

## INFORME TECNICO PREMIO TESIS UNIVERSITARIA 2007

CODIGO:FIA-FP-P-2007-1-A-001

### PASANTIA DE PERFECCIONAMIENTO EN CALIDAD ALIMENTARIA Y DESARROLLO DE BIOINSUMOS PARA LA AGRICULTURA BIOLÓGICA

#### RESUMEN.

Se trabajó en el laboratorio de Calidad y Seguridad Alimentaria del Instituto superior agronómico de Beauvais (ISAB) con la participación de Inés Birlouez, responsable de la eje de investigación en el tema Alimentación y Salud y directora de la unidad de investigación SPECTRAL. Institut Polytechnique La Salle Beauvais (<http://www.lasalle-beauvais.fr/>), y en el laboratorio de bioencapsulados (<http://www.capsulae.com>) con la participación del Dr. Denis Poncelet, director científico de la Ecole Nacional d'Ingenierurs des Techniques des Industres Agricoles et Alimentares, de Francia, presidente del Bioencapsulation Research Group y Coordinador del European Space Agency Tropical Team on Microencapsulation y Head of the Virtual Institue on Bio & Microencapsulation Sciences and Technology. Se estudió y desarrollaron las técnicas y metodologías para evaluar calidad y seguridad alimentaria y generación de bioinsumos para la agricultura. Esta actividad, se enmarcó dentro de la línea de investigación iniciada con la tesis de Magíster y en desarrollo con una tesis doctoral, y así poder potenciar las iniciativas ya existentes (FIA-PI-T-2006-1-A-058) sobre producción y procesamiento de ají merkén de alto valor agregado y apoyar el desarrollo de proyecto. Hoy formo parte del grupo científico de investigación en bioencapsulación, intercambiando experiencias para futuras investigaciones. También me ha permitido dentro de otras cosas, visualizar el potencial que tiene nuestra región en principios nutricionales y nutraceuticos presentes en frutas y verduras para la producción de alimentos funcionales y desarrollo de productos alimentarios de la cultura mapuche. Conocer los avances en temas como certificación de la calidad alimentaria y generación de bioinsumos para mejorar la producción de alimentos ha sido un apoyo muy importante en la adquisición de nuevo conocimiento para poder continuar perfeccionándome, en donde espero poder apoyar, servir y retribuir a mi región y país.

#### OBJETIVO GENERAL DE LA PROPUESTA.

Desarrollar competencias en calidad alimentaria y generación de bioinsumos en la agricultura biológica, para potenciar nuevas iniciativas y fortalecer las existentes.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS.**

1. Recibir formación técnica en la línea agroalimentaria.
2. Procesamiento y desarrollo de bioinsumos en la producción alimentaria.
3. Manejo de la poscosecha.
4. Manejo de la calidad.
5. Agricultura biológica.
6. Estudio de vida útil.

## **RESULTADOS IMPACTOS ESPERADOS.**

- |   |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1. Adquirir formación técnica en la línea agroalimentaria (equipamiento, infraestructura, insumos, metodologías, costos) para el desarrollo de nuevas iniciativas y para potenciar las ya existentes, en el marco del proyecto FIA-PI-T-2006-1-A-058.</li><li>2. <u>Experiencia práctica en metodologías de laboratorio (aprender haciendo)</u> para la generación de bioinsumos en la producción alimentaria, como continuidad al trabajo de tesis de magíster.</li><li>3. Aprendizajes significativos en el manejo de la poscosecha y calidad alimentaria, con la finalidad de contribuir al desarrollo de la Agricultura Familiar Campesina con otras iniciativas y para apoyar la docencia de pre grado.</li><li>4. Adquirir competencias en el área de la agricultura biológica y estudio de vida útil, de productos alimentarios, para difundir y desarrollar mayores competencias en los profesionales que se desenvuelven en este sector.</li></ol> |
|---|

## **DESARROLLO DE LA PASANTÍA**

**I. Actividades desarrolladas en el Laboratorio de Calidad y Seguridad Alimentaria del Instituto superior agronómico de Beauvais (ISAB) con la participación de Inés Birlouez, responsable de la eje de investigación en el tema Alimentación y Salud y directora de la unidad de investigación SPECTRAL. Institut Polytechnique La Salle Beauvais (<http://www.lasalle-beauvais.fr/>).**

**1.1 Revisión de metodologías de laboratorio para análisis de calidad en alimentos como (frutos de ají, hojas de ají, merkén, orégano, tomillo y semillas de cilantro los cuales fueron llevados desde Chile).**

1.1.1 Metodología para determinación de Vitamina C

1.1.2 Metodología para determinación de Polifenoles

1.1.3 Metodología para determinación de Calidad nutricional de hortalizas sometidas a procesos de cocción o escaldado

## **Desarrollo de actividades prácticas, aplicando las metodologías estudiadas .**

### **1.1.1 Método de determinación de la Vitamina C por HPLC- fluorescencia**

#### **Réactifs utilisés :**

Acide métaphosphorique (10%)  
Méthanol  
Acétate d'ammonium (80mM)  
Ferricyanure de potassium  
Acétate de sodium (0,2M)  
Acide acétique  
Phénylène diamine  
Acide chlorhydrique (1N)  
Vitamine C standard

#### **Preparación de las soluciones**

##### Phase mobile

Acétate d'ammonium à 80mM, ajuster le pH à 7,4. Acétate d'ammonium – méthanol (50%/50). Filtration sous vide 0.45 µm du mélange d'acétate d'ammonium – méthanol. Le flux de l'éluant est fixe à 1mL min<sup>-1</sup>

##### Acide métaphosphorique 10%

Peser 10g et le dissoudre dans un bécher avec 80mL d'eau environ. Laisser solubiliser à température ambiante. Lorsque le cristal est dissous, compléter dans une fiole jaugée à 100mL et filtrer (renouveler le filtre le pour accélérer la filtration). Cette solution se conserve 15jour à 4°C.

