 M pH 6.5 a 4°C) y dispusieron en microtubos de plástico de 2 µL. Para el ensayo de la cinética de inactivación se sumergieron los

microtubos en un baño termostático a diferentes temperaturas de calentamiento (70-90°C) extrayéndolos cada 10-20 segundos (tiempo máximo 400s); las muestras retiradas del calentamiento se enfriaron rápidamente en un baño hielo-agua (0°C). Se midió la Actividad Enzimática (AE) por espectrofotometría, mezclando el extracto enzimático con un sustrato específico de acuerdo a la enzima estudiada; para POD se usó como sustrato guayacol y para la LOX ácido linoleico. La AE se midió a través del cambio de la absorbancia a 470 nm para POD y 234 nm para LOX.

Se simuló el proceso de transferencia térmica resolviendo la ecuación diferencial a derivadas parciales en estado no estacionario y aplicando el método de los elementos finitos (COMSOL Multiphysics), acoplado a la cinética de inactivación térmica de POD y LOX al programa principal.

Se determinaron los cambios de calidad (variación del color, textura, y sabor) luego de un almacenamiento congelado en cámaras a -20°C durante 4 meses. Asimismo se midió la cantidad de ácido ascórbico y el %AE de POD y LOX antes y después del almacenamiento congelado.

## RESULTADOS

Se obtuvieron las curvas de %AE vs tiempo a distintas temperaturas de calentamiento, detectando la presencia de isoenzimas termo-lábiles y termo-resistentes tanto para POD y LOX. Mediante regresiones no lineales (Ling y Lund, 1978) se encontró para POD que las constantes cinéticas de la fracción resistente ( $k_R$ ) tienen valores entre  $3.85 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  ( $0.36 \times 10^{-3}$ ) (valores en paréntesis corresponden a la desviación estándar) y  $7.47 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  ( $0.24 \times 10^{-3}$ ) entre 75-90°C. Las constantes cinéticas de la fracción lábil ( $k_L$ ) estuvieron entre  $3.11 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  ( $0.21 \times 10^{-2}$ ) y  $7.87 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  ( $0.18 \times 10^{-2}$ ); las energías de activación fueron  $5.63 \times 10^4 \text{ J/mol}$  ( $2.98 \times 10^3$ ) y  $6.25 \times 10^4 \text{ J/mol}$  ( $1.87 \times 10^3$ ) para la isoenzima termolábil y resistente, respectivamente. Para el caso de la LOX los valores de  $k_R$  estuvieron entre  $0.80 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  ( $0.04 \times 10^{-4}$ ) y  $2.14 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  ( $0.18 \times 10^{-4}$ ) entre 75-90°C. Las  $k_L$  estuvieron entre  $1.85 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  ( $0.02 \times 10^{-2}$ ) y  $2.80 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  ( $0.06 \times 10^{-2}$ ). Las energías de activación fueron  $6.58 \times 10^4 \text{ J/mol}$  ( $4.5 \times 10^3$ ) y  $6.37 \times 10^4 \text{ J/mol}$  ( $2.8 \times 10^3$ ) para la isoenzima termolábil y resistente respectivamente.

Los repollitos de Bruselas tienen una geometría irregular que puede asimilarse a un sólido de revolución. El modelo numérico permitió predecir las variaciones de la concentración media de las enzimas POD y LOX en todo el vegetal y sus fracciones lábil y resistente en función del tiempo de calentamiento a distintas temperaturas (entre 75 y 90 °C).

Se evaluaron cambios en los atributos de calidad y contenido de ácido ascórbico luego de la pre-cocción y almacenamiento congelado en la zona apical y en la capa exterior del vegetal. Se relacionaron estos cambios con los %AE residual, observando que a tiempos cortos de pre-cocción existe un fenómeno de reactivación enzimática, siendo más pronunciado en la zona apical donde la penetración térmica fue menor. Se detectó mediante la evaluación sensorial y de atributos de calidad que la óptima condición de precocción corresponde a un tiempo de 6 minutos a 90°C.

## CONCLUSIONES

Se determinaron experimentalmente los parámetros cinéticos de inactivación enzimática en repollitos de Bruselas para la POD y LOX detectando un comportamiento bifásico (fracción termolábil y termo-resistente). A partir de estos resultados se calcularon las constantes de inactivación de cada fracción en ambas enzimas y mediante regresiones no-lineales se obtuvieron las energías de activación y la fracción inicial de cada isoenzima. Se modeló matemáticamente el proceso de calentamiento en Repollitos de Bruselas acoplado las cinéticas de inactivación enzimática, lo cual permitió el cálculo de la concentración media de las enzimas después de distintos tratamientos térmicos, con el fin de obtener la optimización del proceso global. Se observó la presencia del fenómeno de reactivación enzimática, siendo más marcado a tiempos cortos de calentamiento. Mediante estudios sensoriales y de parámetros de calidad, se determinó que el tiempo óptimo de pre-cocción de 6 minutos a 90°C logra una inactivación enzimática adecuada para obtener un vegetal pre-cocido congelado de alta calidad.

## REFERENCIAS

- Morales-Blancas E.F., Chandia V.E., y Cisneros-Zevallos L., (2002). *J Food Sci*, Vol. 67: 146-154.
- Ling A, Lund D. 1978. *J Food Sci*, 43: 1307-1310.