

ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE UNA FÓRMULA DIETÉTICA EN FUNCIÓN DE LA DISMINUCIÓN DE LISINA DISPONIBLE¹

Alexia TORRES^{2*}, Marisa GUERRA², Yrelur ROSQUETE²

RESUMEN

En este trabajo se determinó la vida útil de una fórmula dietética para niños con síndrome diarreico, empleando la disminución de lisina disponible como indicador de deterioro. Muestras del producto fueron empacadas en envases de material multilaminado (papel-plástico-aluminio) y almacenadas a 25, 30 y 35°C, por dos meses. La lisina disponible fue medida con una frecuencia semanal y los datos fueron analizados para determinar la cinética de la reacción de deterioro y su relación con la temperatura. Al finalizar el estudio, la cantidad de lisina disponible remanente fue de 38,5% (a 25°C); 15,3 % (a 30°C) y 14,1% (a 35°C). La cinética de la reacción de deterioro fue de orden uno, dependiente de la temperatura de almacenamiento, según la ecuación de interrelación de Arrhenius, con un valor de energía de activación de 15,17 kcal/mol, por lo que cae dentro del rango de las reacciones de oxidación de lípidos. De acuerdo a las características del producto [contenido de lípidos (17,5%), proteínas (17,3%) y una actividad de agua de 0,46], la disminución de lisina pudiera ser explicada por la interacción de productos de oxidación de lípidos con proteínas. Considerando un valor de 0,422g lis/100g producto como punto crítico, se predijo la vida útil del producto a temperaturas diferentes a las evaluadas. Condiciones de almacenamiento por debajo de 30°C, garantizan un mayor período de vida útil: hasta 9 meses a 15°C, 6 meses a 20°C y 3 meses a 28°C, en función del indicador de deterioro evaluado.

Palabras claves: lisina disponible; cinética de deterioro; vida útil; producto dietético.

SUMMARY

PREDICTING A DIETETIC FORMULA SHELF LIFE USING THE AVAILABLE LYSINE DECREASE. This study estimated the shelf life of a dietary formula for children with diarrhea, using the decrease of available lysine as an indicator of deterioration. Product samples were packaged in multilaminated pouches (paper-plastic-foil) and stored at 25, 30 and 35°C, for two months. The available lysine was measured weekly and the reaction of deterioration kinetics and its relationship with temperature was calculated. At the end of the study, the remainder of available lysine was of 38.5 (at 25°C), 15.3 (at 30°C) and 14.1% (at 35°C). The findings of the study indicated a first order reaction kinetics, dependent on the storage temperature based on the Arrhenius approach, with an activation energy of 15.17 kcal/mol, falling within the lipid oxidation range. According to the product characteristics [lipids content (17.5%), protein (17.3%) and water activity of 0.46], the decrease of available lysine could be explained by the interaction between lipid oxidation products and proteins. Based on a critical value of 0.422 g lysine/100g product, the product shelf life was predicted at temperatures different from those of experimental conditions. At temperatures below 30°C, the shelf life would be extended up to 9 months at 15°C, 6 months at 20°C and 3 months at 28°C, as a function of the chosen indicator.

¹ Recebido para publicação em 13/11/98. Aceito para publicação em 28/05/01.

² Universidad Simón Bolívar. Apdo 89000, ZP1080-A. Caracas-Venezuela

* A quem a correspondência deve ser enviada.

Keywords: available lysine; kinetics deterioration, shelf life; dietetic product.

1 – INTRODUCCION

Los alimentos deshidratados, por sus características físicas y químicas tienen una relativa larga vida útil. En ocasiones es necesario resolver problemas como la estabilidad de estos alimentos ya que la misma define su valor comercial. La manera de resolver estos problemas consiste en investigar los mecanismos y principios cinéticos generales de la degradación de los componentes menos estables de dichos alimentos [6].

Dada la necesidad de desarrollar productos alimenticios para poblaciones infantiles, en particular niños con síndrome diarreico, se han hecho esfuerzos para sustituir los productos de rehidratación oral, importados y de alto costo, por alimentos donde se empleen ingredientes tradicionales para rehidratación, por ejemplo arroz, auyama, plátano, ocumo, pollo, etc. HERNANDEZ Y GUERRA [7] desarrollaron una fórmula empleando auyama (*Cucurbita maxima*), arroz, pollo deshidratado y aceites vegetales, la cual, luego de haber sido evaluada en niños de comunidades marginales y hospitales demostró ser muy efectiva en cuanto a la disminución del volumen y frecuencia de las diarreas, además de producir aumento de peso en los niños enfermos.