##### Ferricyanure de potassium (1g/L)

Peser 25 mg et dans une fiole jaugée à 25mL.

##### Acétate de sodium (0.2M)

Peser 7,55g et dans une fiole jaugée ajuster à 25mL. Ajuster le pH à 6,9. Acidification par l'acide acétique.

##### Phénylène diamine

Dissoudre environ 10mg de phénylène diamine avec 1mL de HCL 1N dans une fiole. «Inactinique» de 10mL (ou prendre un tube de 10mL et l'envelopper d'aluminium). Ajuster à 10mL avec de l'eau. A préparer chaque jour.

#### **Préparation des étalons**

Solution étalon mère de vitamine C à 100mg/L (Peser exactement environ 10mg de vitamine C dissoudre et compléter avec de l'eau dans une fiole jaugée de 10mL. Prélever 1 mL et compléter avec de l'eau ,à 10mL (dilution au 1/10).

Faire une dilution au 4/5: prélever 800µL de la solution mère et compléter avec 200µL d'eau. (80mg de vitamine C par L).

Faire une dilution au 3/5: prélever 600µL de la solution mère et compléter avec 400µL d'eau. (60mg de vitamine C par L).

Faire une dilution au 2/5: prélever 400 $\mu$ L de la solution mère et compléter avec 600 $\mu$ L d'eau. (40mg de vitamine C par L).

Faire une dilution au 1/5: prélever 200 $\mu$ L de la solution mère et compléter avec 800 $\mu$ L d'eau. (20mg de vitamine C par L).

Faire une dilution au 1/10:prélever 100  $\mu$ L de la solution mère et compléter avec 900  $\mu$ L d'eau. (10 mg de vitamine C par L)

### **Procedimiento de preparación de las muestras**

**Conservation:** 1mL de lait est ajouté à 1mL d'acide métaphosphorique à 10%. Le mélange est agité puis congelé à -18° C. Dans ces conditions, la vitamine C reste stable. Lors de l'analyse, sera nécessaire de centrifuger les échantillons (3500 g pendant 15 min à 4° C) pour récupérer le surnageant.

**Dérivation:** L'oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique, transformation nécessaire pour le dosage, est réalisée grâce à l'addition de 200  $\mu$ L de ferricyanure de potassium (1g/L) dans 500  $\mu$ L de tampon acétate (0,2 M) sont ajoutés. Enfin, l'addition de 200  $\mu$ L de phénylène diamine permet la formation du dérivé fluorescent. Cette réaction se fait à l'obscurité et à température ambiante. Le temps nécessaire pour que la réaction soit totale est de 5 minutes et le dérivé quinoxalique est stable pendant 2 heures. Il peut -être conservé sans aucune perte pendant 24 heures à -20° C.

### **Condiciones cromatográficas**

Détection par fluorescence :  $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 360/440$  nm

Débit de la phase mobile : 1mL par minute.

Volume injecté : 20  $\mu$ L.

Temps de rétention : 4,8 minutes environ.

**Nota :** Las muestras fueron enviadas a Francia en dos etapas : Una cantidad a través de correo Chile express y otras personalmente, que correspondieron a material deshidratado de la región de la Araucanía de Chile :

1. Hojas de plantas de ají cacho de cabra
2. Frutos de ají
3. Merkén marca gourmet
4. Merkén proyecto FIA (control)
5. Semillas de Cilantro
6. Hojas de Orégano
7. Hojas de Tomillo

**Resultados finales obtenidos para el contenido de vitamina C en las muestras analizadas:**

| Contenido de Vitamina C | Concentración mg/100g |
|-------------------------|-----------------------|
| Hojas de ají            | 413,280273            |
| Ají                     | 548,996826            |
| merkén gourmet          | 605,057418            |
| merkén control          | 505,917515            |
| Cilantro                | 350,864298            |
| Orégano                 | 504,833115            |
| Tomillo                 | 502,023387            |

Estos resultados nos permiten contar con información precisa sobre la concentración de vitamina C en los productos analizados, resultando ser muy interesante los altos contenidos encontrados en estas hortalizas deshidratadas que se producen en la región de la Araucanía.

Con esta información se pretende seguir estudiando la evolución de la vitamina C como antioxidante, durante el proceso de deshidratado y la capacidad de duración en almacenaje, como así también el desarrollo del contenido de vitamina C en frutas y verduras que permita avanzar en una estrategia de consumo para aumentar de los 166g al día a los 400g que requieren un adulto diariamente para prevenir las enfermedades crónicas no transmisibles que son la principal causa de muerte en Chile (cardiovasculares, obesidad, diabetes, cáncer, anemia, por falta de hierro).

