



## Pardeamiento de zumos clarificados de limón tratados a altas temperaturas

### Browning of clarified lemon juices treated at high temperatures

Raquel Ibarz-Martínez, Jordi Pagán, Salvador Garza, Albert Ibarz\*

*Departamento de Tecnología de Alimentos (Universidad de Lleida) Avda. Rovira Roure, 191 (25198) Lleida. España*

Recibido 22 diciembre 2009; aceptado 20 febrero 2010

#### Resumen

En este trabajo se presenta un estudio del efecto del tratamiento a altas temperaturas (70, 80, 90 y 95°C) sobre la evolución del color de zumos clarificados de limón de 10, 20, 35, 50 y 64.6°Brix. La evolución del color con el tiempo de tratamiento se ha seguido midiendo la absorbancia a 420 nm ( $A_{420}$ ) y los parámetros CIELab (Luminosidad  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) e incremento de color  $\Delta E^*$ . El aumento de  $A_{420}$  y la disminución de la luminosidad  $L^*$  con el tiempo de tratamiento se ha observado que se ajustan a cinéticas de orden cero, mientras que  $\Delta E^*$  evoluciona según una cinética combinada en dos etapas. El efecto de la temperatura sobre las constantes cinéticas se puede cuantificar mediante la ecuación de Arrhenius, obteniendo que las energías de activación, para la evolución de  $A_{420}$  y  $L^*$ , muestran una tendencia a disminuir con el aumento de la concentración, mientras que para  $\Delta E^*$  apenas existe variación. Para los tratamientos a una temperatura determinada, el efecto del contenido en sólidos solubles sobre las constantes cinéticas puede describirse mediante un modelo tipo exponencial.

**Palabras clave:** Limón, pardeamiento, no enzimático, cinética

#### Abstract

In this work a study of effect of high temperature treatments (70, 80, 90 and 95°C) on color evolution in clarified lemon juices (10, 20, 35, 50 and 64.6°Brix) has been carried out. The evolution of the color with the treatment time has been continued measuring the absorbance at 420 nm ( $A_{420}$ ) and the parameters CIELab ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) and color increment  $\Delta E^*$ . The increase of  $A_{420}$  and of the decrease of the brightness  $L^*$  with the time of treatment it has been observed that they are fitted to a zero order kinetic, what has allowed to obtain the corresponding ones constant kinetic of color deterioration. The evolution of  $\Delta E^*$  has been described by a kinetic model in two steps. The effect of the temperature on these kinetic constants can be quantified by means of the Arrhenius equation, what allows obtaining the corresponding values of activation energy. For the  $A_{420}$  and  $L^*$  activation energy values tends to decrease with the increase of concentration while for  $\Delta E^*$  variation hardly exists. For the treatments to a certain temperature, the effect of the soluble solids content on the kinetic constants can be described by means of a model exponential type equation.

**Keywords:** Lemon, browning, nonenzymatic, kinetic

#### 1. Introducción

Uno de los parámetros de calidad más importantes en los zumos derivados de frutas son las propiedades sensoriales del producto final. Debido a que el color es el primer atributo sensorial que percibe el consumidor,

se puede afirmar que el color es uno de los factores que inicialmente mejor definen la calidad de un alimento. Por lo tanto, es necesario conocer los componentes y procesos que determinan el color de un alimento, que no depende únicamente de sus

\* Autor para correspondencia.

E-mail: aibarz@tecal.udl.cat (A. Ibarz)

componentes, sino también de ciertos aspectos físicos y/o fisicoquímicos (Mariné, 1981). El resto de parámetros analíticos que determinan la calidad de un zumo concentrado de limón vienen determinados por los valores que dan las normas francesas de caracterización de los zumos y derivados de frutas de la unión nacional de productores de zumos (AFNOR-UNPJE, 1988).

La modificación del color del zumo es debido a los pardeamientos no enzimáticos, que engloban una serie de reacciones complejas que originan compuestos oscuros y modifican el olor y sabor del zumo. Este proceso presenta una serie de fenómenos como la caramelización, oxidaciones de ácido ascórbico y las denominadas reacciones de Maillard, que originan la formación de melanoidinas, que son compuestos oscuros causantes del pardeamiento (Hodge, 1953, Cornwell y Wrolstad, 1981). Este tipo de pardeamiento se ve favorecido por las altas temperaturas existentes en la etapa de concentración por evaporación del zumo, variando el grado de pardeamiento según sea el contenido en sólidos solubles (Beveridge y Harrison, 1984). Pero, no es únicamente el proceso de concentración por evaporación el que modifica las características del zumo, sino que también determinadas condiciones de almacenamiento del zumo, antes y después de su elaboración, afectan de forma notable la calidad del zumo final.

De todas las alteraciones que pueden provocar un deterioro del zumo, el pardeamiento es el problema más importante que presentan muchos concentrados de zumos de fruta (Toribio y Lozano, 1984). Este pardeamiento es debido, principalmente, a procesos no enzimáticos producidos a través de la reacción de Maillard entre los azúcares reductores y grupos amino libres (Ibarz *et al.*, 1989a,b).

En el caso de los zumos, los componentes que mayoritariamente se ven involucrados en el pardeamiento son los azúcares reductores, los

aminoácidos, los polifenoles y los ácidos orgánicos (Babsky *et al.*, 1986).

Los zumos clarificados de limón son muy sensibles a la temperatura, especialmente en lo que respecta al deterioro de color que pueden experimentar, no tan sólo bajo las condiciones de altas temperaturas en las etapas de procesado, sino también cuando se almacenan bajo condiciones de refrigeración. Generalmente, las industrias que elaboran zumos clarificados de limón obtienen concentrados de aproximadamente 65°Brix, y debido a su sensibilidad al pardeamiento, se almacenan a aproximadamente 4°C con un tratamiento con sulfito. Debido a la problemática de este tipo de tratamiento antioxidante, se han cambiado las condiciones de almacenamiento, y para evitar el sulfitado, dicho almacenamiento se lleva a cabo bajo temperaturas de congelación. Estas bajas temperaturas de almacenamiento evitan el deterioro debido a los pardeamientos no enzimáticos. Sin embargo, en el proceso de elaboración del zumo concentrado, en la etapa de concentración por evaporación, el zumo se halla sometido a altas temperaturas que afectan de un modo negativo al zumo, desde el punto de vista del color. Por ello, en el presente trabajo se estudia el efecto que las altas temperaturas de tratamiento ejercen sobre el deterioro de color en zumos clarificados de limón.

