

Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds // Journal of Food Engineering 67 (2005) 205-214

Stella M. Alzamora ^{a,*}, Daniela Salvatori ^a, Mari´a S. Tapia ^b, Aurelio Lo´pez-Malo ^c, Jorge Welti-Chanes ^c, Pedro Fito ^d

^a *Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires, Argentina*

^b *Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Apartado 47097, Caracas 1041, Venezuela* ^c *Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas—Puebla,*

Ex-Hacienda Santa Catarina Mártir, Puebla 72820, Mexico *Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia, Apartado 22012, 46071 Valencia, Spain*

Автор для переписки. Fax: +54 11 4576 3495. E-mail address: almazora@di.fcen.uba.ar (S.M. Alzamora).

Новые функциональные пищевые продукты на растительной основе, обогащенной биологически активными соединениями

Резюме

Функциональная пища улучшает функции организма помимо питательного действия, либо улучшая состояние здоровья и самочувствие, и/либо снижая риск болезни. Ассортимент функциональных пищевых продуктов чрезвычайно вырос. Одной из главных задач проекта многонационального сотрудничества, названного ‘Возникающие методы консервирования пищи, представляющие интерес в Латинской Америке’ (программа CYTED), выполненного с 1999 по 2004 г., был анализ осуществимости обработки в атмосфере и/или вакууме для включения физиологически активных соединений в растительные ткани без разрушения первоначальной пищевой основы. Это сотрудничество свело вместе доклад о прогрессе в развитии функциональных фруктовых и овощных основ, обогащенных пробиотиками и минералами (кальцием и цинком). Главные обсуждаемые аспекты – кинетика добавления питательных веществ в основу, жизнеспособность некоторых активных соединений и взаимодействия между кальцием, клеточной структурой и механическими свойствами тканей фруктов и овощей. Методы пропитки в вакууме и/или в атмосфере, по-видимому, осуществимы для использования тканей овощей и фруктов как новой основы, в которую могут быть успешно включены функциональные ингредиенты, давая новую категорию функционального продукта питания и новые коммерческие возможности.

Ключевые слова: функциональные продукты питания; овощная основа; добавление в

пищу минералов и пробиотиков; пропитка

1. Введение

Последние несколько лет наука о питании, традиционно сконцентрированная на установлении сбалансированной диеты, придавала особое значение «оптимизированному» питанию, которое увеличивает среднюю продолжительность и качество жизни, определяя пищевые ингредиенты, которые при добавлении к сбалансированной диете повышают способность сопротивляться болезням и улучшают здоровье (Gibson & Williams, 2000). Разработка функциональных пищевых продуктов отражает это изменение в отношении между диетой и здоровьем. Из-за сложности термина 'функциональность' не существует общепринятого определения функциональной пищи. Более того, функциональную пищу следует понимать как общее представление, а не определенную группу пищевых продуктов. Разработанное положение Европейской комиссии по науке о функциональной пище в Европе (FUF0SE) предложило, что 'Пища может рассматриваться как функциональная, если удовлетворительно показано, что она целебно действует на одну или более функций организма, помимо соответствующего питательного действия, либо улучшая состояние здоровья и самочувствия и/или снижая риск болезни'. Функциональная пища должна оставаться пищей и должна оказывать влияние, которое в норме оказывает диета: это не таблетка или капсула, а часть обычной пищи. .." (Diplock et al., 1999).

Всемирный рынок функциональной пищи оценивают в 47.6 млрд. долларов США, США является наибольшей частью рынка после Европы и Японии (Sloan, 2002). Наконец, ассортимент функциональных пищевых продуктов, которые улучшают здоровье, значительно вырос. Примеры включают пищу для детей, выпечку и зерновые, кондитерские, молочные продукты, готовое мясо, закуски, безалкогольные напитки, такие как энергетические и спортивные напитки, мясные продукты и пасты. Эти функциональные пищевые продукты связаны с различными типами целебности, выглядят как обогащение витаминами и минеральными веществами, снижают холестерин, являются антиоксидантами, фитохимическими веществами, диетическими волокнами, травами и растениями, пробиотиками, пребиотиками и симбиотиками.

Как часть науки и технологии для разработки подпрограммы консервирования пищи в Латинской Америке (CYTED), многонациональный проект сотрудничества, озаглавленный 'Возникающие методы консервирования пищи в Латинской Америке', проходил с 1999 по 2003 г. Одной из основных задач этого проекта был анализ пропитывающей обработки в атмосфере и/или в вакууме, чтобы включить физиологически активные соединения (РАС) в ткани растений без разрушения первоначальной структуры пищи.

Растительные ткани являются многофазными системами со сложной микроструктурой, образованной клетками, межклеточными пространствами, капиллярами и порами. Четыре главных типа зрелой растительной ткани – запасающая ткань или паренхима, проводящие или сосудистые (состоящие из флоэмы и ксилемы); поддерживающие и защитные ткани. Съедобные части большинства фруктов и овощей состоят из паренхимных клеток мякоти, которые образуют основную массу более мягких частей растений. Питательные вещества, важные для человека, часто хранятся в этих тонкостенных живых клетках. Паренхимные клетки имеют диаметр от 50 до 500 мкм в диаметре и являются сферическими или полиэдральными по форме. Они состоят из средней пластинки, которая склеивает соседние клетки; основной клеточной стенки, плазменной мембраны; тонкого слоя пристеночной цитоплазмы, содержащей различные органеллы (митохондрии, сферосомы, пластиды, хлоропласты, эндоплазматический ретикулум, ядро и т. д.); и ограниченные мембраной тонопласта одна или несколько вакуолей, которые содержат водный раствор органических кислот, соли, пигменты и ароматические вещества, которые ответственны за осмотический потенциал клетки (Aguilera & Stanley, 1991). Клеточные стенки пронизаны пристеночной цитоплазмой смежных клеток, плазмодесмами, которые соединяют цитоплазму соседних клеток. Клетки и межклеточные пространства упорядочены в ткани, а эти последние – в конечный орган.