Por otra parte resulta de suma importancia poder caracterizar el impacto de los procesos de deshidratación, cocción o tratamientos térmicos sobre la calidad nutricional del producto.

Particularmente importante resulta conocer el impacto de los tratamientos térmicos sobre la calidad nutricional en el proceso de producción de merkén en forma artesanal en comparación con el proceso a nivel industrial, que sería otro tema a continuar investigando.

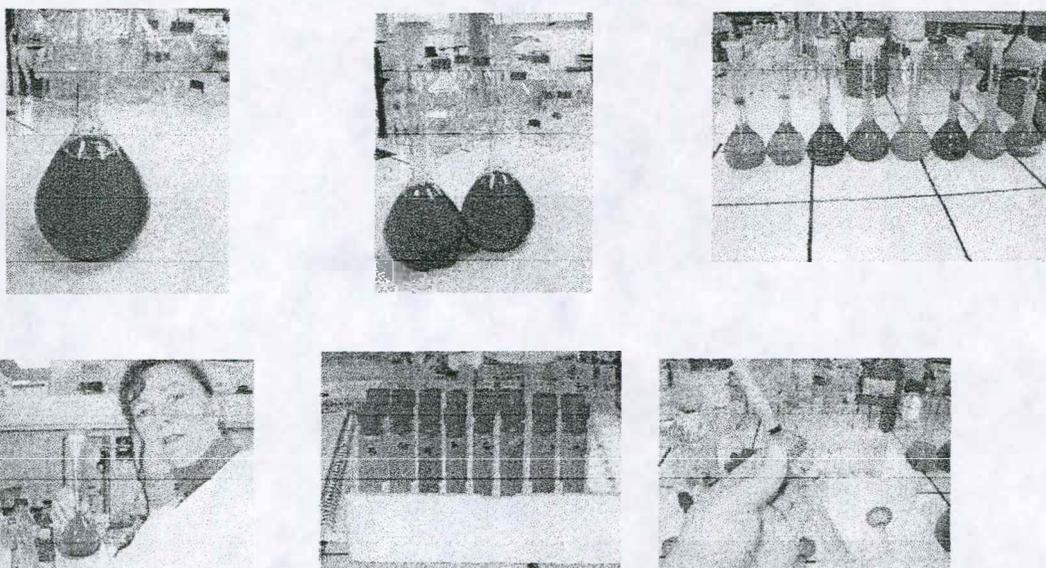
La calidad nutricional ha sido evaluada a través de los nutrientes esenciales aportados por las hortalizas, donde el ají para merkén puede sufrir impactos en el proceso de deshidratación, secado y tostado. Particularmente la vitamina C, antioxidante aportado en más de un 80% por las frutas y verduras, pero solamente en un 20% para las verduras cocidas producto de una fuerte pérdida en los procesos de aplicación de temperatura.

La vitamina C es en efecto no solamente sensible durante la cocción en agua ya que es hidrosoluble sino igualmente a la oxidación, fenómeno fuertemente acelerado por los tratamientos térmicos. Los carotenoides y ciertos fenoles particularmente reductores igualmente oxidables, son la mayor parte del tiempo protegido por la vitamina C que presenta un poder reductor superior.

Sería muy importante en Chile implementar estos métodos HPLC por fluorescencia para caracterizar la calidad nutricional de productos nativos con potencial gourmet y de microorganismos con potencial antagonista para el control de enfermedades como también para la obtención y microencapsulación de bacterias probióticas y otros nutraceuticos para el mercado de alimentos funcionales.

Una actual y creciente tendencia en la nutrición humana es la alimentación funcional, es decir, la comida que puede tener beneficios fisiológicos y/o tiene la habilidad de reducir el riesgo de enfermedades crónicas más allá de la nutrición básica. Estas pueden ser comida convencional y ser consumidas en su forma fresca o luego de procesadas.

Figura 1 : Fotos del trabajo de laboratorio desarrollando la metodología para determinación de vitamina C por HPLC- fluorescencia



### 1.1.2 Protocolo de determinación de polifenoles a través del método FOLIN (Base sur l'article Georgé *et al.* 2005, JAFC)

#### Materiales y soluciones a preparar

- Solution acétone/eau (7/3 v/v)
- Solution de carbonate de sodium 75 g/L
- Solution de Folin dilué 10 fois dans l'eau
- Acide gallique (10-100 mg/L)
- Solution de vitamine C (1-20 mg/L)

#### Méthode

1. Préparation de l'échantillon : broyer l'échantillon avec le blender x (70 g)
2. Extraction des polyphénols et composés hydrophiles :
  - Mélanger 10 g de broyat avec 20 mL de solution acétone / eau dans des Bécher de 50 g.
  - Homogénéiser la solution à l'aide d'agitateurs magnétiques et de barreaux aimantés pendant 30 minutes.
  - Diluer à 200 mL dans les fioles jaugés.
  - Centrifuger 10 mL (après avoir bien agité la fiole) de la solution à 8000 tours/min
  - Filtrer le surnageant avec des filtres Nylon 0,45  $\mu$ .
3. Réaction de Folin (2 répétitions)  
Dans des tubes de 10 mL
  - Prendre 2 mL du surnageant filtré
  - Ajouter 2,5 mL de la solution Folin diluée, agiter au vortex et laisser réagir pendant 5 minutes à température ambiante.
  - Ajouter 2 mL de carbonate de sodium (75 g/l)
  - Incuber les tubes pendant 15 minutes à 50° (bain Marie).Refroidir les tubes dans de la glace.