### **Cinética del pardeamiento no enzimático**

Cualquier tipo de reacción química se puede describir mediante modelos cinéticos, que permiten predecir la calidad del producto en función del tiempo. Los modelos cinéticos se pueden aplicar para estudiar los cambios químicos que experimenta un alimento. Los estudios realizados para establecer un modelo cinético que describa de forma satisfactoria los mecanismos de la reacción del pardeamiento no enzimático casi siempre se han realizado en soluciones modelos, preparadas a partir de una mezcla de diferentes proporciones de hexosas y de algún

aminoácido concreto. Los trabajos publicados coinciden en que la formación de melanoidinas no es el producto de una reacción simple, sino que se produce después de que en el medio se desarrollen un conjunto de reacciones muy complejas y que al día de hoy todavía no son conocidas completamente, y que además dependen de la temperatura, pH del medio, tipo de sustrato y su concentración inicial en el producto (Huang y Feather, 1988). Debido a la complejidad de las reacciones que se presentan en el proceso de pardeamiento no enzimático, resulta difícil establecer un mecanismo de reacción y obtener un modelo cinético que pueda describir de forma adecuada el proceso global de pardeamiento. La evolución del pardeamiento no enzimático se puede evaluar mediante la variación de ciertos parámetros colorimétricos que pueda presentar el producto que se estudia. La variación del parámetro de color se puede describir mediante una ecuación cinética de la forma:

$$\frac{dP}{dt} = k_i P^n \quad (1)$$

en la que  $P$  es la variable de color que es desea estudiar,  $t$  es el tiempo,  $k_i$  la constante cinética y  $n$  el orden de reacción. La variación del parámetro de color se puede describir tanto con modelos cinéticos de orden cero y de primer orden (Labuza y Riboh, 1982; Stamp y Labuza, 1983; Villota y Hawks, 1992). Con el fin de obtener la ecuación que da la variación del parámetro de color con el tiempo, es necesario integrar la ecuación 1, aplicando la condición límite inicial, en la que para  $t = 0$ ,  $P = P_0$ .

Cinética de orden cero ( $n = 0$ ):

$$P = P_0 + k_0 t \quad (2)$$

Cinética de primer orden  $n = 1$ :

$$P = P_0 \exp(k_1 t) \quad (3)$$

En estas ecuaciones  $P$  y  $P_0$  representan el valor de la variable de color que se está estudiando para un tiempo cualquiera y el

inicial, respectivamente; mientras que  $k_0$  y  $k_1$  son las constantes cinéticas de orden cero y primer orden, respectivamente, siendo  $t$  el tiempo de reacción. Existen casos en que no es posible describir el pardeamiento enzimático mediante las sencillas cinéticas de primer y orden cero, siendo necesario buscar otros mecanismos de reacción que describan de un modo satisfactorio la evolución de las variables estudiadas. Así, se ha descrito un modelo cinético combinado, en la que aparecen dos etapas, una primera de formación de los productos que dan color, y una segunda de destrucción de estos compuestos coloreados (Lozano y Ibarz, 1997; Ibarz *et al.*, 1999). Durante los tratamientos térmicos, estos cambios pueden considerarse debidos a las reacciones de pardeamiento no enzimático entre azúcares reductores y aminoácidos, que para zumos y derivados de frutas se supone que siguen una cinética de orden cero (Toribio y Lozano, 1986, Singh *et al.*, 1983, Stamp y Labuza, 1983). Además, existe una destrucción de los pigmentos naturales de las frutas, que se degradan según una cinética de primer orden (Abets y Wrolstad, 1979, Skrede, 1985). Para este modelo, la ecuación cinética que describe la variación de la variable estudiada se puede expresar como:

$$P = K - (K - P_0) \exp(-k_1 t) \quad (4)$$

siendo  $P$  la variable de color;  $P_0$  su valor inicial;  $K$  un parámetro que es el cociente entre las constantes de la primera y segunda etapa ( $K = k_0/k_1$ );  $k_0$  es la constante cinética de la etapa de aparición de la variable de color, mientras que  $k_1$  la constante cinética de desaparición dicha variable.

### Efecto de la Temperatura

La temperatura es una de las variables que más influye en el proceso de pardeamiento no enzimático. Con el fin de cuantificar el efecto que la temperatura ejerce sobre el pardeamiento se puede utilizar la ecuación de Arrhenius (ecuación 5), que relaciona las constantes cinéticas con la temperatura. Un

aumento de temperatura hace que la constante cinética de cualquier reacción química también aumente. Con el fin de evaluar este aumento se utiliza una ecuación exponencial tipo Arrhenius:

$$k = K_0 \exp\left(-\frac{Ea}{RT}\right) \quad (5)$$

donde:  $k$  = constante cinética de la reacción ( $\text{min}^{-1}$ );  $K_0$  = constante o factor de frecuencia;  $Ea$  = energía de activación (kJ/mol);  $R$  = Constante de gases ( $8.314 \cdot 10^{-3}$  kJ/mol);  $T$  = temperatura absoluta (K). La energía de activación ( $Ea$ ) representa la energía necesaria para que se produzca una determinada reacción, y su valor da una idea del efecto que la temperatura ejerce sobre una determinada reacción. Así, cuanto más elevado sea su valor, la temperatura ejercerá una mayor influencia.

### Efecto del contenido en sólidos solubles

Además de la temperatura, otra variable que influye en el pardeamiento de los zumos es su contenido en sólidos solubles. Para poder cuantificar el efecto que los sólidos solubles ejercen sobre el pardeamiento se busca un modelo que describa de forma adecuada la variación de los valores de las constantes cinéticas con la concentración. Un modelo adecuado es una ecuación exponencial del tipo:

$$k = \alpha \exp(\beta C) \quad (6)$$

donde:  $k$  = Constante cinética de la reacción ( $\text{min}^{-1}$ );  $C$  = Contenido en sólidos solubles ( $^{\circ}\text{Brix}$ );  $\alpha$  = Constante de ajuste ( $\text{min}^{-1}$ );  $\beta$  = Constante de ajuste ( $^{\circ}\text{Brix}^{-1}$ ).

## 2. Materiales y métodos

La caracterización fisicoquímica de las muestras se ha realizado siguiendo, en la mayoría de las determinaciones analíticas, los métodos oficiales publicados en la orden de 29 de enero de 1988, donde se recogen los métodos oficiales de análisis de zumos de fruta y sus derivados (Boletín Oficial del Estado nº 31, del 5 de febrero de 1988; BOE,

1988), además de los métodos de la AOAC (1980) y de la IFFJP (1972, 1984).

### Contenido en sólidos solubles

Se determina utilizando un refractómetro digital Atago RX-1000. Los resultados se expresan en  $^{\circ}\text{Brix}$ , contenido en sólidos solubles existentes en 100 gramos de zumo.

### pH

El zumo se diluye previamente a  $5^{\circ}\text{Brix}$  con agua destilada, midiendo el pH a  $20^{\circ}\text{C}$  utilizando un pH-metro Crison MicropH 2001.