Транспорт между клетками происходит через стенки или апоплазму, через цитоплазматические тяжи или плазмодесму (симпластический транспорт) или через соединения тонопласта и мембран плазмалеммы (трансмембранный транспорт). Апопластический транспорт включает движение молекул через водную часть матрикса клеточной стенки, если они не иммобилизованы электростатической или другой формой связывания с полимерами стенки (Brett & Waldron, 1996). Carpita, Sabularse, Montezinos, Delmer (1979) показали, что поры стенок паренхимных клеток тканей овощей могут быть 35-55 Å в диаметре и устанавливают ограничение размера молекул, которые могут проникать через них. Например, перенос солей, сахаров и аминокислот легко возможен, как и перенос некоторых мелких белков и полисахаридов. Нет доказательства переноса макромолекул, и крупные белки обычно считаются неподвижными. Несмотря на различие в составе и структуре клеточных стенок различных растительных тканей, ограничивающие диаметры пор, по-видимому, одинаковы (Carpita et al., 1979). К тому же интактная клеточная стенка растений представляет очень эффективный барьер против атаки микроорганизмов, поскольку их поры слишком малы, чтобы пропустить бактерии (колебания размеров ~0.1 - 5 мкм), дрожжи (колебания размеров 5 - 30 мкм), споры грибов

(пределы размеров =3 - 9 мкм) и даже вирусы (колебания размеров 0.02 - 0.3 мкм) проникнуть через протопласт (Alzamora et al., 2000). Поэтому для проникновения микроорганизмов через клеточные стенки требуется физико-химическая или ферментативная деградация и/или изменение структур стенки.

В пористых фруктах и овощах не поры стенки, а межклеточные пространства могут играть большую роль в проникновении микроорганизмов. Эти межклеточные пространства обычно рассматривают как «поры» и так будут рассматриваться в этой работе. Межклеточные воздушные пространства обычны в паренхимных тканях и оцениваются в 20-25% общего объема в яблоке, 15% в персике, 37–45% в грибах и 1% в картофеле. Например, зрелые клетки паренхимных клеток яблок могут быть 50-500 мкм в диаметре с воздушными пространствами 210-350 мкм в ширину (Lapsley, Escher, & Hoehn, 1992). Таким образом, эти пространства – достаточно большие, чтобы микроорганизмы могли пройти через них. Кроме того, стареющие яблоки обнаруживают изменения в составе клеточной стенки с разрушением средней пластинки и повышением межклеточных пространств, допускающих перенос крупных молекул и микроорганизмов (Ben-Arie, Kislev, & Frenkel, 1979).

Процессы пропитывания, осуществляемые при атмосферном давлении (AI), в условиях вакуума (VI) или сочетании вакуумной пропитки с последующими длительными периодами при атмосферном давлении, могут применяться для включения PACs. При AI, клеточные структуры растения действуют как полупроницаемые мембраны, и PAC переносится из концентрированного раствора в клетку процессом, обычно рассматриваемым как диффузия.

Когда пористая ткань погружается в концентрированный раствор PAC в вакуумных условиях, воздух экстрагируется из пор и затем при атмосферном давлении восстанавливается, пропитывающий раствор проникает в межклеточные пространства капиллярным воздействием градиентов атмосферы (т.е., гидродинамический механизм, НДМ), которое навязывается системе, помогая включению PACs (Fito, 1994). Замещение внутренних газов жидкой фазой наносимого состава позволяет прямой подбор состава пищи быстрыми модификациями состава твердой основы без подвергания пищевой структуры возможному давлению, обусловленному длительному воздействию градиента концентраций раствора при атмосферном процессе (Fito, Andrés, Chiralt, & Pardo, 1996; Mujica-Paz et al., 2002; Mujica-Paz, Valdéz-Fragoso, López-Malo, Palou, & Welti-Chanes, 2003). Это в свою очередь может привести к улучшению качества конечного продукта.

Этот вклад сводит вместе сообщения о прогрессе некоторых участников проекта CYTED в разработку функциональных фруктовых и овощных основ, обогащенных

пробиотиками и минеральными веществами (кальций и цинк). Главными аспектами являются осуществимость основ растений выдержать AI или VI PACs; кинетика усиления основы; жизнеспособность некоторых активных соединений в этой пище и взаимодействие между кальцием, клеточной структурой и механическими свойствами тканей фруктов и овощей.

2. Укрепление основы фруктов и овощей

2.1. Пробиотики

Функциональная пища для улучшения баланса и активности кишечной среды в настоящее время обеспечивают наибольший сегмент функционального рынка в Европе, Японии и Австралии. Специфические ингредиенты для здоровья пищеварительного тракта могут включать живые микроорганизмы (пробиотики), непереваримые углеводы (диетические волокна и пребиотики) и биологически активные соединения (например, фенолы). В настоящее время пробиотики доступны во множестве пищевых продуктов и добавок, главным образом, молочных продуктах- жидком молоке и сквашенном молоке типа йогуртов. Наиболее часто применяемые бактерии, используемые коммерчески, принадлежат видам *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, хотя *Streptococcus thermophilus* и *Saccharomyces boulardii* также доступны в определенных молочных продуктах (Rastall, Fuller, Gaskins, & Gibson, 2000).

Нарушения и болезни, при которых возможно регулирование питанием, включают слизистые вакцины и иммуномодуляцию, контроль инфекций и искоренение микробов с множественной лекарственной устойчивостью, лечение кандидозных вагинитов, предупреждение передачи СПИД и других болезней, передаваемых половым путем, снижение холестерина и давления крови, улучшение переносимости лактозы и антимуtagenную/антиканцерогенную активность (Rastall et al., 2000; Saarela, Lähteenmäki, Crittenden, Salminen, & Mattila-Sandholm, 2002).

Rodríguez (1998) провел фундаментальные исследования по пропитыванию различными микроорганизмами (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* и *Phoma glomerata*), чтобы оценить их проникновение VI в пористые ткани фруктов. Яблоко Гренни Смит было выбрано как модель пористого фрукта, нарезано в цилиндры и пропитано изотоническим раствором сахарозы, содержащим микроорганизмы. Применяли один вакуумный импульс в 2 минуты при пяти различных абсолютных давлениях (75, 125, 225, 325, 425 мм ртутного столба) при 25 °C. Для каждого микроорганизма контролем было погружение образцов яблока в течение 2 минут при атмосферном давлении (675 мм ртутного столба). Когда сравнивали количество микробов свежего яблока и яблока, обработанного в условиях атмосферы, можно было наблюдать, что простое вымачивание

приводит к значительному повышению количества микробов (табл. 1). Это проливает свет на то, что капиллярная сила и сила сцепления – очень важные факторы, которые не могут быть забыты при любом модельном подходе погружения и операциях пропитки. Чем меньше абсолютное давление вакуумного импульса, тем выше включение микроорганизмов НДМ. По сравнению с контролем при 75 мм ртутного столба количество повышалось на 0.36, 0.73 и 1.07 log для *S. cerevisiae*, *L. acidophilus* и *P. glomerata* соответственно. Модель, предложенную Roa, Tapia, Millán (2001), применяли для предсказания включения микроорганизма в ткани овощей. Эти авторы упростили модель, предварительно разработанную Fito (1994), совершенствуя прямое экспериментальное определение объемной фракции образца (*X*), занятой пропитывающим раствором в результате НДМ. Табл. 2 сравнивает экспериментальные и предсказанные величины концентрации *L. acidophilus* после VI (Ci). Величина ошибки лежала в допустимых пределах для модели, которая предсказывает популяцию микробов, а также для результатов, ожидаемых при простой методике на чашках, типичных для анализа пищи (Rodríguez, 1998). Подобное выполнение модели было получено для других анализируемых микроорганизмов.