4. Mesurer immédiatement l'absorbance à 760 nm contre un blanc contenant le 200  $\mu$ L d'acétone/eau et 1800  $\mu$ L d'eau à la place de l'échantillon.
5. Détermination des polyphénols:
  - Etalonnage externe: acide gallique
  - Vitamine C aux concentrations contenues dans nos échantillons
  - Résultats exprimés en Equivalents mg acid gallique/100 g produit

Premier essai :

1 échantillon par lot = 4 échantillons

| Solutions                       | Qté/échantillon            | Qté totale |
|---------------------------------|----------------------------|------------|
| Solution acétone/eau (7/3 v/v)  | 10 g                       | 11         |
| Solution de carbonate de sodium | 2 mL                       | 500 mL     |
| Folin                           | 50 mL Folin dilué à 500 mL | 500 mL     |
| Acid gallique                   | 0,025 g dans 250 mL        | 250 mL     |

VitC solution mère 25 mg/25 mL et dilution 50 fois (500  $\mu$ L dans 25 mL).

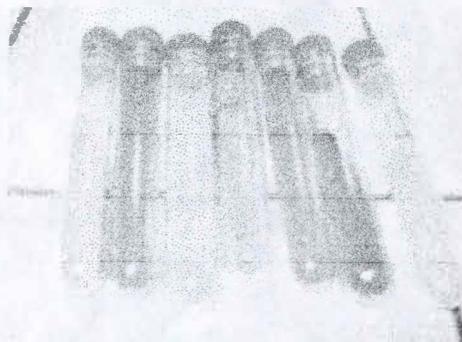
### Resultados finales obtenidos para el análisis de Polifenoles.

| Contenido de Polifenoles            | Concentración mg/100g |
|-------------------------------------|-----------------------|
| Pimiento rojo (Red pepper)          | 296                   |
| Pimiento amarillo (Yellow pepper)   | 284                   |
| Pimiento verde (Green pepper)       | 215                   |
| Poroto verde sometido a temperatura | 42                    |
| Poroto verde fresco                 | 58                    |

Estos resultados muestran que los contenidos de polifenoles en estas hortalizas son altos si los comparamos con el contenido de polifenoles en poroto verde crudo que alcanza 58 mg/g MS, en cambio los valores obtenidos con el producto poroto verde sometido a un proceso de cocción disminuye a 42 mg/g MS por eso es importante estudiar las temperaturas y tiempo de secado de las hortalizas para mantener los principios nutricionales.

Las concentraciones elevadas de polifenoles en pimiento-ají revelan su interés nutricional y antioxidante.

Figura 2 : Foto del trabajo de laboratorio desarrollando la metodología para la determinación de polifenoles.



### **1.1.3 Metodologías para evaluar el impacto de los procesos de cocción y deshidratación en la calidad nutricional de hortalizas.**

El método de espectroscopia de fluorescencia es en efecto una técnica de desarrollo reciente, nueva y útil de exploración rápida y no invasiva de la estructura físico-química de la materia que funciona desarrollando dispositivos ópticos que permiten una captación de la luz emitida sobre una superficie de una muestra sólida.

A continuación se señala el método de análisis, para determinar:

- Materia seca
- Minerales
- Vitamina C
- Betacaroteno
- Polifenoles
- Folatos (derivados del ácido fólico)
- Carboxymethylsine
- Proteínas.

#### **Materiales y métodos**

##### **Materia seca**

Las muestras finamente molidas deben ser liofilizadas. La materia seca se calcula como la diferencia de peso antes y después de la liofilización.

##### **Minerales (Mg et Ca)**

La dosificación de Mg y Ca ha sido realizado por espectrometría de absorción atómica sobre las cenizas obtenidas por calentamiento a 600°C en un horno en presencia de 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Las medidas fueron efectuadas en una mufla en presencia de 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Las medidas fueron efectuadas a  $\lambda = 202 \text{ nm}$  para Mg y  $\lambda = 422,7 \text{ nm}$  para el Ca (Porres y al., 2004).

##### **Vitamina C**

La dosificación de la vitamina C ha sido realizada desde la recepción de los productos. Han sido colocados inmediatamente después de cocción en una solución de ácido metafosfórico el 5 % a razón de 50g aproximadamente para 20mL. En efecto, esta vitamina puede oxidarse a temperatura débil.

La dosificación de la vitamina C se realizó por HPLC, un método desarrollado para los productos alimenticios (Gliquem and Birlouez-Aragon, 2005) y adaptado para las verduras. Después de tener oxidado el ácido ascorbique en ácido déhydroascorbique, este último es derivado por añadido de phénylènediamine y el producto fluorescente obtenido es determinado por HPLC-fluorescence ( $\lambda_{\text{ex}} / \lambda_{\text{em}} = 360 / 440\text{nm}$ ).