Estudios de estabilidad de la formulación desarrollada por HERNANDEZ Y GUERRA [7] TORRES y GUERRA [18], demostraron que dicho producto podía conservarse durante seis meses a 25 y 30°C sin cambios significativos ($p < 0,05$) en color y sabor. Sin embargo, al mes de almacenamiento a 35°C, el producto presentaba oscurecimiento y sabor amargo calificado como "desagradable" por un panel sensorial (% L = 61, según escala de color L,a,b, versus L = 78% del producto recién elaborado). El producto contenía 56% de carbohidratos (glucosa 24% y fructosa 22%), 17,3% de proteínas y a_w de 0,4. Esto conllevó a un planteamiento de que el cambio de color de la fórmula podría ser principalmente producto de una reacción de oscurecimiento no enzimático de tipo Maillard, que implica la reacción entre un grupo ϵ amino de las proteínas y azúcares reductores, siendo que ambos reactantes están presentes en un alto porcentaje en el producto.

A pesar de que el oscurecimiento no enzimático de los alimentos se ha relacionado principalmente a la reacción de Maillard, la interacción de los lípidos oxidados con las proteínas también puede afectar el valor sensorial del alimento por cambios de color, sabor, textura. Estas reacciones están sujetas a la actividad de agua del alimento, se dan lentamente en un rango de a_w entre 0,2-0,4 y se incrementan a valores por encima de 0,4 [14].

La biodisponibilidad de algunos aminoácidos esenciales como la lisina, puede disminuir como consecuencia del almacenamiento de los alimentos en condiciones inadecuadas, debido a su procesamiento industrial o cuando las proteínas se someten a calentamiento intenso en presencia de azúcares o lípidos oxidados [19]. De allí que la lisina puede usarse como un indicador de la extensión del oscurecimiento no enzimático. La lisina se pierde rápidamente en la primera fase de la reacción de Maillard a causa de su grupo ϵ -amino libre. En trabajos realizados con modelos de caseína-glucosa se demostró que estos grupos amino libres reaccionaron con grupos aldehídos reductores aún en condiciones de poca cantidad de agua para formar compuestos sin valor nutricional [3, 19].

El acercamiento analítico para calcular y predecir el deterioro de la calidad de los alimentos involucra un modelo cinético/matemático. Los procedimientos experimentales para determinar la cinética de destrucción de componentes de los alimentos han sido ampliamente investigados y existen metodologías para predecir el efecto de la letalidad o muerte microbiana así como también la pérdida de nutrientes como tiamina, lisina disponible, ácido ascórbico entre otros. Los parámetros cinéticos son sensibles a diversos factores tales como: la composición del alimento y las características del proceso [12, 16].

El objetivo principal de esta investigación consistió en determinar la cinética de la disminución de lisina disponible, de un producto dietético para niños con diarrea, y la predicción del tiempo de vida útil en las condiciones de almacenamiento y distribución en Venezuela.

2 – MATERIALES Y METODOS

2.1 – Preparación y envasado de la fórmula dietética

El producto fue elaborado según los criterios de formulación propuestos por HERNANDEZ y GUERRA [7].

Para la elaboración del producto se empleó harina de auyama (*Cucurbita máxima*), obtenida en la Planta Piloto de la Universidad Simón Bolívar, pollo deshidratado, harina de arroz y aceite vegetal (mezcla de aceites y grasa de coco), adquiridos en las industrias Nestlé, Arrocería Las Mercedes y Coposa respectivamente. El mezclado de los ingredientes se hizo por 40 minutos a escala de planta piloto en un equipo semiindustrial (marca Frau). Veinticinco gramos de las muestras fueron manualmente colocados en bolsas multilaminadas y térmicamente selladas. Las bolsas están formadas de multicapas de papel (glassine de 60g/m²), plástico (polietileno de baja densidad 50g/m²) y papel de aluminio (de 0,09mm de espesor).

2.2 – Condiciones de almacenamiento del producto

Las muestras con una a_w de 0,46 (a 25°C) fueron empacadas en bolsas multilaminadas y almacenadas en estufas de aire a 25, 30 y 35°C (con una variación

de $\pm 1^\circ\text{C}$ durante 84 días (2,8 meses). La frecuencia de análisis fue semanal.

