

Prolongación de la vida útil del espárrago blanco congelado por efecto de las ondas electromagnéticas CAS (Cells Alive System)

Prolongation of the useful life of frozen white asparagus due to the effect of electromagnetic waves CAS (Cell Allive System)

Modesto Lorenzo Vega Tang^{1,*} ; Vito Erasmo Quilcat León² .

¹ Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

² Docente del Dpto. de Química. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú. vquilcat@unitru.edu.pe

*Autor correspondiente: mvega@unitru.edu.pe (M. Vega)

DOI: [10.17268/rev.cyt.2023.03.02](https://doi.org/10.17268/rev.cyt.2023.03.02)

RESUMEN

En una congelación convencional, el tejido reticular del espárrago se ve deteriorado, debido a la expansión del agua al convertirse en hielo, y no mantiene el sabor y la textura de un espárrago fresco. El presente trabajo consistió en congelar espárragos blancos de un mismo lote, de manera simultánea, por un método asistido por ondas electromagnéticas y por el método convencional, que consistió en alcanzar la temperatura de congelamiento, sin control alguno. Los turiones de espárrago fueron sometidos a temperaturas de congelamiento entre -5 a -25 °C en 35 minutos, en los dos métodos, el tradicional y el propuesto por este trabajo según recomienda ABI Corporation fabricante del Equipo de congelación de células vivas, utilizando para esto ondas electromagnéticas, (Cells Alive System (CAS)), luego de lo cual se almacenaron congelados durante un año y sometidos a análisis cromatográficos y de microscopía electrónica a partir del segundo mes, obteniéndose resultados que muestran ventajas del uso de ondas electromagnéticas en un congelamiento. Mediante microscopía electrónica se determinó la diferencia en la estructura molecular interna de los espárragos congelados por ambos métodos, pudiéndose observar un mayor deterioro molecular en el espárrago congelado convencionalmente.

Palabras clave: Congelamiento CAS; expansión; deterioro nutricional; exudación, convencional.

ABSTRACT

When there is a conventional freezing, the reticular tissue of the asparagus is deteriorated, due to the expansion of the water when it turns into ice, and does not maintain the flavor and texture of fresh asparagus. The present work consisted of freezing white asparagus from the same lot, simultaneously, by an electromagnetic wave-assisted method and by the conventional method, which consisted of reaching the freezing temperature, without any control. The asparagus shoots were subjected to freezing temperatures between -5 to -25 °C in 35 minutes, in the two methods, the traditional and the one proposed by this work as recommended by ABI Corporation, manufacturer of the live cell freezing equipment, using electromagnetic waves (Cells Alive System (CAS)), after which they were stored frozen for one year and subjected to chromatographic and electron microscopy analysis from the second month, obtaining results that show advantages of the use of electromagnetic waves in freezing. Electron microscopy was used to determine the difference in the internal molecular structure of the asparagus frozen by both methods, showing a greater molecular deterioration in the conventionally frozen asparagus.

Keywords: CAS freezing; expansion; nutritional deterioration; exudation, conventional.

1. INTRODUCCIÓN

Los alimentos son perecederos por naturaleza, es decir, su vida útil es muy corta; siendo necesario utilizar métodos de preservación que permitan aumentar su duración. La criogenia es un método muy empleado en la conservación de alimentos, en el cual se usa nitrógeno líquido, poderoso refrigerante que congela muy rápido, generando cristales de hielo muy pequeños, lo que evita daños físicos en los alimentos al ser congelados.



Se usa el congelamiento para conservar de mejor manera el contenido nutricional del espárrago, dentro de ellos los flavonoides, así como de sus propiedades organolépticas: color, olor y textura. De esta manera, el producto congelado puede llegar a lugares tan alejados del sitio de cosecha y producción.

Otero et al, (2017) emplearon ondas electromagnéticas con menos de 2 militesla (mT) y frecuencias entre 6 a 59 hertz (Hz) para una conservación criogénica; esta técnica se realiza a ultra presión dentro de un campo magnético con uso de energía CAS, estableciendo una relación de cristales de hielo con las propiedades organolépticas de alimentos, como sabor, textura, color y sabor.

Aldoracín et al, (2022) y Kang et al, (2021) concluyeron que la conservación resulta mejor aplicando la técnica de congelamiento asistido por ondas electromagnéticas, denominado Sistema de Células Vivas (CAS). Mediante esta técnica la calidad del producto, así como el contenido de flavonoides, no sufren mayor deterioro.

Kobayashy y Suzuki (2019) establecen que en una congelación rápida convencional no se puede proteger a los tejidos porque se forman cubos de hielo por la expansión de las moléculas del agua durante el congelamiento, y por consiguiente, ocasiona deterioro en el sabor y textura del espárrago fresco.

En el Instituto Tecnológico de la Producción (ITP) se realizaron pruebas de ultra congelación (por método CAS) con diversos productos, como fresa, palta, mango, granada, arándano, entre otros, presentados en forma de cubos, en mitades, rebanadas, ensaladas; que mayormente son exportados a otros países.