##### **Betacaroteno**

Todo el procedimiento es efectuado en ausencia de luz con el fin de evitar la degradación de los pigmentos. El análisis es realizado sobre los porotos verdes

liofilizados. Estas extracciones sucesivas para una solución metanol:tetrahydrofurane (1:1, v/v) son realizados hasta la obtención de un casquillo blanco. La muestra seca es diluida en acetonitrile-methanol-ethyl acetate (60:20, v / v / v). Es filtrado y analizado por HPLC en UV-Visible,  $\lambda = 450$  nm. El método que utilizamos es adaptado por las publicaciones de Marinova (2007) y Hart y Scott (1995).

### Polifenoles

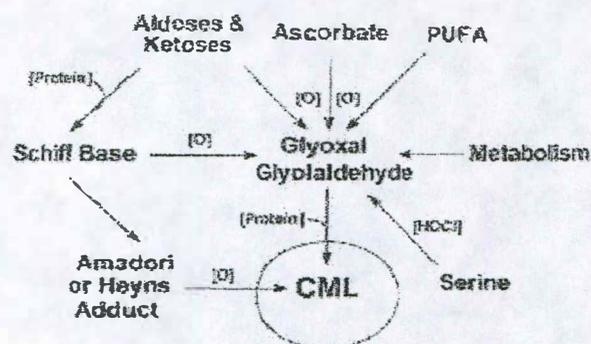
Los polifenoles han sido determinados por el método de Folin-Ciocalteu (Georgé y al., 2005). Los polifenoles son extraídos por acetona. Su oxidación en la solución Folin, permite la obtención de un complejo de coloración azul. La absorbancia de este complejo es medido por espectrofotometría visible a 760nm.

### Folatos

Su dosificación ha sido realizada por ISHA por el método NF EN 14131.

### Carboxymethylsine (CML)

Este compuesto neoforado, marcador estable de la última etapa de la reacción de Maillard (cf. Figura 3), tiene como objetivo determinar la cantidad de producto formado por GC-MS. Después de una primera etapa de hidrólisis ácida las muestras sufren una derivación doble: un esterificación por el metanol (SOCl<sub>2</sub>+MeOH) y una acilación de la función NH<sub>2</sub> (TFAA). El compuesto derivado es dosificado por GC-MS.



**Figura 3. Reacción de Maillard y formación del CML después de Thorpe *et al.* (2002).**

### 1.2. Desarrollo de trabajo práctico sobre metodologías de laboratorio para análisis de calidad en alimentos

Se trabajó con métodos de espectroscopía de fluorescencia la metodología completa para determinar contenido de Vitamina C en poroto verde para ser sometido a proceso de industrialización (deshidratado, congelado.)

## Proteínas

La dosificación de las proteínas ha sido realizada sobre las muestras liofilizadas con un dosificador de nitrógeno Leco FP 528. El coeficiente de conversión en concentración proteica es 5,69.

A fin de determinar el impacto de los procesos de cocción sobre la calidad nutricional de las hortalizas, los indicadores pertinentes han sido medidos para tres procesos de cocción:

(CU): 95°C, 45 segundos, aspersión de agua

(CV): 95°C, 30 segundos, vapor a presión

(CC): 95°C, 14 minutos, aspersión de agua

Estos tres parámetros de cocción, podrían ser utilizados para tratamientos de escaldado, cocción, y deshidratación de hortalizas, estudiando el efecto sobre las vitaminas (vitamina C, betacarotenos, folatos), los fenoles totales, las fibras solubles y totales, los minerales (Mg y Ca) y el compuesto neoformado de carboxymethylisine (CML).

### 1.3 Resultados: Vitamina C

La cocción disminuye fuertemente la concentración de vitamina C (40 a 50%).

La cocción conlleva a una degradación significativamente superior de la vitamina C con relación a los 2 otros procedimientos de cocción (17% en relación a CV y el 13 % con relación al CU).

### Resultados: Betacarotenos

Varios carotenoides se identificaron en los porotos verdes. Entre éstos, la luteína es el más preponderante en cantidad y le sigue el betacaroteno que representa cerca del 30% de los carotenos totales de los porotos verdes, que lleva actividad provitamínica.

### Resultados: Derivados del ácido fólico

Los productos contienen una media de  $5,2 \pm 0,3 \mu\text{g/ g MS}$  de derivados de ácido fólico. Así la concentración de los porotos verdes crudos ( $65 \mu\text{g/ 100g}$ ) es similar a la producida en la tabla del CIQUAL, ( $70 \mu\text{g/ 100g}$  porotos verdes frescos).

### Resultados: Carboxymethylisine (CML)

La concentración en CML es un indicador de tratamiento térmico: su concentración aumenta linealmente con el tiempo de calentamiento para una temperatura dada.

### Resultados: Proteínas

La concentración de proteínas medida sobre los porotos verdes ( $1,9 \text{ g/100 g cru}$ ) es similar al presentado en la tabla de CIQUAL ( $2,1 \text{ g/100 g cru}$ ).

**No se observa ninguna modificación del contenido de proteína en los productos cocidos con relación a los crudos.**

## 3. Planes de elaboración de mezclas de merkén, en base a dos tipos de ají (Pimiento A y Pimiento B).

**Se diseñó una metodología para analizar en un alimento que en este caso correspondió a merkén, que permita con métodos fluorescentes conocer la**

composición de cada uno de los ingredientes de la mezcla, de tal forma de poder analizar diferentes formulaciones en los ingrediente sal, tipo de aji o pimiento y semilla de cilantro.