2.3 – Caracterización física y química del producto

Al producto desarrollado se le hicieron análisis de composición proximal (humedad, proteínas, fibra bruta, grasa, cenizas y carbohidratos, por diferencia), e índice de peróxidos, según la metodología descrita en AOAC [1]. Se determinó la granulometría (usando tamices entre 10 y 100mesh) y la densidad del producto en polvo, según norma COVENIN 367-76 [4]. El valor actividad de agua se halló utilizando el equipo Decagon CX (a_w a 25°C). El color fue medido empleando el colorímetro Hunter Lab mini scan.

2.4 – Determinación de lisina disponible

Para el análisis de lisina disponible se siguió el procedimiento descrito por KAKADE y LIENER [9]. Se tomó una muestra por triplicado almacenada a 25,30 y 35°C, y se mezcló de tal manera de tener una muestra compuesta, se procedió a medir la cantidad de lisina disponible con las siguientes variantes en la metodología:

- Las muestras previamente a la determinación de lisina disponible fueron desgrasadas en el extractor de Soxhlet durante 6 horas, con posterior molienda hasta 80mesh (molino Thomas). La muestra para análisis se mezcló en un homogenizador de tejidos. Se continuó la determinación de lisina disponible según la metodología indicada.
- Posteriormente al autoclavado se limpiaron las muestras oscurecidas removiendo la fase orgánica superior mediante filtración a través de papel Whatman N° 42. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 415nm. Una solución de hidrócloruro de lisina de 200mcg, fue usada como estándar.

2.5 – Modelo para la degradación cinética

El modelo de degradación cinética utilizado para predecir la pérdida de lisina disponible en la fórmula dietética fue descrito en LABUZA Y RIBOH [10] por la siguiente reacción general:

$$d [D] / d t = k [D]^n \quad (1)$$

donde [D] es el valor cuantitativo del factor de calidad o de la reacción de deterioro, k es la reacción a tasa constante y n el orden de la reacción.

Integrando la ecuación (1), se tiene que para n=1:

$$\ln ([D]_0 / [D]_t) = kt \quad (2)$$

donde [D]₀ es el valor del factor de calidad al tiempo cero y [D]_t es el valor después de la reacción de deterioro al tiempo (t).

2.5.1 – Dependencia de la temperatura

La interrelación entre la tasa de reacción y la temperatura fue cuantificada por la reacción de Arrhenius [10,17]:

$$k = k_0 \exp \left(\frac{-E_a}{RT} \right) \quad (3)$$

donde E_a es la energía de activación de la reacción (kcal/mol), R es la constante universal de los gases (1,987cal), T es la temperatura absoluta (°K) y k_0 (1/min) es la constante preexponencial o factor de frecuencia.

3 – RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de la composición física y química se presentan en la *Tabla 1*. El producto en estudio aporta un alto porcentaje de carbohidratos (56%), proteínas (17,3%) y de grasas (17,5%) con un valor de a_w de 0,46.

TABLA 1. Análisis físicos y químicos realizados a la fórmula dietética.

Componente	Contenido
Humedad (g/100g) ⁽¹⁾	4,49
Proteína (g/100g) ⁽¹⁾	17,29
Grasa (g/100g) ⁽¹⁾	17,48
Fibra Cruda (g/100g) ⁽¹⁾	1,25
Ceniza (g/100g) ⁽¹⁾	3,49
Carbohidratos (g/100g) ⁽²⁾	56,00
Color (%)	71,66
Actividad de agua	0,46 (24,3°C)
Índice peróxido (meqO ₂ /Kg grasa):	
Tiempo inicio:	6,86
Tiempo final (2 meses)	13,34
Granulometría (mesh)	20
Densidad(g/ml)	1,27
Lisina total (g/100g producto)	4,66
Lisina disponible (g/100g producto)	1,65

(1): Expresado como promedio de tres muestras.
(2): Calculados por diferencia.

Las características de granulometría y densidad del producto dan información que puede utilizarse para decidir el tipo de empaque y su posible comportamiento durante el almacenamiento, como por ejemplo la aglomeración. Se aprecia que el contenido de lisina disponible (1,65g/100g) corresponde a un 35,41% de la lisina total. El producto presenta un valor de peróxidos de 6,86meqO₂/Kg grasa al inicio, valor que se incrementa hasta 13,34 durante el tiempo de experimentación. Esto denota un posible deterioro de los lípidos de la fórmula, ya que se acepta como límite de calidad un valor de 10meqO₂/Kg grasa [5].