### Actividad de agua

La actividad de agua ( $a_w$ ) a  $25^{\circ}\text{C}$  se mide directamente sobre el zumo concentrado utilizando un aparato NOVASINA thermoconstanter Humidat-ICI. En los zumos de frutas la actividad de agua es inversamente proporcional al contenido en sólidos solubles, por lo que en zumos más diluidos su actividad de agua es más elevada, lo que provoca que la velocidad de pardeamiento sea más baja (González *et al.*, 1988).

### Acidez total

La acidez total se determina mediante una valoración potenciométrica con hidróxido sódico 1N hasta un pH de 8.1, que es cuando aparece la coloración rosada en el zumo que se está valorando, si se utiliza fenolftaleína como indicador. El resultado se expresa en gramos de ácido cítrico por cada 100 mL de zumo.

### Índice de formol

La determinación del índice de formol se realiza siguiendo las normas de la IFFJP (*International Federation of Fruit Juice Producers*, 1984). Este índice sirve como medida del contenido en aminoácidos del zumo. El método consiste en una valoración de la acidez de los compuestos formados por la reacción del formaldehído con los  $\alpha$ -aminoácidos.

### Hidroximentil furfural (HMF)

Se determina colorimétricamente utilizando un espectrofotómetro Philips PU 8720 UV/VIS, a una longitud de onda de 550 nm, según el método de la IFFJP (1972). Se mide la intensidad de coloración roja del compuesto que se forma al cabo de tres minutos, entre el HMF, el ácido barbitúrico y la *p*-toluidina. La determinación se ha realizado sobre una muestra diluida de 5°Brix. La cuantificación del contenido en HMF de la muestra se realiza a partir de una curva patrón. Se obtiene una relación lineal entre la absorbancia medida a 550 nm ( $A_{550}$ ) y las concentraciones, dando como resultado la siguiente expresión:

$$C_{\text{HMF}} = 186 \cdot A_{550} - 6 \quad r = 0.9998$$

en la que  $C_{\text{HMF}}$  es la concentración de HMF en mg/L.

### Azúcares

La determinación del contenido en azúcares se ha realizado mediante cromatografía líquida de alta resolución. Se determina el contenido en sacarosa, glucosa y fructosa en un zumo diluido previamente a 6°Brix. Se utiliza un cromatógrafo HP serie 1050 equipado con un integrador HP 3396 serie 2 y un detector de índice de refracción modelo HP 1047 A. La precolumna utilizada es de relleno polimérico del tipo GC-682/C InterAction, de 2.3 cm de longitud, 5 mm de diámetro, mientras que la columna es CHO-682 InterAction de 30 cm de longitud, 0.5 cm de diámetro, de 35490 platos teóricos por metro. La limpieza de la columna y precolumna se realiza con agua destilada. Las condiciones de trabajo son: fase móvil agua bidestilada, flujo de 0.4 mL/min, temperatura de la columna 95°C, temperatura de detección del refractómetro 50°C. Los resultados se expresan en gramos de azúcar/L.

### Ácidos

La determinación de los ácidos se realiza por cromatografía líquida de alta resolución. Se determina el contenido en ácido ascórbico,

cítrico, málico y fumárico en una muestra de zumo diluido a 6°Brix.

El cromatógrafo utilizado es el mismo que en el caso de los azúcares, pero con un detector de absorbancia a una longitud de onda a 214 nm. La precolumna utilizada es del tipo GC-682/C InterAction, de 1.5 cm de longitud, 8 mm de diámetro, mientras que la columna es de CHO-682 InterAction de 25 cm de longitud, 0.25 cm de diámetro, de 101374 platos teóricos por metro, con relleno de octadecil cilano.

Las condiciones de trabajo son: fase móvil solución acidificada al 0.1% de ácido fosfórico, a pH = 4, flujo de 1 mL/min, temperatura de columna y del detector la ambiente. Los resultados se expresan en gramos de ácido/L.

### Densidad

La medida de la densidad se realiza utilizando un picnómetro calibrado con agua destilada. Los resultados de la densidad se expresan en kg/m<sup>3</sup>, y se determinan directamente sobre los zumos sin diluir.

### Parámetros colorimétricos

Para realizar el seguimiento del pardeamiento que experimentan las muestras se han analizado los siguientes parámetros colorimétricos: absorbancia a 420 nm ( $A_{420}$ ), los parámetros CIELab (luminosidad  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) e incremento de color. Para la medición de estas determinaciones colorimétricas se ha utilizado un espectro-fotocolorímetro MacBeth Color Eye 3000, midiendo su espectro de absorbancia, utilizando la fuente iluminante D75 y el observador de referencia colorimétrica 10°. Con el objeto de poder realizar todas las determinaciones, las mediciones de color se realizaron sobre muestras diluidas a 5°Brix.

### Tratamiento térmico

Las muestras de concentrado de limón clarificado y despectinizado de 64.6°Brix

fueron suministradas por una industria de la comarca de El Segriá (Lleida). El tratamiento térmico de estas muestras se llevó a cabo en condiciones similares a las descritas en un trabajo anterior (Ibarz *et al.*, 1989), para ello muestras de 64.6°Brix se trataron a diferentes temperaturas (70, 80, 90 y 95°C) durante un tiempo de 360 minutos. Asimismo, a partir de este zumo concentrado, y por dilución con agua destilada, se han preparado muestras con diferente contenido en sólidos solubles (10, 20, 35 y 50°Brix) que han sido tratadas a las temperaturas citadas anteriormente.

Para estudiar la evolución del deterioro de color que estos zumos experimentan, se han utilizado diferentes alícuotas que han sido tratadas a diferentes tiempos, obteniendo muestras cada 60 minutos hasta completar los 360 minutos totales de tratamiento.

### Análisis estadístico

Los resultados experimentales obtenidos en este trabajo se han ajustado a diferentes modelos cinéticos y matemáticos, utilizando el software de tratamiento estadístico de datos Statgraphics v. 5.1. En todos los ajustes realizados los intervalos de confianza se han calculado en un nivel de significación del 95%. Tanto los tratamientos térmicos como los análisis de las muestras se han realizado por duplicado.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Caracterización fisicoquímica de las muestras

El zumo concentrado a partir del cual se prepararon las muestras con diferente contenido en sólidos solubles era un zumo comercial facilitado por una industria del sector. En la Tabla 1 se presentan las características físicas y químicas del zumo comercial. En esta tabla se observa que el pH de este zumo es bajo, lo que indica su alta acidez. El índice de formol es una medida del contenido en grupos amino, muy importantes en los procesos de pardeamiento no

enzimático, ya que son, junto con los azúcares reductores, reactantes de la reacción de Maillard.