**Plan de mezcla.**

- Pimiento A.  
Plan de mezcla I

| Tratamiento | Pimiento A |         | Cilantro |
|-------------|------------|---------|----------|
|             | (g)        | Sal (g) | (g)      |
| 1           | 3          | 0       | 0        |
| 2           | 0          | 3       | 0        |
| 3           | 0          | 0       | 3        |
| 4           | 1,5        | 1,5     | 0        |
| 5           | 0          | 1,5     | 1,5      |
| 6           | 1,5        | 0       | 1,5      |
| 7           | 1          | 1       | 1        |

- Pimiento B.  
Plan de mezcla II

| Tratamiento | Pimiento B |         | Cilantro |
|-------------|------------|---------|----------|
|             | (g)        | Sal (g) | (g)      |
| 1           | 3          | 0       | 0        |
| 2           | 0          | 3       | 0        |
| 3           | 0          | 0       | 3        |
| 4           | 1,5        | 1,5     | 0        |
| 5           | 0          | 1,5     | 1,5      |
| 6           | 1,5        | 0       | 1,5      |
| 7           | 1          | 1       | 1        |

**Pimiento A. (Pimiento, sal, cilantro y repetición respectivamente)**

*1. Tamiz 4,44 mm.*

RT-PTA – 4,44 g – 001 Rept. 1  
 RT-PTA – 4,44 g – 002 Rept. 2  
 RT-PTA – 4,44 g – 003 Rept. 3  
 RT-PTA – 4,44 g – 004 Rept. 4  
 RT-PTA – 4,44 g – 005 Rept. 5

*2. Tamiz 2,79 mm.*

RT-PTA – 2,79 g – 001 Rept. 1  
 RT-PTA – 2,79 g – 002 Rept. 2  
 RT-PTA – 2,79 g – 003 Rept. 3  
 RT-PTA – 2,79 g – 004 Rept. 4  
 RT-PTA – 2,79 g – 005 Rept. 5

3.- Tamiz 1,2 mm.

RT-PTA – 1,2 g – 001 Rept. 1

RT-PTA – 1,2 g – 002 Rept. 2

RT-PTA – 1,2 g – 003 Rept. 3

RT-PTA – 1,2 g – 004 Rept. 4

RT-PTA – 1,2 g – 005 Rept. 5

Pimiento B. (Pimiento, sal, cilantro y repetición respectivamente).

1. Tamiz 4,44 mm.

RT-PTB – 4,44 g – 001 Rept. 1

RT-PTB – 4,44 g – 002 Rept. 2

RT-PTB – 4,44 g – 003 Rept. 3

RT-PTB – 4,44 g – 004 Rept. 4

RT-PTB – 4,44 g – 005 Rept. 5

2. Tamiz 2,79 mm.

RT-PTB – 2,79 g – 001 Rept. 1

RT-PTB – 2,79 g – 002 Rept. 2

RT-PTB – 2,79 g – 003 Rept. 3

RT-PTB – 2,79 g – 004 Rept. 4

RT-PTB – 2,79 g – 005 Rept. 5

3.- Tamiz 1,2 mm.

RT-PTB – 1,2 g – 001 Rept. 1

RT-PTB – 1,2 g – 002 Rept. 2

RT-PTB – 1,2 g – 003 Rept. 3

RT-PTB – 1,2 g – 004 Rept. 4

RT-PTB – 1,2 g – 005 Rept. 5

**II. Actividades desarrolladas en el laboratorio de bioencapsulados (<http://www.capsulae.com>) con la participación del Dr. Denis Poncelet, director científico de la Ecole Nationale d'Ingenierurs des Techniques des Industres Agricoles et Alimentares, de Nantes , Francia, presidente del Bioencapsulation Research Group y Coordinador del European Space Agency Tropical Team on Microencapsulation y Head of the Virtual Institute on Bio & Microencapsulation Sciences and Technology., se observó las técnicas y metodologías de microencapsulación para la generación de bioinsumos en la agricultura.**

1. Microencapsulación.

La microencapsulación corresponde a todos aquellos procesos y tecnologías que incluyen la agrupación de ingredientes activos en partículas individuales. Su uso pasaría a ser parte de una solución potencial frente a problemas tecnológicos específicos, generando nuevos productos o procesos innovadores.

Los cuatro objetivos principales de la encapsulación de un ingrediente activo o microorganismo apuntan en lograr la inmovilización, protección o estabilización, liberación controlada y funcionalización o estructuración.

Para poder desarrollar un producto basado en microencapsulación se debe seleccionar primero que nada un método dentro de una amplia gama de tecnologías que pueda responder a la definición de una formulación y los procesos operacionales que este conlleva.

La solución debe satisfacer las condiciones particulares de la aplicación, las especificaciones del proyecto y respetar la regulación. El proceso debe ser integrado y operar correctamente dentro de la industria o planta responsable del proyecto y además contar con un costo de manufactura aceptable al mercado.