En todos los trabajos anteriores de congelamientos de frutas y hortalizas, no hay registros o resultados que comparen métodos de congelamiento CAS con lo convencional; este trabajo pretende demostrar las ventajas de un congelamiento CAS.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales:

Congelador ABBI-CAS (Cell Alive System), microscopio electrónico de barrido (SEM), equipo HPLC MI-22, balanza analítica Sartorius, cromatógrafo HPLC Agilent 1100 Series, micropipetas de 100 uL y 1000 uL, equipo purificador de agua Barnstead, equipo baño maría Univebe 401, equipo filtración al vacío Weleh Duo Seal, agitador magnético Fisher, estufa Memmert 854 Schabach W-Germany, centrifuga sorvall, quercetina Q.P., Aldrich, acetonitrilo grado HPLC, metanol Q.P, KH_2PO_4 (s), Q.P., ácido acético glacial, turiones de espárrago blanco (36), fiolas de 25 mL, 50 mL, 250 mL 1 L, matraces Erlenmeyer de 50 y 100 mL, pipetas, probetas, vasos de precipitación, viales de color ámbar, filtros de jeringa, filtros de membrana de 0,45 μm de nylon, papeles filtros Wathman N° 1, jeringas descartables de 3 mL.

En la Figura 1 se indica desde la obtención de los espárragos hasta tenerlos listos para los análisis.

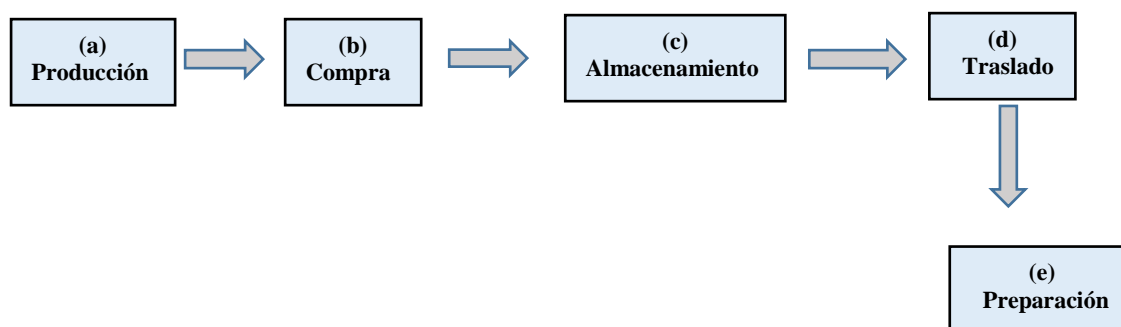


Figura 1. Diagrama de flujo desde la producción hasta el análisis de las muestras.

2.2. Acondicionamiento de la muestra:

Los espárragos blancos, fueron cosechados de un lote específico de la zona de Santa Elena – Virú. Separados en una canasta de plástico (jaba), un total de 20 kg, escogiendo los calibres entre 13 y 15 mm de diámetro, puntas cerradas e intactas. Los espárragos frescos comprados (el mismo día de cosecha) fueron trasladados al acopio de comercialización en el Puente Virú (Trujillo-La Libertad).

En ese mismo día se colocó a refrigerar a 10°C, en un equipo termoquín. Se trasladó hacia las instalaciones del Instituto Tecnológico de la Producción (ITP). Al día siguiente de la cosecha. Los turiones de espárrago, limpios

y cortados a una longitud de 15 cm, se sumergieron en agua caliente a 80°C de temperatura por un tiempo de 3 min.

A continuación, se muestra el recorrido de las muestras, desde el congelamiento hasta el análisis.

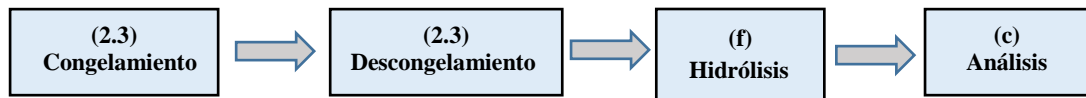


Figura 2. Diagrama de flujo de congelamiento y análisis de las muestras.

2.3. Congelamiento en equipo especial, usando ondas electromagnéticas

Los turiones de espárragos, limpios y cortados, se sumergieron en agua caliente a 80°C por 3 min, congelado por los dos métodos: CAS y convencional. Se tomaron 48 turiones del lote de espárrago preparado, separados en dos lotes, 24 turiones para cada grupo. Un primer grupo se congeló sin uso de ondas electromagnéticas. El segundo grupo se congeló con exposición de energía 60% de energía CAS con un campo magnético de 2,4 G ($2,4 \times 10^{-4}$ T). Ambos grupos se mantuvieron en congelamiento desde -5°C hasta -25°C por un tiempo de 35 minutos. Este valor de campo magnético fue recomendado por ABI Corporation. (<https://www.abi-net.co.jp/>), fabricante del Equipo de congelación de células vivas, Cells Alive System (CAS).



Figura 3. Equipo de congelación ABI por un Sistema de Células Vivas (Cell Alive System).



Figura 4. Inserción de termocuplas de temperatura a los turiones.

2.4. Descongelamiento y preparación de la muestra por hidrólisis

Alvarado, (2012) ya realizó similar marcha, los turiones de espárrago fueron descongelados de manera natural, usando agua potable para el lavado, cortado en rodajas de 2 mm, para luego proceder a secarlas en una estufa a 80°C por 8 horas. Después de triturar en un mortero, se pasó por el tamiz de 200 μ m.

Se cogieron 1,5 g de muestra del turión, molida y tamizada, posteriormente colocada dentro de un balón de vidrio de 125 mL conteniendo 5 mL de HCl 6 M y 10 mL de metanol. Con el agitador protegido con papel aluminio se procedió a calentar con agitación magnética por dos horas a 90°C.