**Tabla 1**

Características fisicoquímicas del zumo concentrado y clarificado de limón

Variable	Unidades	Valor
Sólidos solubles	°Brix	64.6
Densidad (25°C)	kg/m <sup>3</sup>	1.363
pH		2.39
Acidez total	g ácido cítrico/100 mL	62.7
°Brix/acidez total		1.030
Índice de formol	mL NaOH 0.1/100 mL	455.8
HMF	ppm	2.2
Sacarosa	g/L	134.10
Glucosa	g/L	99.05
Fructosa	g/L	15.23
Glucosa/Fructosa		6.5
Ácido cítrico	g/L	214.4
Ácido ascórbico	g/L	1.52
Ácido fumárico		ND <sup>(a)</sup>
Ácido málico		ND <sup>(a)</sup>
A <sub>420</sub> <sup>(b)</sup>		0.551
L <sub>*</sub> <sup>(b)</sup>		92.25
a <sub>*</sub> <sup>(b)</sup>		-6.13
b <sub>*</sub> <sup>(b)</sup>		21.28

(a) ND = No detectado. (b) Valores para zumo diluido a 5°Brix

Con respecto al contenido en azúcares, se observa que el mayoritario es la sacarosa, mientras que de las hexosas, la glucosa es la que mayor contenido presenta. Conviene resaltar que las hexosas (glucosa y fructosa) son los azúcares responsables de la reacción de Maillard, ya que son azúcares reductores. Por el contrario, la sacarosa es un disacárido no reductor, por lo que este azúcar no interviene directamente en los procesos de pardeamiento no enzimático, pero debe tenerse en cuenta que este disacárido puede hidrolizarse para dar glucosa y fructosa. Esta reacción de hidrólisis se ve favorecida cuando el medio es ácido, como es el caso de este tipo de zumo, con un pH muy bajo y una alta acidez. El contenido en hidroximetilfurfural (HMF) da una idea de la intensidad del tratamiento térmico recibido por el zumo, donde altos contenidos de este compuesto indican que el zumo ha recibido un tratamiento térmico intenso. El HMF es un

compuesto que la Federación Internacional de Productores de Zumos de Fruta (*International Federation of Fruit Juice Producers - IFFJP*, 1972) aconseja que no debe superar 25 ppm, y como puede observarse en la Tabla 1, la muestra analizada contiene 2.2 ppm, por tanto no supera el valor aconsejado.

### 3.2. Evolución de los parámetros colorimétricos

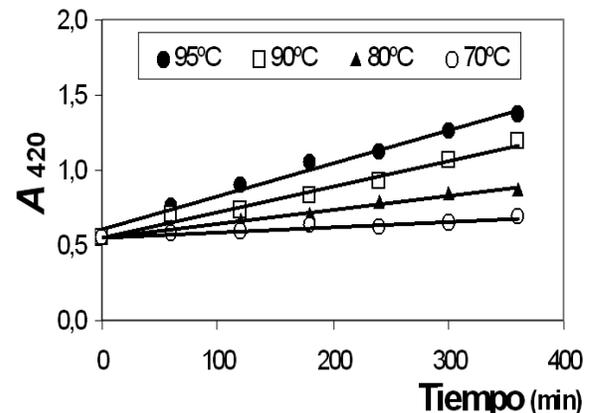
Para evaluar el pardeamiento no enzimático de los zumos clarificados de limón, se ha estudiado la evolución que presentan con el tiempo de tratamiento. Este pardeamiento es debido a la aparición de melanoidinas, lo que provoca que en muestras transparentes, como los zumos clarificados, lo que provoca que parámetros tales como la absorbancia a 420 nm, la luminosidad, el incremento de color o los parámetros colorimétricos  $a^*$  y  $b^*$ , varíen a medida que el contenido en melanoidinas formadas aumenta. Por tanto, estos parámetros colorimétricos sirven para medir el progreso del pardeamiento no enzimático que sufren los zumos a lo largo del tratamiento térmico.

#### Evolución de la absorbancia a 420 nm ( $A_{420}$ )

Con respecto a la absorbancia a 420 nm ( $A_{420}$ ), en la Figura 1 se muestra la evolución que sufre este parámetro a lo largo del tiempo de tratamiento en el caso del zumo de 10°Brix, a las diferentes temperaturas de tratamiento (70, 80, 90 y 95°C). En esta figura se observa que a medida que aumenta el tiempo de tratamiento el valor de  $A_{420}$  también experimenta un aumento, lo que indica que las muestras se van oscureciendo paulatinamente. Además, para un tiempo determinado, a medida que aumenta la temperatura de tratamiento el valor de  $A_{420}$  también aumenta, lo que indica que las muestras se pardean más intensamente a temperaturas de tratamiento más elevadas.

En el caso de las muestras con contenidos en sólidos solubles de 20, 35, 50 y 64,6°Brix, las figuras obtenidas son similares, aunque a

medida que aumenta el contenido en sólidos solubles los valores de  $A_{420}$  son cada vez más elevados. Este aumento de  $A_{420}$  con la concentración indica que los zumos con contenidos en sólidos solubles se pardean más intensamente.



**Figura 1.** Evolución de  $A_{420}$  con el tiempo de tratamiento para un zumo clarificado de limón de 10°Brix.

Al objeto de evaluar de forma cuantitativa el efecto que el tratamiento térmico ejerce sobre el pardeamiento no enzimático de estos zumos de limón, los resultados experimentales de la evolución de  $A_{420}$  con el tiempo de tratamiento se han ajustado a modelos cinéticos de orden cero y de primer orden (ecuaciones 2 y 3). Los resultados de los ajustes indican que ambos modelos describen de un modo adecuado este tipo de deterioro, sin embargo, se ha observado que los coeficientes de regresión del modelo cinético de orden cero son algo más elevados, y además, este modelo es más sencillo, por lo que finalmente se adopta este tipo de cinética para describir la evolución de  $A_{420}$  con el tiempo de tratamiento. En la Tabla 2 se recogen los resultados obtenidos en el ajuste para el modelo cinético de orden cero. En la Figura 1, además de los resultados experimentales de la variación de  $A_{420}$  con el tiempo de tratamiento también se ha representado en forma de línea continua la ecuación correspondiente a la cinética de orden cero.

De la Tabla 2 se desprende que para un mismo contenido en sólidos solubles, el valor de la constante cinética aumenta con el aumento de la temperatura de tratamiento, lo que indica que los zumos se pardean más rápidamente a temperaturas más elevadas, lo que confirma lo observado en la Figura 1. Además, para una misma temperatura de tratamiento se observa que el valor de las constantes cinéticas aumenta con el contenido en sólidos solubles, indicando con ello que los zumos con mayor concentración se pardean más fácilmente.