Las principales tecnologías de las microencapsulación son tecnologías de empapado (con generador electrostático o jet de resonancia), de emulsificación (con evaporación de solvente o polimerización interfacial) y de cobertura (usando el reactor Wurster o en el proceso de formación de film con rociamiento y secado).

De acuerdo a esto es importante desarrollar este tipo de procesos en Chile, considerando el mundo agrícola y alimentario para generar este tipo de propuestas innovativas, que mejorarían la funcionalidad de alimentos, cultivos y también ser parte de una agricultura sustentable.

#### **GRUPO DE INGENIERÍA EN BIOENCAPSULACIÓN:**

ENTIAA: es una escuela de ingeniería alimenticia francesa. Forma 100 ingenieros al año y maneja una importante investigación en ingeniería en alimentos.

GEPEA: es una Unidad de Investigación asociada con la Universidad de Nantes.

Métodos de producción, formulación y optimización para sistemas dispersos:

una gran diversidad de materiales se hace de estructuras complejas y homogéneas. Dentro de estas estructuras, una gran parte se constituye de dispersiones, incluyendo polvos y emulsiones.

Los objetivos principales del grupo de dispersión es investigar y desarrollar, usando un acercamiento genérico, los sistemas dispersos.

El campo de aplicaciones del grupo de investigación cubre la mayoría de las áreas biológicas como: alimentos, agricultura, cosmética, medioambiente, nutrición, farmacia.

#### **MICROENCAPSULACIÓN DE BACTERIAS PROBIÓTICAS Y OTROS NUTRACÉUTICOS PARA EL MERCADO DE ALIMENTOS FUNCIONALES.**

Una actual y creciente tendencia en la nutrición humana es la alimentación funcional, es decir, la comida que puede tener beneficios fisiológicos y/o tiene la habilidad de reducir el riesgo de enfermedades crónicas más allá de la nutrición básica. Estas pueden ser comida convencional y ser consumidas en su forma fresca o luego de procesadas.

Trabajo y resultados actuales:

Identificación de materiales cubridores e inmovilizantes adecuados.

Encapsulación usando técnicas emulsificantes

Caracterización de polvos y cápsulas producidas (resistencia mecánica, propiedades liberadoras, digestión in vitro, etc.).

## MICROENCAPSULACIÓN DE PRODUCTOS PROBIÓTICOS PARA EL CONSUMO HUMANO Y ANIMAL

La estabilidad de los probióticos en la comida es un desafío importante debido a su alta sensibilidad a varios estreses. En el campo de la nutrición animal, los probióticos tienen que ser incorporados a pellets que requieren alta fuerza de compresión y que provoca un gran aumento en la temperatura, induciendo así una alta mortalidad de ellos. Es importante encontrar nuevas técnicas que solucionen estos inconvenientes para permitir mayor resistencia al procesamiento de los alimentos y a su alta duración post-ensado.

## FIJACIÓN MICROBIANA DE NITRÓGENO ATMOSFÉRICO PARA CULTIVOS ALIMENTICIOS

El realce de la fijación del nitrógeno, a través de la aplicación de inoculantes es bien conocida en leguminosas como la soya, pero no hay disponibles en forma efectiva productos fijadores de N para otros cultivos que no sean de leguminosas y las bacterias fijadoras de nitrógeno que interactúan con cultivos distintos de leguminosas son vulnerables a pérdidas durante el almacenamiento y la aplicación, disminuyendo su eficiencia.

Micro N-fix es un proyecto de investigación que apunta a desarrollar nitrógeno fijado con inoculantes bacterianos para uso con trigo y maíz mezclando. Nuevas cepas de bacterias fijadoras se seleccionarán con características deseadas para uso como inoculantes, con el objetivo de mejorar la cantidad de N fijado a las plantas.

## FORMULACIÓN CONTÍNUA DE CAMAS DE HIDROGEL EN UN MEZCLADOR ESTÁTICO DE SMX

Los mezcladores estáticos de smx se diseñan principalmente para mezclar fluidos viscosos en un flujo laminar. Algunas de las ventajas son mejora en la transferencia de calor y bajo tiempo de residencia. Se ha demostrado que este proceso se adecua bien para formar camas de hidrogeles. La tasa de producción con un diámetro de 6 mm y 6 cm de longitud del mezclador estático es de alrededor de 42L/hora.

El objetivo de esta investigación es optimizar el proceso al predecir el tamaño de las camas cualquiera sean los materiales.

## OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE CUBRIMIENTO WURSTER

El proceso Wurster es una técnica de cubrimiento que está bien adecuada a encapsulamiento de partículas sólidas. Durante estas décadas, esta tecnología está ganando importancia en aplicaciones farmacéuticas y alimenticias. Sin embargo, su control sigue siendo bien delicado y requiere de bastantes experiencias y un gran número de ensayos. Este proyecto apunta a obtener un entendimiento mejor y más específico de las diferentes operaciones que tienen lugar durante el proceso de cubrimiento Wurster como la pulverización, secado y movimiento de partículas. El objetivo es optimizar el proceso económicamente y con atención a las especificaciones del producto final, al escoger las condiciones óptimas del proceso económicamente limitando problemas posteriores generados por el manejo empírico.