Luego de enfriar, se usó la centrífuga y trasvasamos a una fiola de 25 mL, donde se aforó con metanol y filtro en una membrana de 0,25 µm.

Este método se muestra en un diagrama de bloques en la Figura 6:

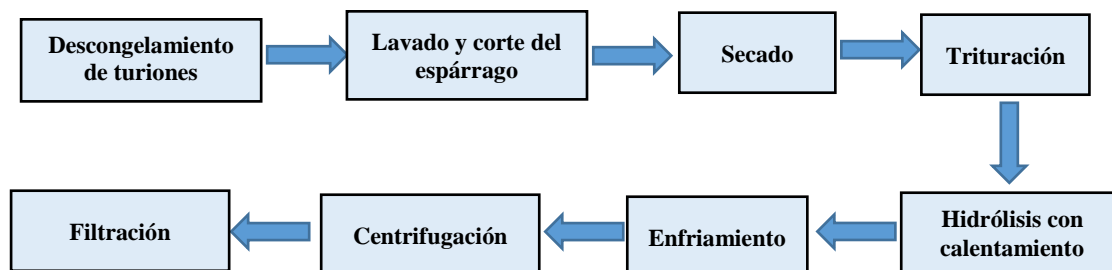


Figura 5. Hidrólisis del espárrago y preparación para los análisis espectrales.

2.5. Parámetros óptimos de operación del cromatógrafo HPLC de Agilent 1100

Se preparó una muestra estándar de quercitina QP. Aldrich de 1 mg/L, siguiendo el modelo empleado por Alvarado (2012), para la preparación de estándares y análisis de cromatografía líquida de alta resolución: el procedimiento de hidrólisis y la fase móvil se mantuvo constante, porque el pico característico de la quercitina encontrado en el espárrago (turiones híbridos *Asparagus officinalis L.* está muy bien definido a partir de muestras estándares validadas por Castro y Costilla (2015).

Para obtener los espectros, se empleó acetonitrilo al 30% como fase móvil, teniendo como solución tampón búfer fosfato (KH_2PO_4) 0,025 M. La mezcla final tuvo un pH de 2,4.

La descarga de esta solución se hizo con un caudal de 0,90 mL/min a 370 nm de longitud de onda. La quercitina se retuvo por un tiempo de 5 min.

La foto del equipo de HPLC utilizado en los análisis se muestra en la Figura 6:



Figura 6. Equipo HPLC MI-22

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El espárrago tiene compuestos antioxidantes como los flavonoides y ácidos fenólicos e hidroxicianídricos, es así que se tomaron como referencia dos muestras estándares del flavonoide (quercitina a 100 ppm), los cuales se encuentran en un rango de tiempo de retención entre 2,269 y 4,194 minutos, espectros que se observa en la Figura 7 y 8. También se realizó la lectura del contenido inicial de este tipo de compuesto para el espárrago fresco blanco (Figura 09). Estos espectros sirven para comparar concentraciones de flavonoides y establecer diferencias de absorbancias entre los turiones llevados a muestreo. En las Figuras 10 y 11 se puede notar las diferencias en el contenido entre los espectros de los espárragos congelados y almacenados por dos meses (ver Tabla 1). De manera similar, se puede indicar en las Figuras 12 y 13, registrándose grandes diferencias en el contenido de este flavonoide después de un año de almacenamiento (ver Tabla 1).

3.1. Cromatogramas de las muestras de espárrago

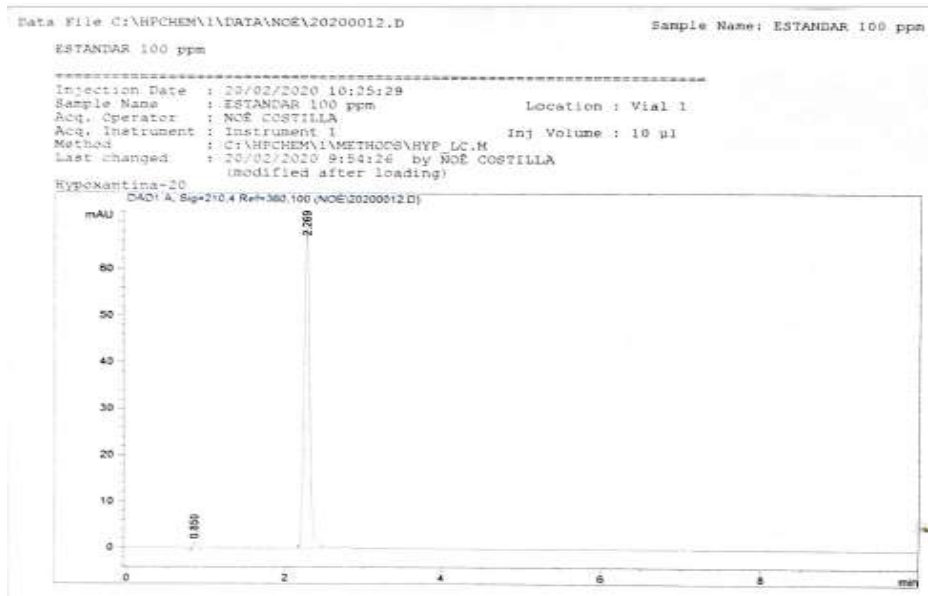


Figura 7. Cromatograma estándar-01 del flavonoide (quercitina).