Таблица 1

микроорганизм	Импульсное давление ^b (мм ртутного столба)	Инокулят (log ₁₀ КОЕ/г) ^c	Свежий фрукт (log ₁₀ КОЕ/г) ^c	пропитанный фрукт (log ₁₀ КОЕ/г) ^d
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	75	5.74	3.08	5.05a
	125			5.01a
	225			4.84b
	325			4.70c
	425			4.59d
	675 ^c			4.61d
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	75	5.84	3.59	5.40a
	125			5.05b
	225			4.90c
	325			4.84d
	425			4.80e
	675 ^c			4.67f
<i>Phoma glomerata</i>	75	5.76	,1.00	5.28a
	125			4.88b
	225			4.82c
	325			4.40d
	425			4.27e
	675 ^c			4.21f

a-f: Сходные буквы указывают нестатистическое различие ($p < 0.05$), проведенное на нелогарифмических величинах количества микробов. ^a Длина: 2.58 ± 0.01 см; диаметр: 2.27 ± 0.01 см. ^b Абсолютное давление.

^c Среднее стандартное отклонение. Результаты 20 повторов. ^d Среднее стандартное отклонение. Результаты 7 повторов. ^e Атмосферное давление (контроли).

Таблица 2

Предсказание концентрации *L. acidophilus* вакуумно пропитанных яблочных цилиндров C_i (выраженной как \log_{10} КОЕ/г) и сравнение с экспериментальными величинами

Импульсное давление (мм рт.ст.)	X	C_i			Ошибка
			Экспериментальное	Предсказанное	
75	0.1195	5.40	5.07		0.33
125	0.0983	5.05	5.02		0.03
225	0.0598	4.90	4.90		0.00
325	0.0292	4.84	4.76		0.08
425	0.0090	4.80	4.63		0.17

^a Предсказано из уравнения: $C_i = (C_{iF} - C_i S)(F/M) + C_i S$, где C_{iF} = концентрация микроорганизмов в свежем фрукте; $C_i S$ = концентрация микроорганизмов в пропитывающем растворе; F = масса свежего образца; M = масса пропитанного в вакууме образца.

Добавление к цилиндрам яблока *Bifidobacterium* spp. "Bb12" (Christian Hansen Corp.) применением VI было исследовано Maguiña et al. (2002). Яблоко пропитывали изотоническим раствором сахарозы, содержащим $\sim 7.95 \log_{10}$ КОЕ/г микроорганизма при пяти различных уровнях вакуумного давления (101, 125, 225, 325 и 425 мм ртутного столба). Наносимый вакуум существенно влиял на величины X , как и на включение *Bifidobacterium* spp. Больше включение бифидобактерий достигалось при абсолютных давлениях 101 и 125 мм ртутного столба, которое соответствовало большим величинам объемной фракции, определенной экспериментально. Во всех случаях микроорганизм включался на уровне выше, чем 10^7 клеток/г. Концентрация *Bifidobacterium* spp. в конечном продукте также удовлетворительно предсказывалась моделью Roa, Taria и Millan. Поддержание жизнеспособности, стабильности и функциональности пробиотиков не только при обработке, но и в течение хранения необходимо для целебного действия этих микроорганизмов на потребителей (Mattila-Sandholm et al., 2002; Saarela et al., 2002). Оценка жизнеспособности *Bifidobacterium* spp. в кусочках яблока, хранящихся в анаэробии при 4 °С в течение 12 дней, выявило, что живые популяции снижались на \log через 6 дней и оставались на этом уровне до конца хранения. Образцы яблока, пропитанные при 325 и 425 мм ртутного столба и хранившиеся в течение 6 дней,

обнаруживали наивысшее вкусовое качество по цвету, запаху и вкусу, тогда как контрольные кусочки фруктов были менее приемлемыми. Визуализация микроорганизма в порах фрукта сканирующей электронной микроскопией (SEM) подтвердила введение пропитывающей жидкости в клеточные пространства ткани яблока (рис. 1а).

Сходные эксперименты были проведены Ortiz et al. (2002), которые применяли HDM, чтобы обогатить *Bifidobacterium* spp. гуаяву (*Psidium guajava* L., Dominica red var.) ($X = 13.5\%$; 400 мм ртутного столба; 5 мин). Пропитанные кусочки гуаявы содержали около 10^7 КОЕ/г. Количество *Bifidobacterium* spp. снижалось на 3 log цикла после 12 дней хранения при 5 °С, поскольку не применяли специальную анаэробную упаковку. Предполагают, что жизнеспособность длительна при надлежащей упаковке.

Обогащенное путем VI пробиотиком сушеное яблоко разработано Betoret et al. (2003). Цилиндры яблока пропитывали либо коммерческим яблочным соусом, содержащим *S. cerevisiae*, либо цельным молоком, либо яблочным соусом, содержащим 10^7 — 10^8 КОЕ/мл *Lactobacillus casei* (spp. *rhamnosus*). Пропитанные образцы содержали около 10^7 КОЕ/г каждого микроорганизма. Рис. 1b соответствует крио-SEM микроскопическому наблюдению паренхимной ткани яблока после пропитывающей обработки молоком, инокулированным *L. casei*. Ветвящиеся структуры, наблюдаемые в межклеточном пространстве, подтверждают, что газ замещается жидкостью пропитки. Обогащенные яблоки высушивали воздухом при 40 °С до содержания воды 0.037 кг воды/кг сухого вещества и хранили при комнатной температуре в течение двух месяцев. В конце хранения концентрация *L. casei* в высушенном продукте была выше, чем 10^6 КОЕ/г, будучи очень схожа с уровнями, обычно обнаруженными в коммерческих пробиотических молочных продуктах.