En la *Figura 1* se puede apreciar la variación del indicador en estudio en el tiempo. A la temperatura de 25°C aún se conserva una cantidad apreciable de lisina disponible (38,5%) respecto a lo que se obtuvo a las otras condiciones de trabajo (15,3% a 30°C y 14,1% a 35°C).

El estudio predictivo de la energía de activación, siguiendo el modelo matemático propuesto por LABUZA Y RIBOH [10] y utilizando los datos de la disminución de lisina evaluada a temperaturas de almacenamiento de 25, 30 y 35°C durante 84 días, permitió obtener una

cinética de reacción de orden uno. Se calcularon las curvas de regresión lineal para las muestras de fórmula dietética almacenadas a 25, 30 y 35°C (*Figura 2*), con la finalidad de establecer el valor de k .

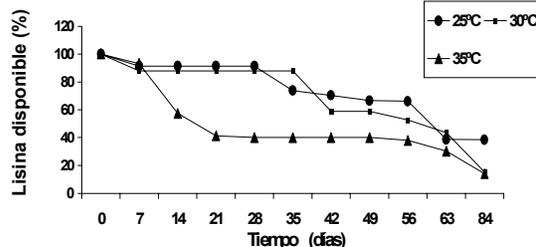


FIGURA 1. Determinación del contenido de lisina disponible en una fórmula dietética sometida a tres temperaturas de almacenamiento.

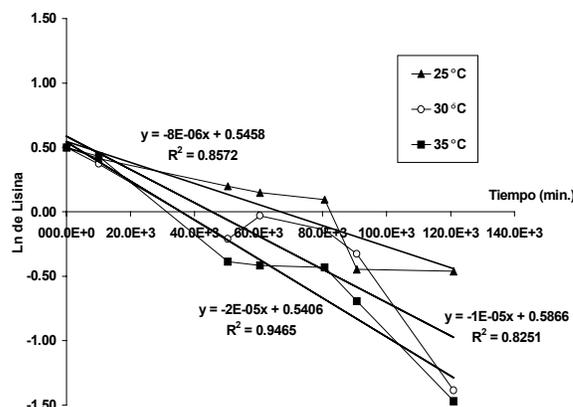


FIGURA 2. Determinación del valor de k considerando una cinética de orden $n=1$.

Autores como ROBERTSON [17], KANANE Y LABUZA [8], LABUZA Y SCHMIDL [11], entre otros, señalan que la reacción de pérdida de calidad protéica en alimentos deshidratados sigue una cinética de orden 1, lo que concuerda con los resultados obtenidos (*Figura 2*). En la *Figura 3* se presenta la determinación de la energía de activación, el valor obtenido fue de 15,17kcal/mol. El producto en estudio presenta un a_w de 0,46 zona donde las reacciones de oxidación de lípidos se incrementan, aunado al hecho de que la fórmula presenta un alto aporte de grasas (17,48%), es posible que la disminución de lisina pudiera ser producto de una reacción de oscurecimiento no enzimático o bien por la reacción de radicales libres o compuestos reductores formados por oxidación de lípidos con proteínas [8, 14, 15]. Datos teóricos reportados por SAGUY Y KAREL [15], sugieren que para que las reacciones de oxidación de lípidos procedan se requiere una energía de activación entre 10-25kcal/mol, mientras que se requiere una energía de activación comprendida en un rango de 25-50kcal/mol, para la reacción de oscurecimiento no enzimático. El valor obtenido de energía de activación (15,17 kcal/mol)

está dentro del rango para una reacción de oxidación de lípidos, sin embargo no se descarta la posibilidad de que otras reacciones de deterioro estén sucediendo al mismo tiempo, dado lo complejo del producto analizado.

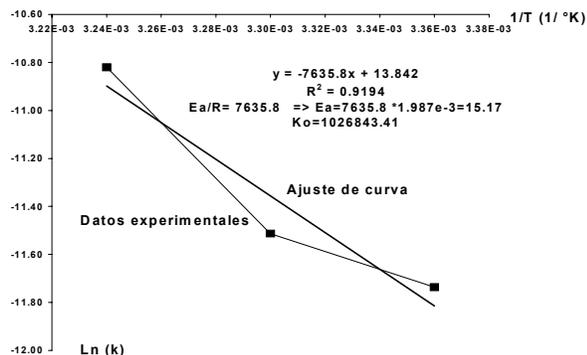


FIGURA 3. Determinación del valor de E_a para la pérdida de lisina disponible en el producto analizado.