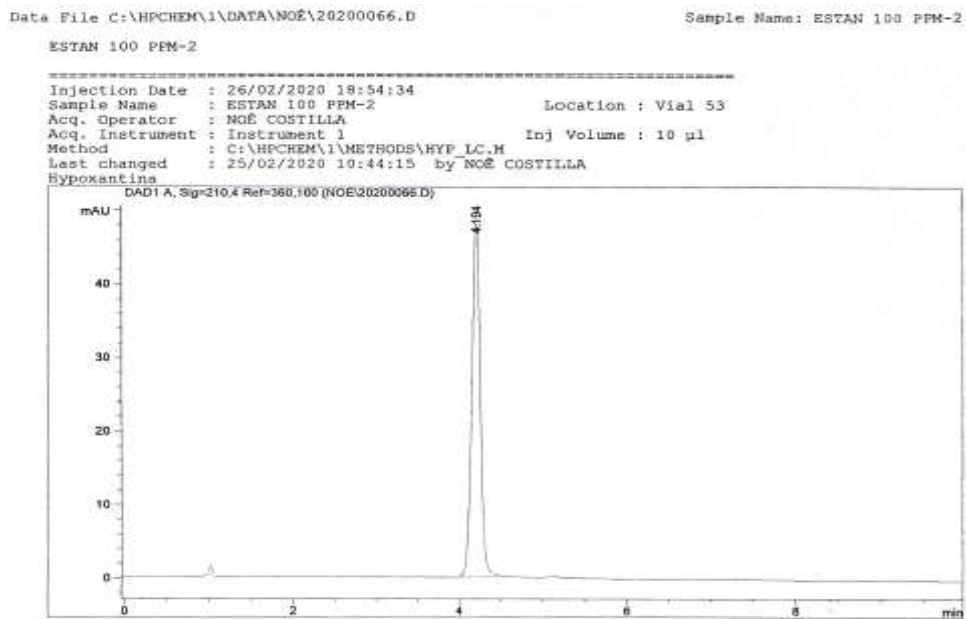


Figura 8. Cromatograma estándar-02 del flavonoide (quercitina).

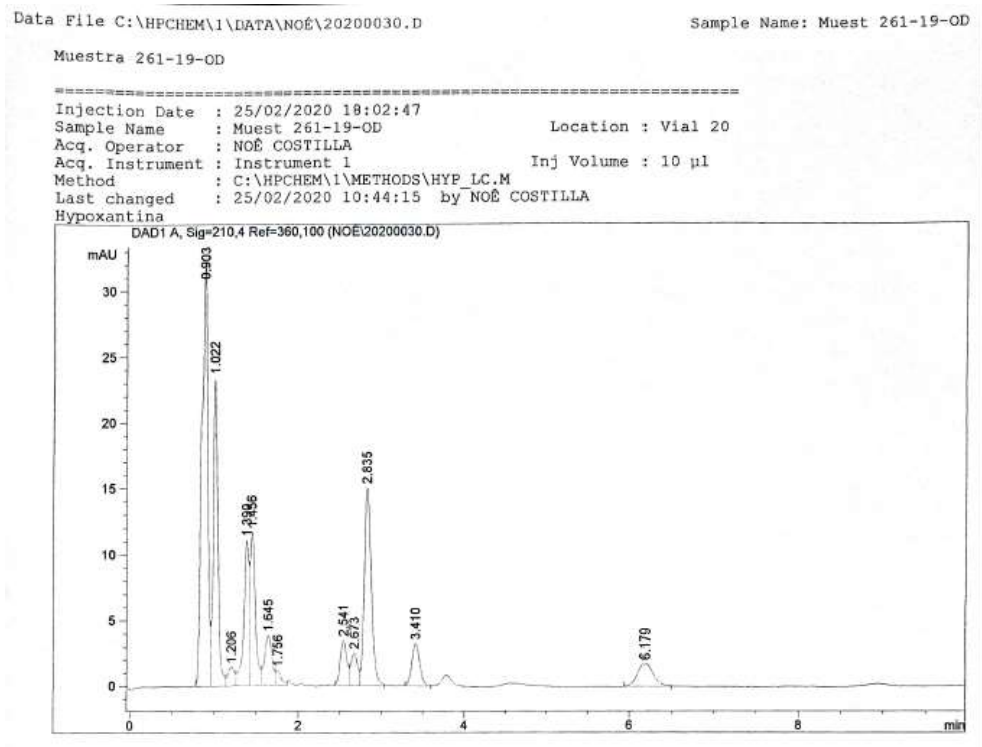


Figura 9. Cromatograma HPLC del espárrago blanco fresco (sin congelar).