2.2. Минеральные вещества

Минеральная добавка становится очень популярным методом обогащения несбалансированных рационов. В частности, кальций и цинк являются необходимыми элементами для долгой жизни. Достаточное потребление кальция связано со сниженным риском остеопороза, повышенного давления, рака толстого кишечника, камней в почках и приводит к абсорбции. Средний мужчина в индустриальных странах получает большую часть кальция с молочными продуктами. Однако из-за предпочтений другой пищи, нежели молоко, многие потребляют недостаточно кальция (Weaver, 1998). Цинк необходим для нашей иммунной системы, для воспроизведения, роста, репарации ран, вкуса и обоняния, обеспечивая функционирование более чем 300 ферментов, участвующих в поддержании структурной целостности белков и регуляции экспрессии генов. Недавний анализ диеты и питательных потребностей привел исследователей к

оценке, что 48% населения мира имеют риск недостаточности цинка, несмотря на низкую величину его рекомендованной диетической нормы ($RDA_{Zn} = 2-14$ мг/день согласно группе сохранения жизни) (Institute of Medicine, 1998).

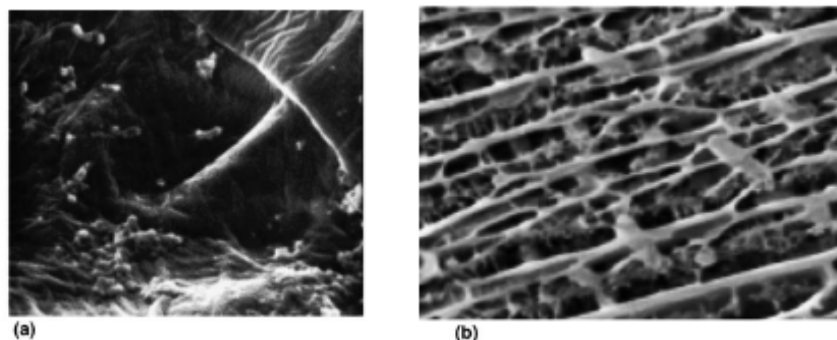


Рис. 1. (a) SEM микрофотография, демонстрирующая клетки *Bifidobacterium* spp. внутри межклеточных пространств паренхимной ткани яблока после вакуумного импульса 400 мм ртутного столба в течение 5 мин. (b) Крио-SEM микрофотография, демонстрирующая клетки *L. casei* внутри межклеточных пространств паренхимной ткани яблока, полного жидкости пропитки после вакуумного импульса 50 мбар в течение 10 мин (из Bertoret et al., 2003; Maguiña et al., 2002).

Способность пропитки кальцием паренхимной ткани яблока различными методами пропитки (AI или VI) и действие этих обработок на механические свойства исследовали Alzamora, Anino и Salvatori (2001), Anino, Salvatori и Alzamora (2003, глава 4) и Anino, Salvatori, Castro и Alzamora (2002). Цилиндры яблока (1.5 см в диаметре и 2 см длиной) погружали с усиленной конвекцией при комнатной температуре в изотонический водный раствор глюкозы, содержащий 5.24% (в/в) соли Ca^{2+} (5266 промилле Ca^{2+}). Смесь лактата Ca^{2+} и глюконата Ca^{2+} выбирали из-за их высокой растворимости и нейтрального вкуса, придаваемого пище. Для VI давление 30 мм ртутного столба применяли к системе в течение 10 мин, после этого восстанавливали атмосферное давление и поддерживали в течение 10 мин. Для AI образцы фруктов отбирали из раствора через различное время погружения (0, 2, 6, 10 и 22 ч). Поведение сжатия (характер кривой силы деформации, сила в точке разрыва и модуль деформативности) пропитанных кальцием яблок обнаруживало некоторые различия по сравнению со свежим фруктом: уменьшение величин силы разрыва (F_{rup}) (рис. 2) обычно происходило после периода деформации, как в эластичных материалах. Содержание Ca^{2+} значительно повышалось на протяжении обработки AI, достигая 1300 промилле в образцах, обработанных в течение 6 ч и 3100 промилле через 22 ч. Включение кальция в 200 г фрукта соответствовало бы 41-62% требуемого приема, AI_{Ca} (1000 мг/день) (Institute of Medicine, 1998). Структурные изменения яблок, обработанных кальцием, регистрировали световой микроскопией (LM) и

просвечивающей электронной микроскопией (ТЕМ). Включение кальция приводило к темно окрашенным клеточным стенкам с четко утолщенной средней пластинкой (рис. 3С-Н), но имела место слоистость клеточных стенок. Через 6 ч погружения цитоплазма выглядела отделенной от стенки и в некоторых клетках мембраны выглядели разрушенными с образованием пузырьков. После 22-часового погружения клеточные мембраны полностью разрушались. После 2-х-часового погружения кристаллы кальция наблюдались между клеточной стенкой и плазмалеммой, отделяя цитоплазму и отталкивая ее дальше в клетку. Потом кристаллизация, по-видимому, продолжалась также в других частях плазмалеммы и в цитоплазме. После 22-часового погружения кристаллы кальция были размещены во внутриклеточных пространствах вдоль стенок и в полости клеток.

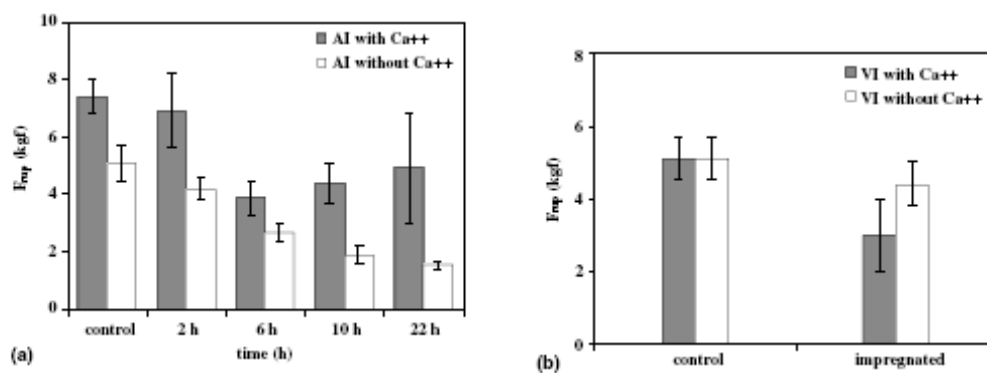


Рис. 2. Действие включения кальция на силу разрыва яблок, подвергнутых (а) пропитыванию при атмосферном давлении (AI), (b) вакуумной пропитке (VI).