Debido a que el producto ha sido formulado para ser suministrado a niños con enfermedades gastrointestinales, se debe garantizar la calidad nutricional del mismo durante su vida útil. HERNANDEZ y GUERRA [7] señalan que el producto en estudio, presenta un valor de eficiencia protéica (PER) de 2,1 (87,5% con respecto a la caseína) y un valor de digestibilidad aparente (DA) de 88,2% (94,23% con respecto a la caseína) lo que demuestra que el producto aporta proteínas de buen valor nutritivo.

A partir del cálculo teórico del cómputo aminoacídico del producto, se determinó que en el producto recién elaborado, el aminoácido lisina no era limitante, presentando un cómputo superior al 100%, lo que corresponde a un contenido de lisina total de 4,66 g/100g y de lisina disponible 1,65g/100g, (35,5% de la lisina total) siendo éste último el utilizado por el cuerpo humano.

Según ARAYA, VERA y ALVIÑER [2], el cómputo aminoacídico mínimo aceptable para considerar adecuado el valor nutritivo de la proteína es de 80%. Esto correspondería a un contenido de lisina disponible de 0,422g/100g, (9,06% de la lisina total) por lo tanto, el tiempo necesario para que el producto llegue a este valor crítico del aminoácido será considerado el período de vida útil.

Empleando la ecuación (2) de LABUZA y RIBOH [10], conocido el contenido de lisina disponible inicial del producto (1,65g/100g) y el valor final límite (0,422g lis/100g), se calculó la vida útil del alimento a temperaturas diferentes a las evaluadas. Se aprecia en la *Tabla 2* que, a medida que la temperatura de almacenamiento es mayor, el producto tiene un tiempo de vida más corto, por ejemplo a temperatura de 50°C el producto duraría 0,5 meses (15 días), mientras que a temperaturas entre 15 y 35°C tendría un mayor período de vida útil. TORRES Y GUERRA [18], señalan que en el almacenamiento del producto dietético por un mes

a 35°C, se observó oscurecimiento del mismo y esto influyó negativamente sobre la aceptabilidad del alimento.

O' BRIEN y LABUZA [13] señalan que las reacciones de oscurecimiento no enzimático tienen efectos indeseables sobre la calidad nutricional de los productos alimenticios, así como un cambio en las propiedades funcionales de proteínas y en atributos sensoriales, constituyendo por ende un factor limitante para la vida útil de los mismos. En la fórmula dietética en estudio, las consecuencias de las reacciones de oscurecimiento incidirían sobre la pérdida de calidad nutricional de la misma, así como una alteración de las características organolépticas que afectarían la aceptación de la misma por parte de los niños con problemas diarreicos, potenciales consumidores del producto.

En la *Tabla 2* se observa que a una temperatura de 28°C, valor promedio en un país tropical como Venezuela, el producto puede durar hasta 3 meses sin cambios importantes de calidad en cuanto a la lisina.

TABLA 2. Predicción del tiempo de vida útil de la fórmula dietética en función de la disminución de lisina disponible a varias temperaturas de almacenamiento.

Temperatura (°C)	k (1/min)	Tiempo de vida útil meses
15	3,1E-06	9,83
20	4,9E-06	6,22
28	9,8E-06	3,08
40	2,6E-05	1,17
50	5,5E-05	0,55

4 – CONCLUSIONES

La disminución de lisina disponible en la fórmula estudiada, exhibe una cinética de orden uno y una energía de activación de 15,17kcal/mol con una fuerte relación a la temperatura de almacenamiento. La disminución de lisina pudiera explicarse por la interacción de los productos de oxidación de lípidos con las proteínas. Para una temperatura de almacenamiento promedio en el mercado nacional de 28-30°C dicha fórmula posee un tiempo de vida útil aproximada de 3 meses. Se concluye que al evaluar la vida útil hay que considerar todos los factores que puedan estar interrelacionados, haciendo énfasis en el modo de deterioro para ese producto en las condiciones dadas de almacenamiento. Los datos reportados permiten extrapolar el tiempo de vida útil de esta fórmula dietética en cualquier región del país, lo cual hace prometedor su incorporación en planes nutricionales de instituciones hospitalarias en la geografía nacional.