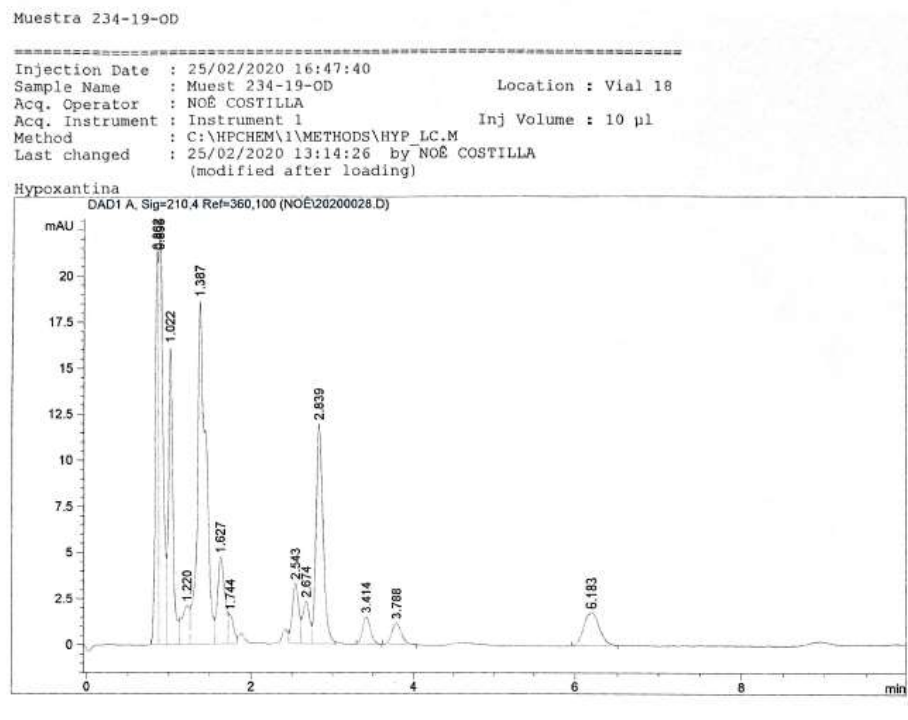


Figura 10. Cromatograma HPLC del espárrago blanco congelado por dos meses en modo CAS.

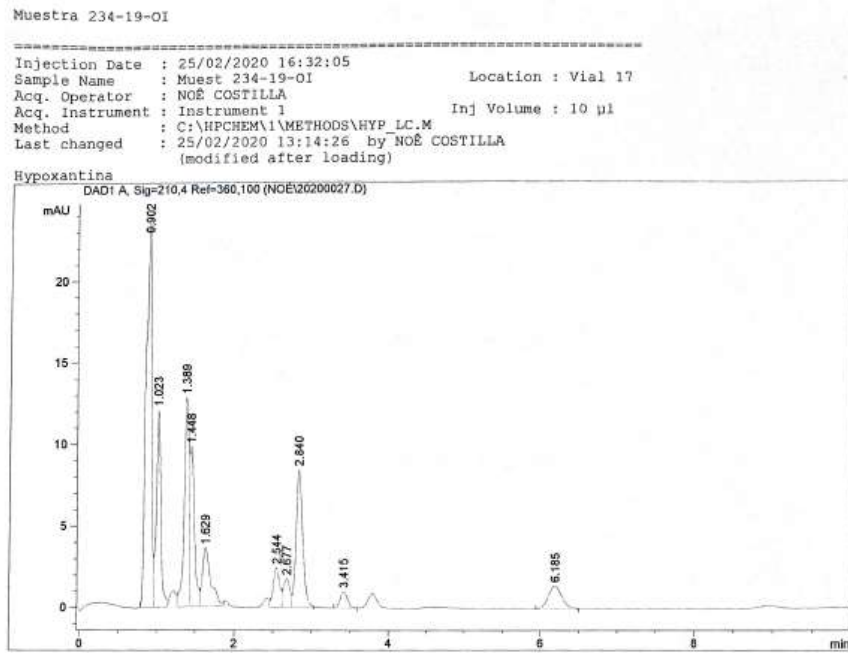


Figura 11. Cromatograma HPLC del espárrago blanco congelado por dos meses en modo convencional.

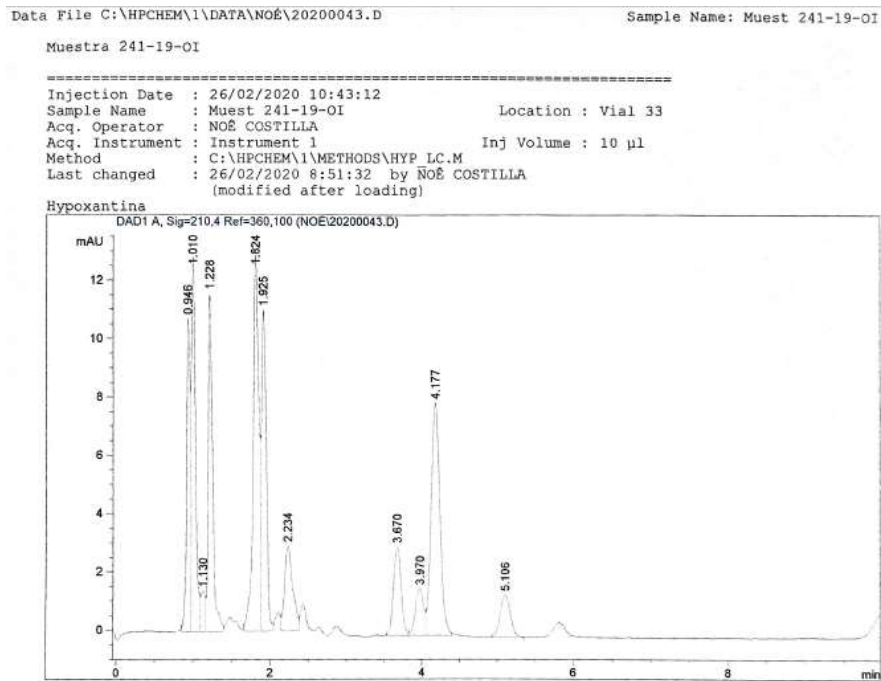


Figura 12. Cromatograma HPLC del espárrago blanco congelado por doce meses en modo CAS.