Добавление кальция в различные гистологические ткани (баклажан, вешенку обыкновенную и морковь) путем VI проводили [Gras, Vidal-Brotons, Betoret, Chiralt и Fito \(2002\)](#). Эти авторы детально анализировали взаимодействие кальция и растительной ткани и модификацию реакций на механическое и вакуумное пропитывание. VI (37.5 мм ртутного столба в течение 10 мин и погружение при атмосферном давлении в течение 10 мин) проводили в изотоническом водном растворе сахарозы, содержащем лактат кальция. Небольшое влияние наличия Ca^{2+} на действие пропитки можно было наблюдать в образце пропитки и данных деформации. Кальций заметно влиял на реакцию уплотнения баклажана и моркови, но не влиял на вешенку обыкновенную. Баклажан ($X = 51-62\%$) и вешенка обыкновенная ($X = 41\%$), по-видимому, очень пригодны для получения обогащенных продуктов, применяя низкие концентрации PACs в пропитывающем растворе. Распределение кальция в тканях анализировали микроанализом в рентгеновских лучах. Включение кальция главным образом происходило в межклеточные пространства баклажана и вешенки обыкновенной и в ксилему моркови и в гораздо меньшей степени внутрь клеток баклажана. Это распределение не согласуется с результатами [Anino et al.](#)

(2002), ранее опубликованными. В дополнение к различиям в тканевой основе эта разница может быть отнесена к различным концентрациям кальция, анализируемым в каждом случае, поскольку Gras et al. (2002) работали с растворами с меньшими концентрациями кальция.

В другом исследовании VI применяли к цилиндрам (2.2 см в диаметре и 2 см высотой) дыни (*Cucumis melo* L.) для включения кальция и цинка (Tapia, Schulz, Gómez, López-Malo, & Welti-Chanes, 2003). Пропитку минеральными веществами оценивали, применяя различные сиропы сахарозы (8%, 29% и 50%), содержащие 1000 промилле кальция (как $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) and 375 промилле цинка (как $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), при различных давлениях вакуума (0, 25 и 50 см ртутного столба) и времени восстановления (3, 24 и 45 мин при атмосферном давлении), а также с различными отношениями фруктов и сиропа (в/в) (1:3 и 1:10) согласно планированию эксперимента Вох-Behnken, устанавливающему вакуумный импульс 10 мин. Максимальные средние концентрации кальция и цинка в дыне были 228 и 51 промилле соответственно при атмосферном давлении, тогда как уровни повышались до 322 и 62 промилле с предварительной VI. Благоприятное влияние на включение кальция было получено при повышении вакуумного давления и времени восстановления, тогда как в случае цинка общее время процесса, по-видимому, было главным, влияющим на его конечную концентрацию в дыне. Максимальные уровни обоих минеральных веществ составляют 2.2-2.9% AI_{Ca} и более, чем 100% RDA_{Zn} с порцией 100 г пропитанной дыни. Рис. 4 иллюстрирует соответствующие поверхностные реакции для пропитки кальцием, когда соотношение фрукта и сиропа было 1:3. Органолептическую оценку (9 очков гедонической шкалы, с цветом, запахом, вкусом, структурой и общим восприятием) проводили на пропитанных дынях с наибольшими концентрациями кальция и цинка, достигнутыми для каждой из трех анализируемых концентраций, и со свежей дыней. Все обогащенные дыни приняты лучше, чем свежий образец. VI в сиропах сахарозы, по-видимому, повышает сенсорные свойства дыни. Кинетика включения Ca^{2+} в матрикс яблока зависит от давления системы на протяжении пропитки и от структуры ткани. Рост концентрации кальция изучали для различных обработок: VI (давление 50 мм ртутного столба для выбранных периодов времени t_1 : 0, 5, 10, 15, 180 мин); AI в условиях внутреннего контроля, при котором образцы вынимали в разное время t_2 (0, 0.75, 1.5, 3, 4.5, 6, 7.5 ч); или AI с предварительной VI в течение 15 мин (González Fesler, Salvatori, Weisttaub, Portela, & Alzamora, 2002). Содержание Ca^{2+} значительно повышалось в процессе обработки при атмосферном давлении, достигая 835 промилле в образцах, обработанных в течение 3 ч и ~1300 промилле после 7.5 ч (рис. 5). Эти результаты указывают, что матрикс фрукта еще далек от достижения равновесия со средой пропитки.

Зарегистрированные величины соответствуют среднему между образцами из яблока 1 и яблока 2. Так или иначе, интересно отметить, что несмотря на наблюдаемые дисперсии в данных по концентрации тенденция обеих кривых на протяжении t_2 – практически та же, указывая на то, что варьирование между яблоками из одной и той же партии, применяемой в экспериментах, не важно, когда рассматривается пропитка кальцием. Согласно количеству кальция, включенному через 7.5 ч обработки при атмосферном давлении, количество, потребляемое в 200 г фрукта будет удовлетворять 26% AI_{Ca} , хотя через 3 ч оно достигает 17%. Обнаружено, что продолжительность времени в вакууме слабо влияет на содержание Ca^{2+} в течение коротких периодов времени (0-15 мин), как и после продолжительного периода времени (180 мин) (данные не представлены). Величины повышались с 7.4 промилле (концентрация Ca^{2+} свежего фрукта) до ~1000 промилле.



Рис. 3. Микрофотографии МЕТ ткани яблока Гренни Смит на протяжении времени погружения в изотонический раствор с кальцием (5.24% лактат-глюконат кальция). А, В: контроль; С, D: после 2-часового погружения; Е, F: после 6-часового погружения; G, H: после 22-часового погружения. Масштаб: А,С,D, F, G: 500 мкм; В, Е, H: 200 мкм (из Anino et al., 2002).