5 – REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

[1] A.O.A.C. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 15th. Washington D.C AOAC., 1990. 69-79 p.

- [2] ARAYA, L.H.; VERA, A.G Y ALVIÑER, M.W. **Manual de alimentación del preescolar**. Dpto. Nutrición Facultad Medicina. Universidad Chile. 1991. 26 p.
- [3] CHIN-YEN,G.; TUNG-CHING,L.; CHICHESTER, C.O. Effect of maillard browning reaction on the chemical properties of various proteins. En: PHILLIPS,D.; FINLEY,J. **Protein quality and the effects of processing**. New York. Marcel Dekker, Inc. Publ., 1989. 273 p.
- [4] COVENIN 367-76. **Determinación de densidad en productos lácteos**. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas, Venezuela, Fondonorma,1976.
- [5] COVENIN 30-85. **Aceites vegetales comestibles**. Norma General. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas, Venezuela, Fondonorma, 1985.
- [6] GOLDMAN, M.;HOREV, B.; SAGUY, K. Decolorization of (β -carotene in model system simulating dehydrated foods. Mechanisms and kinetic principles. **J. Food Sci.**, v. 48, n.3, p.751-754, 1983.
- [7] HERNÁNDEZ, B.; GUERRA, M. Evaluación de la aceptabilidad de una fórmula para niños con diarrea en una comunidad marginal. **GEN Revista de la Sociedad Venezolana de Gastroenterología.**, v. 49, n.2, p. 122-127, 1995.
- [8] KANANE, A; LABUZA, T.P. Change in available lysine loss reaction rate in fish flour due to an a_w change induced by a temperature shift. **J. Food Sci.**, v.50, n.3, p. 582-588, 1985.
- [9] KAKADE, M. L.; LIENER, I.E. Determination of available lysine in protein. **Analyt. Biochem.**, v. 27, n.2, p. 273-280, 1969.
- [10] LABUZA, T.P.; RIBOH, D. Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in foods. **Food Technol.**, v. 36, n.10, p. 66-74, 1982.
- [11] LABUZA, T.P.; SCHMIDL. Accelerated shelf-life testing of foods. **Food Technol.**, v.39, n. 9, p. 57-64, 1985.
- [12] LENZ, M.K.; LUND, D.B. Experimental procedures for determining destruction kinetics of food components. **Food Technol.**, v. 34, n.2, p.51-54, 1980.
- [13] O' BRIEN, J.M.; LABUZA, T.P. Symposium provides new insights into nonenzymatic browning reactions. **Food Technol.**, v. 48, n.7, p. 56-58, 1994.
- [14] POKORNY, J.; NOVOTNÁ-MORÁVKOVÁ, E.; ALEXCOVÁ, H.; DAVÍDEK, J. Oxidation of polyunsaturated lipids in presence of nonlipidic components. En: HOLLO J. (ed). **Fat science. Part B**. Proceeding of the 16th ISF Congress. Budapest-Hungary 4-7 Oct 1983 New York. Publ. Elsevier, 1983. 603 p.
- [15] SAGUY, K Y KAREL. Modeling of quality deterioration during food processing and storage. **Food Technol.**, v.34, n. 2, p. 78-84, 1980.
- [16] THOMPSON, D.R. The challenge in predicting nutrient changes during food processing. **Food Technol.**, v. 36, n.2, p.97-108, 1982.
- [17] ROBERTSON, G.L. **Food packaging. Principles and practice**. New York. Marcel Dekker, 1993, p. 343-351.
- [18] TORRES, A.; GUERRA, M. Evaluación de la pérdida de color de una fórmula dietética en función de la temperatura, tiempo de almacenamiento y envase. **Arch. Latin.Nutr.**, v.46, n.1, p.54-57, 1996.
- [19] TORÚN, B. Proteínas y aminoácidos. Características y satisfacción de requerimientos con dietas latinoamericanas. En: BENGUA, J.M.; TORÚN, B.; BEHAR, M.; SCRINSHAW, W. **Metas nutricionales y guías de alimentación para América latina. Bases para su desarrollo**. Caracas, Venezuela. Fundación Cavendes, 1988. 57-72 p.

6 – AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado con el apoyo del Decanato de Investigación y Desarrollo de la Universidad Simón Bolívar. Se agradecen las observaciones realizadas por la Dra. Elba Sangronis.