**Tabla 2**

Parámetros del modelo cinético de orden cero para la evolución de  $A_{420}$  en zumos de limón con el tiempo de tratamiento

$$\text{Modelo cinético: } A = A_0 + k_0 t$$

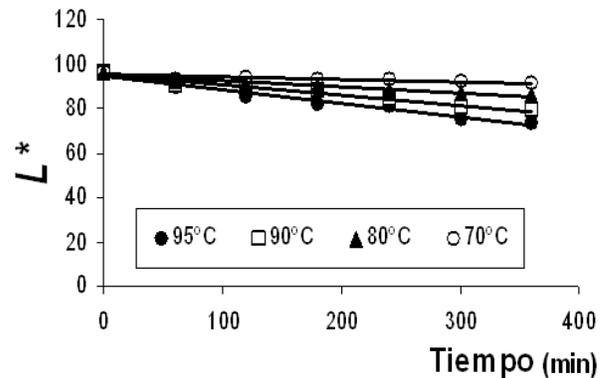
C (°Brix)	T (°C)	Ordenada origen	$k_0 \cdot 10^3$ ( $\text{min}^{-1} \cdot \text{u} \cdot A_{420}$ )	r
64.6	70	0.504	2.2	0.9867
	80	0.529	5.5	0.9953
	90	0.630	7.3	0.9866
	95	1.057	8.9	0.9587
50	70	0.548	1.3	0.9930
	80	0.522	3.2	0.9975
	90	0.465	6.2	0.9868
	95	0.732	7.8	0.9878
35	70	0.557	0.8	0.9780
	80	0.561	1.9	0.9989
	90	0.591	3.6	0.9935
	95	0.613	5.8	0.9975
20	70	0.556	0.5	0.9951
	80	0.568	1.2	0.9961
	90	0.567	2.3	0.9970
	95	0.624	3.3	0.9886
10	70	0.555	0.4	0.9787
	80	0.560	0.9	0.9960
	90	0.554	1.7	0.9918
	95	0.606	2.2	0.9925

**Evolución de la luminosidad ( $L^*$ )**

La luminosidad ( $L^*$ ) es un parámetro colorimétrico que también se utiliza para estudiar la evolución del pardeamiento de los alimentos. Al contrario de la absorbancia a 420 nm ( $A_{420}$ ), la luminosidad disminuye a medida que las muestras son más oscuras. Por tanto, al representar la evolución de este parámetro frente al tiempo de tratamiento se observa que las muestras van disminuyendo

su valor de luminosidad. Así, a modo de ejemplo, en la Figura 2 se representa la variación de la luminosidad con el tiempo de tratamiento para muestras del zumo de limón clarificado de 10°Brix, para las diferentes temperaturas de tratamiento (70, 80, 90 y 95°C). Para las otras muestras las figuras son similares, aunque la luminosidad disminuye más intensamente a medida que aumenta el contenido en sólidos solubles.

En todas las muestras se observa que, para una determinada concentración, la disminución de la luminosidad es más grande a medida que aumenta la temperatura de tratamiento, lo que indica que el deterioro es más intenso con el aumento de la temperatura. También se observa que a medida que disminuye el contenido en sólidos solubles las muestras presentan una menor disminución de la luminosidad, por lo que su pardeamiento es más suave.



**Figura 2.** Evolución de  $L^*$  con el tiempo de tratamiento para un zumo clarificado de limón de 10°Brix

Para cuantificar la evolución de la luminosidad de las muestras, los resultados experimentales se han ajustado a modelos cinéticos de orden cero y primer orden. Al igual que ocurría con la  $A_{420}$ , los dos modelos describen de forma similar la evolución de este parámetro; sin embargo, para el modelo de orden cero los valores de los coeficientes de regresión son ligeramente más elevados, y además este modelo es más sencillo, por lo que finalmente se adopta el modelo cinético

de orden cero. En la Tabla 3 se recogen los parámetros para las diferentes muestras obtenidos en los ajustes al modelo de orden cero.

**Tabla 3**

Parámetros del modelo cinético de orden cero para la evolución de  $L^*$  en zumos de limón con el tiempo de tratamiento

$$\text{Modelo cinético: } L^* = L_0^* - k_0 t$$

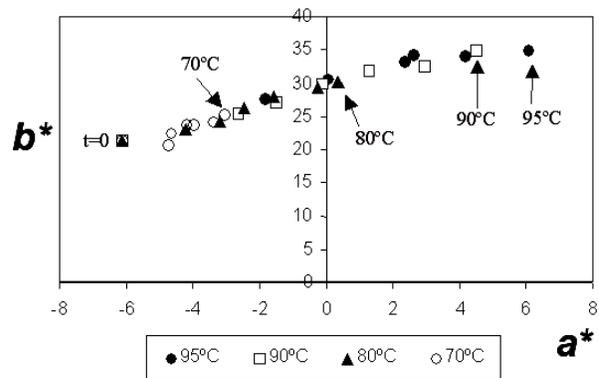
C (°Brix)	T (°C)	Ordenada origen	$k_0 \cdot 10^2$ ( $\text{min}^{-1} \cdot \text{u.L}^*$ )	r
64.6	70	97.33	6.69	0.9940
	80	95.11	13.98	0.9935
	90	94.78	20.23	0.9957
	95	87.21	27.90	0.9768
50	70	96.55	3.96	0.9962
	80	96.08	8.88	0.9982
	90	96.99	15.30	0.9950
	95	93.39	21.81	0.9975
35	70	95.97	2.32	0.9945
	80	95.76	5.29	0.9988
	90	94.85	8.97	0.9940
	95	94.06	14.20	0.9959
20	70	96.00	1.07	0.9786
	80	95.53	3.48	0.9861
	90	94.97	5.55	0.9941
	95	94.01	8.49	0.9889
10	70	95.10	1.14	0.8605
	80	95.29	2.79	0.9849
	90	95.13	4.66	0.9820
	95	94.07	6.12	0.9832

En los ajustes obtenidos se observa que para un mismo contenido en sólidos solubles, los valores de las constantes cinéticas aumentan a medida que aumenta la temperatura, confirmando lo que se ha comentado anteriormente, que un aumento de temperatura favorece el pardeamiento de las muestras. Para una misma temperatura de tratamiento, el aumento del contenido en sólidos solubles supone que los valores de las constantes cinéticas aumentan, y por tanto, las muestras más concentradas presentan un mayor pardeamiento.