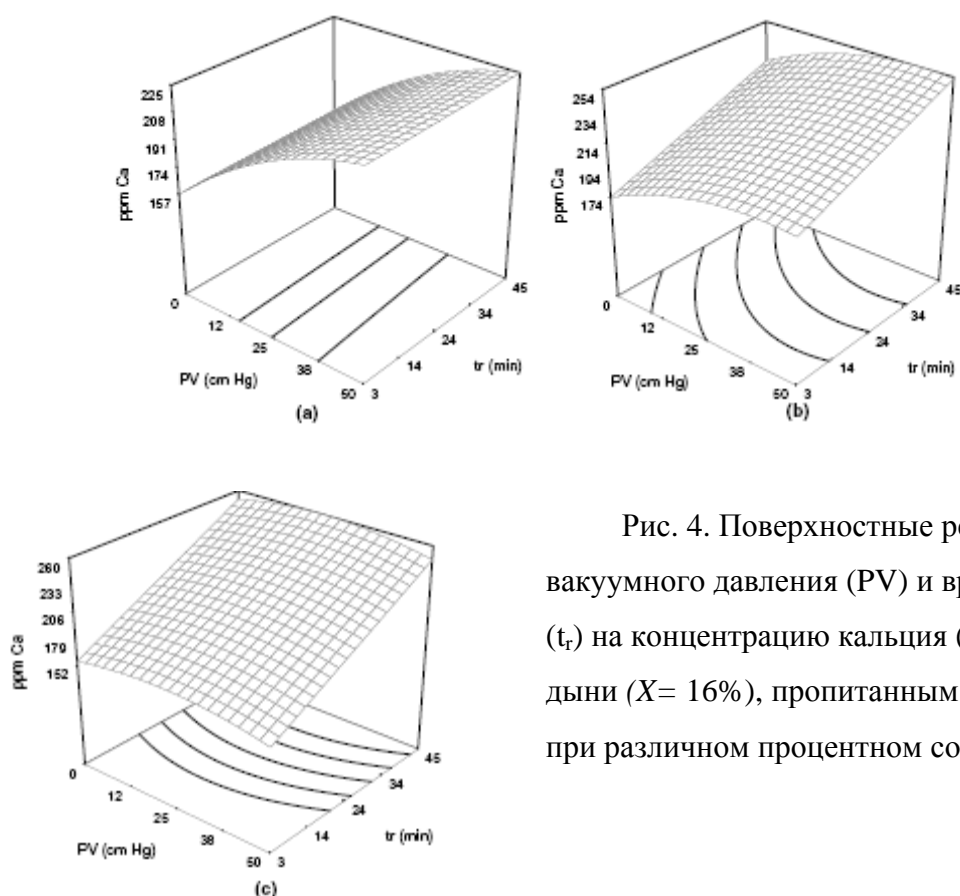


Рис. 4. Поверхностные реакции влияния вакуумного давления (PV) и времени релаксации (t_r) на концентрацию кальция (Ca) в цилиндрах дыни ($X= 16\%$), пропитанным кальцием и цинком при различном процентном содержании сахарозы

(в/в) в сиропе (а—8%; b—29%; c—50%) с соотношением фрукта и сиропа 1:3.

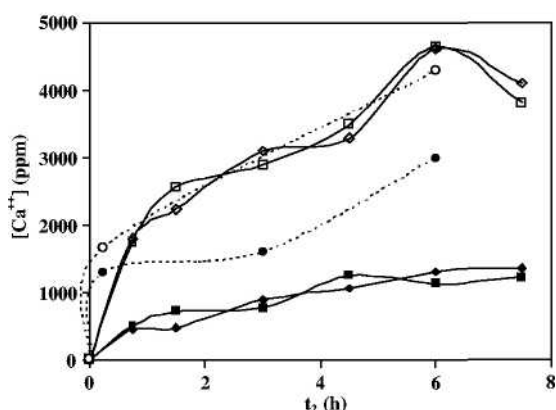


Рис. 5. Концентрация кальция (промилле) яблок, подвергнутых атмосферной пропитке (AI) на протяжении времени t_2 для различных величин времени в вакууме t_1 (0,15 мин). \blacklozenge : $t_1 = 0$ мин (яблоко 1), \blacksquare : $t_1 = 0$ мин (яблоко 2), \blacktriangle : $t_1 = 15$ мин, \diamond : $t_1 = 0$ мин (бланшированное яблоко 1), \square : $t_1 = 0$ мин (бланшированное яблоко 2), \circ : $t_1 = 15$ мин (бланшированное яблоко).

Бланширование фруктов часто вызывает глубокие структурные изменения (разбухание клеточных стенок, разрушение мембран и т.д.), которые влияют на транспорт массы, приводя к интенсивному потреблению раствора внутрь цитоплазмы клеток паренхимы. Фактически можно достичь более высокого содержания Ca^{2+} в образцах, предварительно бланшированных (2 мин влажным паром и охлаждение в воде) после 45 мин AI (~1800 промилле) (рис. 5). Затем Ca^{2+} продолжал расти со временем до концентраций 4000-4600 промилле (близко к положению равновесия) в конце процесса с меньшим варьированием между образцами яблока. Эти высокие величины концентрации Ca^{2+} составляют 80-92% AI_{Ca} . Однако бланширование только слегка улучшало включение минеральных веществ путем VI (данные не представлены). Как можно видеть на рис. 5, для AI мягкая температурная обработка не только модифицировала большую степень устойчивости матрикса яблока к потоку кальция, действуя на кинетику потребления Ca^{2+} , но и значительно повышала способность пропитки.

Поведение предварительно бланшированных грибов (*Agaricus bisporus*) при пропитке кальцием в вакууме частично отличалось от реакции ткани яблока. Обусловленное высокой долей пропитывающей жидкости ($X = 17-40\%$), рассчитанной из веса образца до и после каждой обработки, достигалось высокое конечное содержание Ca^{2+} в матриксе грибов (>2400 промилле Ca^{2+}) (Ortiz, Salvatori, & Alzamora, 2001; Ortiz, Salvatori, & Alzamora, 2003) (рис. 6). Когда грибы бланшировали в воде, наблюдалась значительная потеря в веса после стадии нагревания, означая, что природные жидкости выходили при высокотемпературной экспозиции. После охлаждения опять происходила потеря веса, сочетающаяся с притоком внешнего раствора капиллярными механизмами. Когда образцы подвергали VI, хотя были получены отрицательные величины X , значительное количество Ca^{2+} включалось благодаря НДМ. Эта концентрация Ca^{2+} -

результат обмена между внутренними жидкостями, захваченными в поры матрикса (природная жидкость или охлаждающий раствор) и внешними пропитывающими растворами. Несмотря на значительную потерю массы и деформацию образца, обусловленные нагреванием и последующей VI, Ca^{2+} включался в течение VI, а также на стадии охлаждения. Таким образом, бланширование в кипящей воде повышает способность пропитки ткани грибов повышением потери природной жидкости (Ortiz, Salvatori, & Alzamora, 2002).