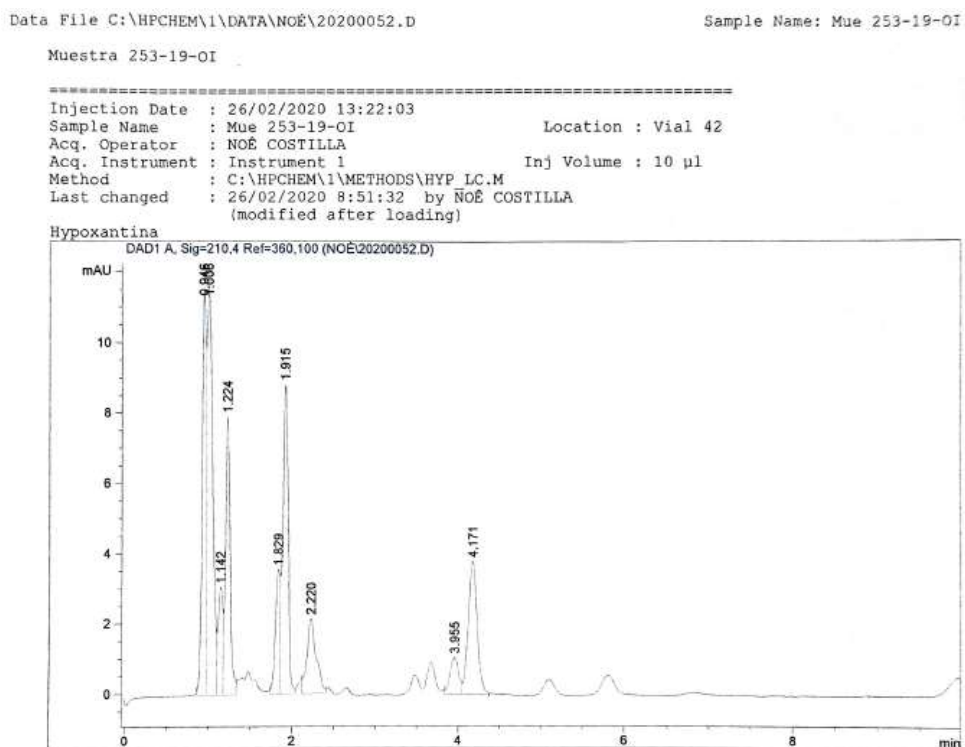


Figura 13. Cromatograma HPLC del espárrago blanco congelado por doce meses en modo convencional.

3.2. Microscopía electrónica de barrido en las muestras de espárragos

Para aportar la teoría del deterioro reticular, se utilizó microscopia electrónica a 200 µm, sugerida por Valerij (2021), para revisar de manera minuciosa las células vegetales al final del descongelamiento luego de 10 meses de almacenamiento a -15°C luego de ser congelado por ambos métodos (ver Figuras 14 y 15). Hay muchas grietas internas en la foto de la muestra sin asistencia de ondas electromagnéticas, en la otra foto existe menor deterioro interno.

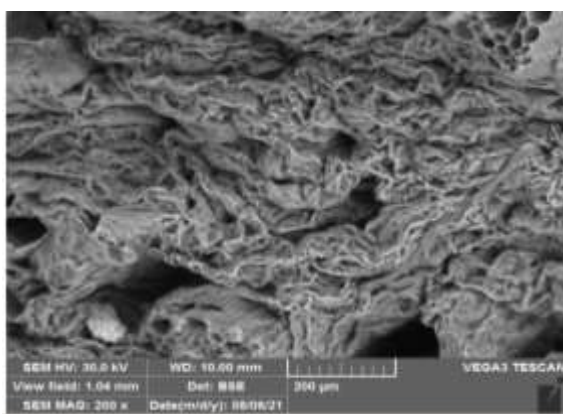


Figura 14. Foto resolución 200 µm de espárrago congelado y almacenado por 10 meses, con asistencia CAS.

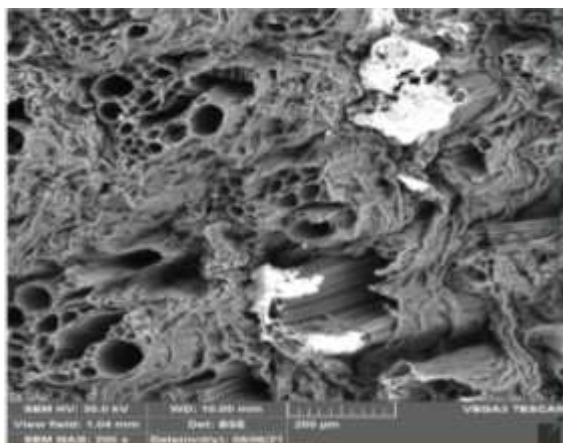


Figura 15. Foto resolución 200 μm de espárrago congelado y almacenado por 10 meses, **sin asistencia CAS.**

3.3. Descenso en el contenido de flavonoides.

La Tabla 1 muestra un nivel de absorbancia para el espárrago blanco fresco sin congelar de 545,57646 mAU*s, este valor al cabo de dos meses de congelado por *modo CAS* está a 97,16% de este valor (530,05856 mAU*s). Sin embargo, el espectro del espárrago congelado de *manera convencional*, en este mismo período de tiempo, ha descendido al 71,14 % (registró 388,1314 mAU*s). Se puede concluir que el uso de ondas electromagnéticas en el congelado, permite una mejor conservación.