**Evolución de los parámetros colorimétricos  $a^*$  -  $b^*$**

Los parámetros colorimétricos  $a^*$  y  $b^*$  determinan un plano donde se puede representar la evolución conjunta de ambos parámetros, dando una idea de la evolución

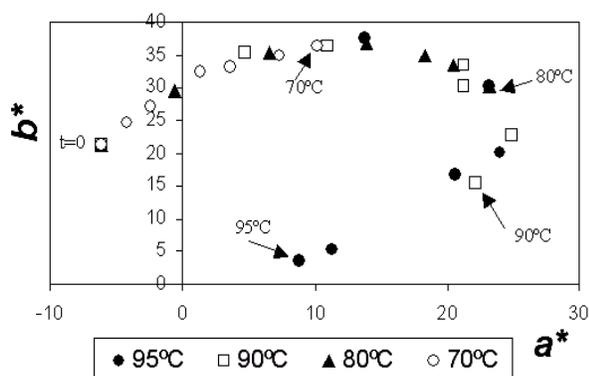
colorimétrica que experimenta la muestra. En las Figuras 3 y 4 se han representado los valores obtenidos a lo largo del tratamiento térmico para los zumos de 10 y 64.6°Brix, respectivamente. Cada una de las figuras se recoge la evolución de estos parámetros para las cuatro temperaturas de tratamiento. En cada figura se ha marcado la muestra al inicio del tratamiento y al final de los 360 minutos de tratamiento se indica la temperatura a la que se ha realizado la prueba. En todos los casos los valores de las muestras presentan un valor inicial de  $(a^*, b^*) = (-6.13, 21.28)$ .



**Figura 3.** Evolución de los parámetros colorimétricos  $a^*$  -  $b^*$  con el tiempo de tratamiento para un zumo de limón de 10°Brix

Para el caso de 10°Brix (Figura 3) se observa que la tendencia es la de ir aumentando el valor del parámetro  $a^*$  de forma pronunciada, mientras que el parámetro  $b^*$  aumenta de forma ligera. Para 70°C, el valor alcanzado al final del tratamiento ha sido (-3.06, 25.22). Por tanto, la tendencia es la de evolucionar hacia tonalidades rojizas más oscuras. Esta tendencia es la misma para todas las temperaturas de tratamiento, aunque la evolución es más pronunciada a medida que aumenta la temperatura. Así, en el caso de 95°C, a pesar de que se parte del mismo valor inicial se llega a un valor final de (6.05, 34.93), lo que indica que al final se obtienen muestras con color más oscuro. La tendencia mostrada por el zumo de 10°Brix se repite para las otras muestras, aunque a medida que aumenta el contenido en sólidos solubles y la

temperatura de tratamiento se observa que existe un punto en que se presenta una disminución del valor del parámetro  $b^*$ , y para tiempos superiores también lo hace el parámetro  $a^*$ . Esto se observa claramente para el zumo de 64.6°Brix (Figura 4), donde la muestra tratada a 70°C siempre presenta un aumento de los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ , acabando al final de los 360 minutos de tratamiento en un valor (10.17, 36.25).



**Figura 4.** Evolución de los parámetros colorimétricos  $a^*$  -  $b^*$  con el tiempo de tratamiento para un zumo de limón de 64.6°Brix

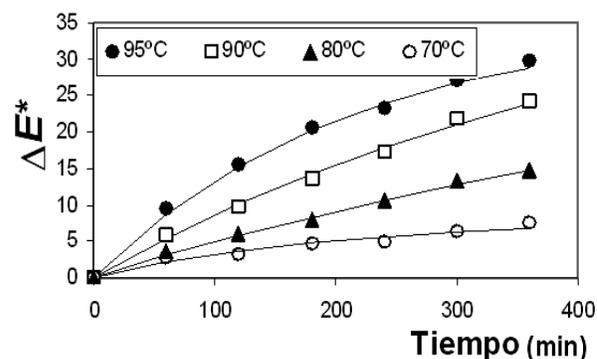
Para 80°C, se observa que en las cuatro primeras muestras, ambos parámetros aumentan de valor, pero a partir de aquí, el parámetro  $a^*$  aumenta, mientras que  $b^*$  va disminuyendo ligeramente. A los 90°C, esta tendencia ya se observa en la tercera muestra, y en la última presenta una disminución de  $a^*$ . Para la temperatura más elevada de 95°C, a partir de la tercera muestra ya se observa que existe una disminución de ambos parámetros; además, visualmente se habían observado unos precipitados de color oscuro, que podrían hacer que al precipitar bajase el valor de estos parámetros colorimétricos.

#### Evolución del incremento de color ( $\Delta E^*$ )

El incremento de color ( $\Delta E^*$ ) es un parámetro colorimétrico que también se utiliza para medir la evolución del pardeamiento que sufren las muestras alimentarias cuando son tratadas térmicamente. Este es un parámetro que incluye los tres parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ,

donde el color de cada muestra se refiere a la que poseía inicialmente la muestra no tratada. Al igual que  $A_{420}$  y  $L^*$ , se ha estudiado su evolución con el tiempo de tratamiento.

En la Figura 5 se muestran los datos experimentales de la variación de  $\Delta E^*$  con el tiempo de tratamiento para las muestras del zumo de 10°Brix, recogiendo la evolución de este parámetro para las cuatro temperaturas estudiadas; para las otras muestras con diferente contenido en sólidos solubles, se obtienen unos resultados que muestran la misma tendencia, aunque de un modo más pronunciado a medida que aumenta la concentración.



**Figura 5.** Evolución del incremento de color ( $\Delta E^*$ ) con el tiempo de tratamiento para un zumo de limón de 10°Brix

Como era de esperar, en todas las muestras se observa que al aumentar el tiempo de tratamiento, el incremento de color también aumenta. Para un mismo contenido en sólidos solubles se observa que al aumentar la temperatura de tratamiento las muestras sufren un mayor incremento de color. Para una misma temperatura, el incremento de color aumenta con el contenido en sólidos solubles. Para poder cuantificar el efecto del tratamiento térmico sobre las muestras de zumo de limón, los datos experimentales se han ajustado a un modelo cinético combinado en dos etapas, por lo que debe aplicarse la ecuación 4, en la que el valor de la variable al inicio es cero, obteniéndose la expresión:

$$\Delta E^* = K [1 - \exp(-k_1 t)] \quad (7)$$

En la Tabla 4 se recogen los resultados de este ajuste, pudiéndose observar que los valores de la constante de la etapa de aparición de color ( $k_0$ ), para una misma concentración, aumentan con la temperatura de tratamiento; poseyendo valores más elevados a medida que aumenta el contenido en sólidos solubles y la temperatura.

**Tabla 4**

Parámetros del modelo cinético combinado para la evolución de  $\Delta E^*$  en zumos de limón con el tiempo de tratamiento.