Низкотемпературное бланширование, обычно применяемое для улучшения конечной стойкости некоторых приготавливаемых фруктов и овощей путем активации природной метил-эстеразы пектина, применялось также Pérez-López, Welti-Chanes, López-Malo, Palou, и Ibarz (2002), чтобы включить кальций в папайю. Они оценивали влияние температуры (45, 55 или 65 °C), концентрации хлорида кальция (0.2%, 0.6% или 1.0%) и времени обработки (20, 40 или 60 мин), следуя планированию эксперимента Вох-Бехнкен. Кусочки папайи погружали в предварительно нагретый раствор кальция, и затем фрукт охлаждали водой. На включение кальция и характеристики структуры папайи достоверно влияли ($p < 0.05$) независимые переменные, а также их взаимодействия. Рис. 7 показывает, как пример, влияние температуры и времени на включение Ca^{2+} и структуру папайи, когда концентрация пропитывающего раствора - 1.0% CaCl_2 . Проводили статистическое планирование, чтобы выбрать обработку, которое максимизирует включение кальция и сохранение структуры.

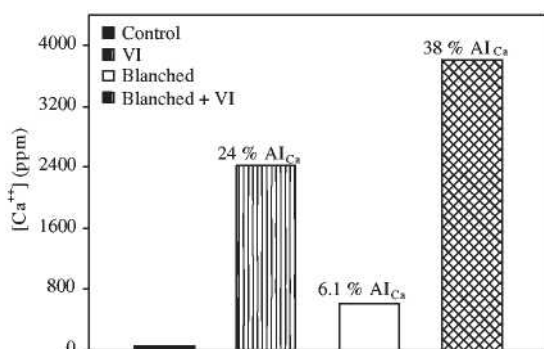


Рис. 6. Концентрация кальция (промилле) исходных (контроль) и пропитанных в вакууме (VI) грибов с предварительным бланшированием и без него в воде при 100 °C в течение 2 мин и охлаждением в пропитывающем растворе кальция.

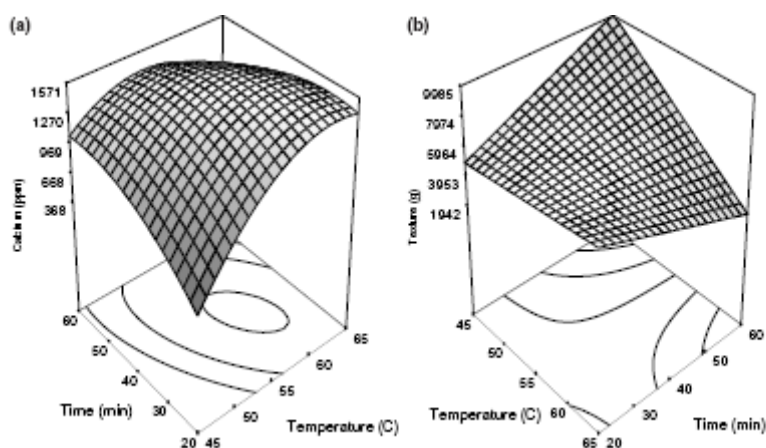


Рис. 7. Поверхностные реакции (а) концентрации кальция и (б) максимальной силы сжатия папайи в результате влияния низкотемпературного бланширования (средняя сила сжатия для сырой папайи: 1443 г).

Вклад кальция пищи зависит как от содержания кальция в порции, так и от биодоступности кальция. Биодоступность состоит из абсорбции, транспорта и усвоения питательного вещества. В случае кальция абсорбция указывает на биодоступность, поскольку абсорбируемые ионы доступны для процессов организма, а кальций, хранящийся в костях, функционально используется (Weaver, 1998). Многие факторы влияют на абсорбцию кальция, среди других – пищевая нагрузка, растворимость соли кальция и наличие ингибиторов (таких как щавелевая и фитиновая кислоты). Последние несколько лет для измерения абсорбции кальция у людей предложены различные методы. Однако у них есть методологические трудности. Поэтому определение абсорбции у растущих крыс принято как альтернативный метод, чтобы изучить влияние диетических факторов на абсорбцию кальция (Greger, 1992). Gonza'lez Fesler, Salvatori, Weisttaub, Portela, Alzamora (2003) изучали у крыс относительную абсорбцию кальция, включенного в матрикс яблока, беря карбонат кальция как вещество сравнения. AI кальция проводили погружением цилиндров яблока в перемешивающийся изотонический водный раствор, содержащий 5.24% (в/в) солей Ca^{2+} (лактат + глюконат). Были выбраны следующие экспериментальные условия: 1.5 ч при AI; 1.5 ч при AI с предварительным бланшированием (2 мин в насыщенном паре и охлаждение 5 мин в воде) и 6 ч при AI с предварительным бланшированием. Кажущиеся величины абсорбции в отношении карбоната кальция были 80.2%, 74.2% и 86.8% соответственно, указывая на то, что матрикс яблока, пропитанный лактатом/глюконатом Ca^{2+} , был средством доставки легко абсорбируемого кальция. Также результаты будут означать тенденцию к высокой абсорбции кальция, когда основу пропитывали долгое время с предварительным бланшированием.

3. Заключение

Разработка и потребление функциональных пищевых продуктов или пищи, которая улучшает здоровье помимо обеспечения основного питания, находятся на подъеме. VI и/или AI, по-видимому, являются подходящими технологиями для обработки тканей фруктов и овощей как новых основ, в которые функциональные ингредиенты могут быть успешно включены, обеспечивая новые категории функциональных продуктов и новые коммерческие возможности. Поведение при пропитывании основ овощей и фруктов высоко специфично, и приготовление и хранение этих функциональных продуктов может глубоко влиять на здоровье. Основы овощей и фруктов будут безусловно важными областями исследования и разработок для будущего рынка функциональной пищи. Знания оценки действия этих основ в организме – также очень хорошая цель.