Al cabo de un año de congelado, el valor registrado para el contenido retenido de flavonoides en el espárrago congelado en modo CAS descendió hasta 386,23804 mAU*s (70,79%), mientras que el valor del espectro de espárrago congelado de manera convencional descendió hasta 241,0324 mAU*s (44,18%). Estos resultados vuelve a confirmar lo indicado líneas arriba.

Tabla 1. Descenso en el contenido de flavonoides.

Dato	(mAU*s) total en modo CAS	% Contenido flavonoides A	(mAU*s) total en modo CAS	% Contenido flavonoides B
1	545,57646		545,57646	
2	530,05856	97,16	388,13140	71,14
3	517,97124	94,94	365,64515	68,85
4	496,19510	90,95	355,9114	65,24
5	475,06571	87,08	306,61287	56,20
6	424,52407	77,81	284,54041	52,15
7	415,05579	76,08	259,70588	47,60
8	386,23804	70,79	241,03240	44,18
Promedio		84,97%	57,91 %	

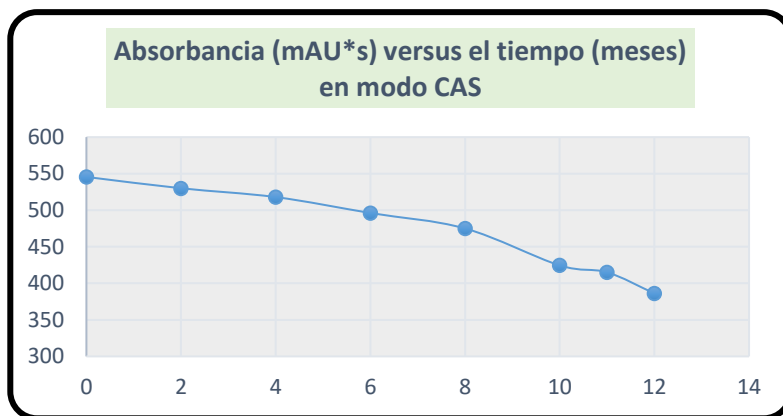


Figura 16. Descenso en el contenido de flavonoides en el espárrago congelado de modo CAS

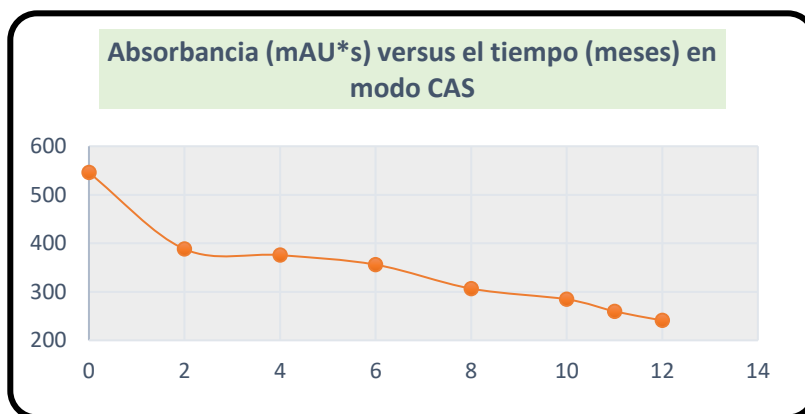


Figura 17. Descenso en el contenido de flavonoides en el espárrago congelado de modo convencional.

3.4. Estadística

Para el tratamiento de los datos estadísticos se han utilizado

- a) La Guía del usuario del sistema básico de IBM SPSS Statistics 28.
- b) La Guía Estadística y relevancia clínica (Pita y Pértega, 2001)

Tabla 2. Tratamiento estadístico de los datos.

Dato	(mAU*s) total en modo CAS	Contenido flavonoides A (Fracción)	(mAU*s) total en modo normal	Contenido flavonoides B (Fracción)
1	545,57646		545,57646	
2	530,05856	0,9716	388,13140	0,7114
3	517,97124	0,9494	365,64515	0,6885
4	496,19510	0,9095	355,9114	0,6524
5	475,06571	0,8708	306,61287	0,5620
6	424,52407	0,7781	284,54041	0,5215
7	415,05579	0,7608	259,70588	0,4760
8	386,23804	0,7079	241,03240	0,4418

Promedio 0,8497

0,5791

- n, es la población muestral = 7
- a, meses de almacenamiento.
- b, área total de absorbancia modo CAS (mAU*s)
- c, área total de absorbancia modo normal (mAU*s)
- p1, es el promedio fracción de flavonoides en A (modo CAS)
- p2, es el promedio fracción de flavonoides en B (modo normal)

$$|p_1 - p_2| = 0,2706$$

$$p = ((p_1 - p_2) / 2) = 0,1353$$

$$Z_{\alpha-0,05} = 1,96$$

$$\begin{aligned} \text{Error estándar} &= [p(1-p)((1/n_1) + (1/n_2))]^{0,5} \\ &= [0,1353*(1-0,1353)*((1/7) + (1/7))]^{0,5} \\ &= 0,1828. \end{aligned}$$

$|p_1 - p_2|$ es mayor que el error estándar (0,1828), por lo tanto, hay diferencias significativas.