Modelo cinético:  $\Delta E^* = K [1 - \exp(-k_1 t)]$

C (°Brix)	T (°C)	$k_0 \cdot 10^2$ ( $\text{min}^{-1} \cdot \text{u} \cdot \Delta E^*$ )	$K = k_0/k_1$	r
64.6	70	9.76	244	0.9957
	80	26.66	86	0.9981
	90	34.22	118	0.9945
	95	73.26	99	0.9956
50	70	6.48	81	0.9989
	80	14.24	89	0.9994
	90	23.94	126	0.9896
	95	39.78	117	0.9971
35	70	4.62	33	0.9968
	80	10.26	54	0.9997
	90	21.06	54	0.9978
	95	28.35	81	0.9935
20	70	3.36	16	0.9932
	80	7.14	34	0.9990
	90	13.02	42	0.9974
	95	22.08	46	0.9963
10	70	3.30	11	0.9811
	80	5.30	34	0.9979
	90	8.55	57	0.9985
	95	16.80	36	0.9987

Además, se observa que el parámetro  $K$ , que es una relación entre las constantes de las etapas de aparición y desaparición de color, posee valores superiores a la unidad, lo que indica que el proceso global será de aparición neta de color. Los valores de este parámetro no muestran una tendencia clara, aunque parece que su valor tiende a aumentar con la temperatura de tratamiento y contenido en sólidos solubles.

### 3.3. Efecto de la temperatura

La temperatura es una de las variables que más influye en el proceso de pardeamiento no enzimático, como se desprende de la

observación de las figuras y tablas anteriores, viéndose que las temperaturas de tratamiento más elevadas producen un mayor pardeamiento.

Con el fin de cuantificar el efecto que la temperatura ejerce sobre este tipo de deterioro, la variación con la temperatura de las constantes cinéticas obtenidas en los diferentes ajustes, y expuestas en las tablas anteriores se ajustan a la ecuación de Arrhenius (ecuación 5), obteniéndose así las correspondientes energías de activación. Al ajustar los datos de los valores de las constantes cinéticas a la ecuación 5 es posible obtener los parámetros de esta ecuación. En la Tabla 5 se recogen los valores obtenidos en el ajuste de los datos.

**Tabla 5**

Parámetros de la ecuación de Arrhenius para la evolución de las diferentes variables colorimétricas

Ecuación de Arrhenius:  $k = K_0 \exp\left(-\frac{Ea}{RT}\right)$

Variable	C (°Brix)	Ea (kJ/mol)	$K_0$	r
$A_{420}$	64.6	55.9	$1 \cdot 10^6$	0.9673
	50	75.6	$5 \cdot 10^8$	0.9952
	35	80.9	$2 \cdot 10^9$	0.9979
	20	78.6	$4 \cdot 10^8$	0.9986
	10	71.7	$3 \cdot 10^7$	0.9978
$L^*$	64.6	57.6	$4 \cdot 10^7$	0.9916
	50	70.1	$2 \cdot 10^9$	0.9974
	35	73.3	$3 \cdot 10^9$	0.9958
	20	83.2	$3 \cdot 10^{10}$	0.9840
	10	69.4	$5 \cdot 10^8$	0.9923
$\Delta E^*$	64.6	76.1	$4 \cdot 10^{10}$	0.9667
	50	72.9	$8 \cdot 10^9$	0.9944
	35	76.6	$2 \cdot 10^{10}$	0.9995
	20	76.2	$1 \cdot 10^{10}$	0.9954
	10	63.7	$2 \cdot 10^8$	0.9690

De los resultados obtenidos se observa que la energía de activación, en el caso de  $A_{420}$  y  $L^*$  y exceptuando la muestra de 10°Brix, parece que existe cierta tendencia a aumentar con la disminución del contenido en sólidos solubles, lo que indica que las muestras con mayor concentración se ven menos afectadas

por la temperatura que las de menor contenido. Sin embargo, para el incremento de color, los valores de la energía de activación varían en un intervalo muy pequeño, siendo muy parecidos, con lo que la temperatura afectará de un modo análogo a todos los zumos independientemente de su contenido en sólidos solubles.

### 3.4. Efecto del contenido en sólidos solubles

El contenido en sólidos solubles es otra de las variables que afecta de un modo notorio el pardeamiento no enzimático que sufren los zumos durante el tratamiento térmico. Esto queda corroborado en las tablas mostradas anteriormente, donde los valores de las constantes cinéticas, para una misma temperatura, son diferentes cuando varía la concentración.

Para poder cuantificar el efecto del contenido en sólidos solubles sobre el pardeamiento de las muestras debe buscarse un modelo que describa de forma adecuada esta variación. Uno de estos modelos es una ecuación tipo exponencial (ecuación 6), y es por ello que la variación con la concentración de los valores de las constantes cinéticas recogidos en las Tablas 2, 3 y 4, se ajustan a esta ecuación.

En la Tabla 6 se muestran los valores de los parámetros de la ecuación 6 obtenidos en el ajuste. En esta tabla se observa que los valores de  $\alpha$  para los tres parámetros colorimétricos estudiados, van aumentando a medida que aumenta el contenido en sólidos solubles. En el caso del parámetro  $\beta$ , para  $A_{420}$  y  $L^*$ , su tendencia es la de disminuir su valor con el contenido en sólidos solubles, mientras que para  $\Delta E^*$  no existe una tendencia definida. El parámetro  $\beta$  muestra la influencia del contenido en sólidos solubles, y se comprueba que este parámetro es superior para temperaturas de tratamiento más bajas, lo que indica que una misma variación de concentración afectará más a los zumos que han recibido tratamiento térmico a temperaturas más bajas.

**Tabla 6**

Parámetros de la ecuación exponencial para la evolución de los diferentes variables colorimétricas con la concentración

$$\text{Ecuación exponencial: } k = \alpha \exp(\beta C)$$

Variable	C (°Brix)	$\alpha$ (min <sup>-1</sup> )	$\beta$ (°Brix <sup>-1</sup> )	r
$A_{420}$	70	0.0003	0.0315	0.9979
	80	0.0006	0.0331	0.9988
	90	0.0013	0.0280	0.9896
	95	0.0019	0.0260	0.9691
$L^*$	70	0.0067	0.0353	0.9821
	80	0.0196	0.0300	0.9978
	90	0.0336	0.0284	0.9946
	95	0.0486	0.0286	0.0286
$\Delta E^*$	70	0.0241	0.0205	0.9826
	80	0.0393	0.0282	0.9917
	90	0.0762	0.0240	0.9762
	95	0.1260	0.0254	0.9849