## INMOBILIZACIÓN DE BACTERIA BIOLUMINESCENTE PARA EL DESARROLLO DE UN BIOSENSOR AMBIENTAL.

Los biosensores son herramientas prometedoras para la detección de sustancias específicas en diferentes campos. Permiten mediciones rápidas, sin necesidad de preparación de ejemplos complejos o personal especializado. La inmovilización de la bacteria es un paso clave para poder alcanzar el manejo, la miniaturización, el almacenaje del biosensor y la posibilidad de reutilizarlo para mediciones repetitivas.

## INTERCAMBIO DE MASA INTERFACIAL Y POR CONVECCIÓN (CIMEX) MICROENCAPSULACIÓN POR EVAPORACIÓN DE SOLVENTE

CIMEX es un Programa de Investigación Europea, parcialmente fundado por la Agencia Espacial Europea (ESA). Apunta a investigar el fenómeno de la transferencia de masa y de calor a través de interfaces entre dos líquidos (extracción de solvente).

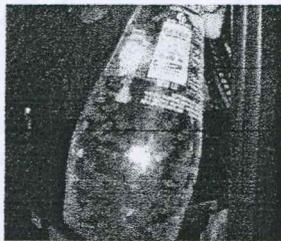
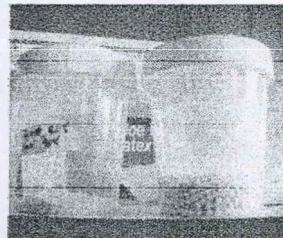
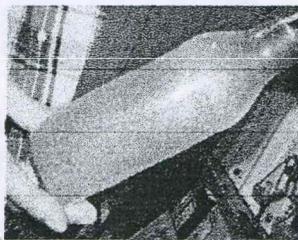
El rol de ENTIAA en este proyecto es la optimización de los procesos de roceado y secado y de evaporación del solvente, para la producción de microcápsulas para aplicaciones cosméticas y farmacéuticas. Existe entonces un importante vacío en conocimiento sobre el proceso físico-químico y de ingeniería por evaporación solvente.

## DESARROLLO DE MÉTODO DE MICROENCAPSULACIÓN POR EMULSIONES MÚLTIPLES PARA COMPUESTOS NUTRACÉUTICOS

Se es bien sabido que la dieta influye varias funciones en el cuerpo. Con el aumento en el conocimiento relativo a los efectos benéficos conferidos por algunos ingredientes en la salud, numerosos alimentos funcionales que contienen tales ingredientes están ahora disponibles en el mercado. Sin embargo, la actividad benéfica para la salud se limita a menudo cuando compuestos nutraceuticos se agregan a productos alimenticios o después de la ingestión a causa de la sensibilidad de tales ingredientes a condiciones físico-químicas encontradas (acidez, oxígeno), procesamiento de la comida (cocción, mezcla) y durante el almacenaje.

El objetivo de este estudio es desarrollar un método original de microencapsulación mediante múltiple emulsión para proteger los compuestos nutraceuticos en los jugos de las frutas.

Fotos de productos en laboratorios de bioencapsulados con la participación del Dr. Denis Poncelet, Director científico de la Ecole Nacional d'Ingenierurs des Techniques des Industres Agricoles et Alimentares, de Francia, presidente del Bioencapsulation Research Group y Coordinador del European Space Agency Tropical Team on Microencapsulation y Head of the Virtual Institute on Bio & Microencapsulation Sciences and Technology.



## Conclusiones.

1. Gracias a este premio me fue posible desarrollar en Francia las técnicas y metodologías para evaluar la calidad y seguridad alimentaria en el Instituto Superior agronómico de Beauvais, y también conocer la experiencia de investigación – desarrollo sobre la generación de bioinsumos para la agricultura en el laboratorio de industrias alimentarias y bioencapsulación en la Universidad de Nantes.
2. Hoy formo parte del grupo científico de investigación en bioencapsulación, intercambiando experiencias para futuras investigaciones.
3. También me ha permitido, visualizar el potencial que tiene nuestra región en principios nutricionales y nutraceuticos presentes en frutas y verduras para la producción de alimentos funcionales y desarrollo de productos alimentarios de la cultura mapuche.
4. Conocer los avances en temas como certificación de la calidad alimentaria y generación de bioinsumos para mejorar la producción de alimentos como:
  - 1.- microencapsulación de productos probióticos para el consumo humano y animal
  - 2.- inmovilización de bacteria bioluminescente para el desarrollo de un biosensor ambiental,
  - 3.- desarrollo de método de microencapsulación por emulsiones múltiples para compuestos nutraceuticos,
  - 4.- microencapsulación de bacterias probióticas y otros nutraceuticos para el mercado de alimentos funcionales entre otras
5. Esta actividad, permitió potenciar las iniciativas ya existentes (FIA-PI-T-2006-1-A-058) sobre producción y procesamiento de ají merkén de alto valor agregado y ha sido un apoyo muy importante en la adquisición de nuevo conocimiento para poder continuar perfeccionándome, en donde espero poder apoyar, servir y retribuir a mi región y país .

Infinitas gracias a todos los que han tenido que apoyar esta decisión y a los que han trabajado para que esta iniciativa se concrete.

**"A veces sentimos que lo que hacemos es tan solo una gota de agua en el mar, pero el mar sería menos si le faltara esa gota." (Madre Teresa de Calcuta)**