Tenemos dos tipos de tratamientos: congelamiento CAS (A) y congelamiento convencional (B) para ambos métodos, los cuales están relacionados con el contenido de flavonoides, por lo tanto, como hipótesis tenemos:

¿Existe diferencia significativa entre ambos tratamientos?

H₀ (hipótesis nula) = No hay diferencias entre ambos tratamientos.

H_a (hipótesis alternativa) = Sí existe diferencia.

$|p_1 - p_2| = 0,2706$ sobrepasa al valor de estándar = 0,1828, por lo tanto, concluimos que la diferencia entre ambos métodos sí es estadísticamente significativa. A la vista de los resultados por tanto rechazamos la H₀ (hipótesis nula) y aceptamos la H_a (hipótesis alternativa) como probablemente cierta.

4. CONCLUSIONES

Luego de analizar los espectros de espárragos congelados por ambos métodos, se puede concluir que en solamente dos meses, el espárrago congelado pierde más de la mitad de sus flavonoides, si no se usa el equipo CAS. Conforme pasa el tiempo sigue la pérdida de estos compuestos, aunque en menor proporción, al final del año se llega a retener en un congelamiento normal solamente el 41% de estos flavonoides.

Si se usa el equipo de congelamiento CAS, puede conservar mejor, en estos dos primeros meses, se logra mantener los flavonoides por encima del 90%, y al final del año se puede llegar a conservar un 70% de los flavonoides. Esto se puede corroborar en las figuras microscópicas porque allí hay mayores grietas o aberturas en una célula analizada al espárrago sin asistencia CAS.

A la luz de los resultados, se puede afirmar que el uso de ondas electromagnéticas en el congelamiento del espárrago ayuda a conservar mejor los nutrientes del espárrago por un tiempo mayor de almacenamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldoracín, E., Rodríguez, C., Cuba, F., Morán, C., y Alemán, J. (2022). Evaluation of traditional freezing and electromagnetic field-assisted freezing in the physical and sensory properties of avocado. *Brazilian Journal of Food Technology*, 25, e2021083. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.08321>
- Aldoracín, E., Cuba, F., Alemán, J., Perea, A., Sánchez, J., y Castillo, J. (2019). Effect of freezing with oscillating magnetic field on the physical and sensorial characteristics of mango. *Brazilian Journal of Food Technology*, 22, e2018169. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.16918>
- Alvarado Gil, G. (2012). *Influencia de los tipos de hibridación del turión de asparagus officinalis L. "espárrago verde" sobre la concentración de quercitina, determinada por cromatografía líquida de alta*

resolución. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo-Perú]. Repositorio Universidad Nacional de Trujillo.

<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4065/Alvarado%20Gil%20Geard%20Richard.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Castro Zavaleta y Costilla Sánchez (2015). Validación de la metodología analítica para determinar la cuantificación de taninos en la pepa de palta (*Persea americana* Miller var. Hass) por cromatografía líquida de alta presión. *Agroind Sci* 5(1), 7-12. <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2015.01.01>
- Durán Zabaleta, F. (2016). *Desarrollo y validación de una metodología analítica para la cuantificación de compuestos flavonoides y organoazufrados en aros de cebolla, mediante DELLME-HPLC-UV*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Cuyo – Mendoza-Argentina]. Biblioteca digital UNCuyo. https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/8406/tesis-brom.-duran-florencia-2016.pdf
- Kang, T., You, Y., y Hoptowit, R. (2021). Effect on an oscillating magnetic field on the inhibition of ice nucleation and its application for supercooling preservation. *Journal of Food Engineering*, 300, 110541. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110541>
- Kobayashy, R. y Suzuki, T. (2019). Effect of supercooling accompanying the freezing process on ice crystals and the quality of frozen strawberry tissue. *International Journal of Refrigeration*, 99, 94-100. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2018.11.045>
- International Business Machines Corporation (s.f.). *Guía del usuario del sistema básico de IBM SPSS Statistics* 28. https://www.ibm.com/docs/en/SSLVMB_28.0.0/pdf/es/IBM_SPSS_Statistics_Core_System_User_Guide.pdf
- Moreno-Exebio, L., y Grande-Ortiz, M. (2014). Validación de un método de cromatografía para la determinación de rifampicina en plasma humano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 31(1), 56-61. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000100008
- Muñoz, J., Morgan, J., y Trujillo, J. (2015). Validación de una metodología por HPLC para cuantificar quercetina total en extractos de *Calendula officinalis*. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(1), 91-102. <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v49n1/far10115.pdf>
- Otero, L., Pérez-Mateos, M., Rodríguez, A., y Sanz, P. (2017). Effect of week oscillating magnetic field on crabs sticks. *Journal of Food Engineering*, 200, 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.12.018>
- Pita, S., y Pértega, S., (2001). *Guía Estadística y relevancia clínica*. <https://www.fisterra.com/formacion/metodologia-investigacion/significancia-estadistica-relevancia-clinica>
- Valerij, K. (2021). Microstructure MRI: What scale are sensitive to? *Journal of Neuroscience Methods*, 347, 108910. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108910>