### 4. Conclusiones

A partir de los resultados experimentales obtenidos, y de los modelos cinéticos aplicados para poder describir de un modo adecuado y de forma cuantitativa el pardeamiento no enzimático que sufren los zumos clarificados de limón que han sido tratados térmicamente a temperaturas elevadas, se deducen las siguientes conclusiones: (a) El pardeamiento de los zumos de limón se ve favorecido por el aumento del contenido en sólidos solubles y por la temperatura de tratamiento; (b) la evolución de  $A_{420}$  y  $L^*$  con el tiempo de tratamiento puede describirse de modo adecuado con modelos cinéticos de orden cero y de primer orden, aunque se aconseja adoptar el modelo de orden cero debido a que es más sencillo. En el caso del incremento de color ( $\Delta E^*$ ), los datos experimentales se ajustan a un modelo cinético en dos etapas simultáneas, en la que la primera es una etapa de aparición de color de orden cero, mientras que la segunda es una de destrucción de pigmentos de primer orden. Las constantes cinéticas obtenidas en los distintos modelos cinéticos aplicados, para todas las variables colorimétricas estudiadas aumentan con la temperatura de tratamiento y contenido en

sólidos solubles; (c) el efecto de la temperatura de tratamiento sobre los zumos de limón se puede cuantificar mediante una ecuación tipo Arrhenius. La variación de las constantes cinéticas con la temperatura se ajusta a este tipo de ecuación, lo que permite obtener las correspondientes energías de activación. Para  $A_{420}$  y  $L^*$  se observa cierta tendencia en la variación de las energías de activación obtenidas, de tal forma que al aumentar el contenido en sólidos solubles, sus valores disminuyen. Para  $\Delta E^*$  los valores de la energía de activación varían en un intervalo muy pequeño, siendo muy parecidos, con lo que la temperatura afectará de un modo análogo a todos los zumos independientemente de su contenido en sólidos solubles; (d) el contenido en sólidos solubles ejerce una gran influencia sobre el pardeamiento no enzimático de los zumos de limón. Para cuantificar este efecto, la variación de las constantes cinéticas con el contenido en sólidos solubles se ajusta una ecuación tipo exponencial. El parámetro que afecta la concentración presenta una tendencia a disminuir cuando aumenta la temperatura, lo que indica que para un mismo incremento en el contenido en sólidos solubles, las muestras tratadas a mayor temperatura se verán menos afectadas; y, (e) en el plano colorimétrico determinado por  $a^*$  -  $b^*$  se observa que al aumentar el tiempo de tratamiento de las muestras la tendencia es la de aumentar el valor del parámetro  $a^*$ , lo que indica que los zumos evolucionan hacia tonalidades más rojizas. Además, esta evolución es más pronunciada a medida que aumenta la temperatura de tratamiento. Para las muestras con un contenido en sólidos solubles más elevado se observa que para las temperaturas más altas, finalmente existe una retrogradación de los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ , indicando que puede existir una precipitación de las melanoidinas formadas debido a que existe una gran formación y concentración de estos compuestos pardos y puede superarse el producto de solubilidad.

## Referencias

- Abets, J.E.; Wrolstad, R.E. 1979. Causative factors of color deterioration in strawberry preserves during processing and storage. *Journal of Food Science* 44: 75-78.
- AFNOR-UNPJP. 1988. Recueil de Normes Françaises. Ed. Afnor, París.
- AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. 13th ed., AOAC, Washington DC.
- Babsky, N.E.; Toribio, J.L.; Lozano, J.E. 1986. Influence of storage on the composition of clarified apple juice concentrate. *Journal of Food Science* 51(3): 564-567.
- Beveridge, T.; Harrison, J.E. 1984. Nonenzymatic browning in pear juice concentrate at elevated temperatures. *Journal of Food Science* 49: 1335-1340.
- BOE - Boletín Oficial del Estado. 1988. Métodos oficiales de análisis de zumos de frutas y otros vegetales y sus derivados. Orden de 29 de enero (5 febrero de 1988), 31: 3891-3901.
- Cornwell, C.J.; Wrolstad, R.E. 1981. Causes of browning pear juice concentrate during storage. *Journal of Food Science* 46: 515-518.
- González, C.; Ibarz, A.; Esplugas, S.; Vicente, M. 1988. Cinética del pardeamiento no enzimático de zumos de frutas. *Alimentaria*, 198: 53-60.
- Hodge, J.E. 1953. Dehydrated foods. Chemistry of browning reactions in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1(15): 928-943.
- Huang, R.D.; Feather, M.S. 1988, 13C NMR study of some Maillard reaction products arising from D-glucose-DL-alanine interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36: 673-676.
- Ibarz, A.; Casero, T.; Miguelsanz, R.; Pagán, J. 1989a. Cinética de pardeamiento no enzimático de concentrado de zumo de pera almacenado a distintas temperaturas. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 29(3): 407-414.
- Ibarz, A.; Casero, T.; Miguelsanz, R.; Pagán, J. 1989b. Efecto de la temperatura en la cinética de pardeamiento no enzimático en zumos clarificados de pera con diferentes contenidos en sólidos solubles. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 29(4): 530-536.
- Ibarz, A.; Garza, S.; Pagán, J. 1999. Kinetic models for colour changes in pear pure during heating at relatively high temperatures. *J. Food Engineering* 39: 415-422.
- IFFJP, 1972, 1984. International Federation of Fruit Juice Producers Methods. Analysen-analyses. Zug, Switzerland: Fruit-Union Suisse Assoc. Svizzera Frutta.
- Labuza, T. P.; Riboh, D. 1982. Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in foods. *Food Technology* 36: 66-74.
- Lozano, J.E.; Ibarz, A. 1997. Colour changes in concentrated fruit pulp during heating at high temperatures. *Journal of Food Engineering*, 31(3): 365-373
- Mariné, A. 1981. El pardeamiento y color de los alimentos. *Alimentaria* 32: 13-30.
- Singh, R.K.; Lund, D.B.; Buelow, F.H. 1983. Storage stability of intermediate moisture apples: kinetics of quality change. *Journal of Food Science* 49: 939-944.
- Skrede, G. 1985. Color quality of blackcurrant syrups during storage evaluated by Hunter  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  values. *Journal of Food Science* 50: 514-525.
- Stamp, J. A.; Labuza, T. P. 1983. Kinetics of the Maillard reaction between aspartame and glucose in solution at high temperatures. *Journal of Food Science* 48: 543-547.

Toribio, J.L.; Lozano, J.E. 1984. Non-enzymatic browning in apple juice concentrate during storage. *Journal of Food Science* 49: 889-892.

Toribio, J.L.; Lozano, J.E. 1986. Heat induced browning of clarified apple juice at high temperatures. *Journal of Food Science* 51: 172-175, 179.

Villota, R.; Hawkes, J.G. 1992. Reaction kinetics in food systems. En R.D. Heldman y D.B. Lund (eds.), *Handbook of Food Engineering*, Marcel Dekker, New York.