References

- Aguilera, J. M., & Stanley, D. W. (1991). *Microstructural principles of food engineering & processing*. New York: Elsevier Applied Science.
- Alzamora, S. M., Anino, S., & Salvatori, D. M. (2001). Impregnation techniques for the incorporation of calcium to apple matrix. In *2001 IFT annual meeting*. New Orleans, USA: Institute of Food Technologists.
- Alzamora, S. M., Tapia, M. S., Leu´nda, A., Guerrero, S. N., Rojas, A. M., Gerschenson, L. N., & Parada-Arias, E. (2000). Relevant results on minimal preservation of fruits in the context of the multinational project XI.3 of CYTED, an Ibero-American R&D cooperative program. In J. Lozano, M. C. An˜o´n, & G. Barbosa C´anovas (Eds.), *Trends in food engineering*. Gathersburg, MD: Aspen Publishers.
- Anino, S., Salvatori, D., & Alzamora, S. M. (2003). Apple matrix with calcium incorporated by impregnation processes. In P. Fito, A. Mulet, A. Chiralt, & A. Andre´s (Eds.), *Ingenier´a de alimentos: Nuevas fronteras en el siglo XXI. Proceedings del III congreso Iberoamericano de ingenier´a de alimentos (CIBIA 2001)* (Vol. 4). Valencia, Espa˜a: Servicio de Publicaciones de la Universidad Polite´cnica de Valencia.
- Anino, S., Salvatori, D. M., Castro, M. A., & Alzamora, S. M. (2002). Cambios estructurales en tejido de manzana fortificado con calcio. In *IX congreso argentino de ciencia y tecnolog´a de alimentos*. Buenos Aires, Argentina: Asociaci´on Argentina de Tecn´ologos Alimentarios.
- Ben-Arie, R., Kislev, N., & Frenkel, C (1979). Ultrastructural changes in the cell walls of ripening apple and pear fruit. *Plant Physiology*, *64*, 197-202.
- Betoret, N., Puente, L., D´iaz, M. J., Pagan, M. J., Garc´ia, M. J., Gras, M. L., Mart´inez-Monzo´, J., & Fito, P. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum

impregnation. *Journal of Food Engineering*, 56, 273-277.

Brett, C. T., & Waldron, K. W. (1996). *Physiology and biochemistry of plant cell walls*. Cambridge: Chapman and Hall.

Carpita, N. C., Sabulase, D., Montezinos, D., & Delmer, D. P. (1979). Determination of pore size of cell walls of living plant cells. *Science*, 205, 1144-1147.

Diplock, A. T., Aggett, P. J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, F. B., & Roberfroid, M. B. (1999). Scientific concepts of functional food in Europe: Consensus document. *British Journal of Nutrition*, 81(Suppl. 1), S1-S28.

Fito, P. (1994). Modelling of vacuum osmotic dehydration of foods. *Journal of Food Engineering*, 23, 313-328.

Fito, P., Andrés, A., Chiralt, A., & Pardo, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of Food Engineering*, 27, 229-240.

Gibson, G. R., & Williams, C. M. (2000). *Functional foods. Concept to product* (pp. 1-27). Cornwall: Woodhead Publishing Limited.

González Fesler, M., Salvatori, D. M., Weisttaub, A., Portela, M. L., & Alzamora, S. M. (2002). Calcium impregnation kinetics of apple matrix. In *2002 IFT annual meeting*. Anaheim, CA: Institute of Food Technologists.

González Fesler, M., Salvatori, D. M., Weisttaub, A., Portela, M. L., & Alzamora, S. M. (2003). Personal communication.

Gras, M., Vidal-Brotons, D., Betoret, N., Chiralt, A., & Fito, P. (2002). The response of some vegetables to vacuum impregnation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3, 263-269.

Greger, J. L. (1992). Using animals to assess bioavailability of minerals: Implications for human nutrition. *Journal of Nutrition*, 122, 2047-2052.

Institute of Medicine (1998). *Dietary references intake (DRI) for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride* (p. 432). Food and Nutrition Board, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes. Washington, DC: National Academic Press.

Lapsley, K. G., Escher, F. E., & Hoehn, E. (1992). The cellular structure of selected apple varieties. *Food Structure*, 11, 339-349.

Maguiña, G., Tapia, M. S., Bricenño, A. G., Rodríguez, C., Sánchez, D., Roa, V., & López-Malo, A. (2002). Incorporación of *Bifidobacterium* spp. en una matriz porosa de fruta por el mecanismo hidrodinámico (PF-08). In *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos* (pp. 1-4). Lleida, España: Universitat de Lleida.

Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondevón, R., & Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, *12*, 173-182.

Mujica-Paz, H., Hernández-Fuentes, M. A., López-Malo, A., Palou, E., Valdez-Fragoso, A., & Welti-Chanes, J. (2002). Incorporation of minerals to apple slabs through vacuum impregnation and osmotic dehydration (306-22). In *2002 IFT annual meeting book of abstracts* (p. 74), Anaheim, CA.

Mujica-Paz, H., Valdéz-Fragoso, A., López-Malo, A., Palou, E., & Welti-Chanes, J. (2003). Impregnation properties of some fruits at vacuum pressure. *Journal of Food Engineering*, *56*, 307-314.

Ortiz, C., Salvatori, D. M., & Alzamora, S. M. (2001). Mushroom tissue as matrix for calcium incorporation by vacuum impregnation. In *Proceedings of EMPROMER Vol. III—3rd Mercosur congress on process systems engineering—1st Mercosur congress on chemical engineering*, Santa Fe, Argentina (pp. 1639-1644).

Ortiz, C., Salvatori, D. M., & Alzamora, S. M. (2002). Combined blanching and vacuum impregnation for enhancing calcium fortification in mushroom tissue. In *2002 IFT annual meeting*. Anaheim, CA: Institute of Food Technologists.

Ortiz, C., Salvatori, D., & Alzamora, S. M. (2003). Fortification of mushroom with calcium by vacuum impregnation. *Latin American Applied Research*, *33*, 191-197.

Ortiz, E., Sánchez, D., Rodríguez, C., Tapia, M., Medina, V., & Sánchez, C. (2002). Incorporación de *Bifidobacterium* sp. en guayaba (*Psidium guajava* L.) mediante impregnación a vacío. In *Libro de resúmenes del III congreso venezolano de ciencia y tecnología de alimentos y II congreso panamericano de calidad sanitaria de los alimentos*, Caracas, Venezuela (p. 37).

Pérez-López, I., Welti-Chanes, J., López-Malo, A., Palou, E., & Ibarz, A. (2002). Calcium incorporation in papaya by low temperature blanching. In *2002 IFT Annual Meeting Book of Abstracts* (306-22), Anaheim, CA (p. 74).

Rastall, R. A., Fuller, R., Gaskins, H. R., & Gibson, G. R. (2000). Colonic functional foods. In G. R. Gibson & C. M. Williams (Eds.), *Functional foods*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.

Roa, V., Tapia, M. S., & Millán, F. (2001). Mass balances in porous foods impregnation. *Journal of Food Science*, *66*, 1332-1336.

Rodríguez, M. I. (1998). *Estudio de la penetración de microorganismos en frutas mediante el modelo Hidrodinámico (HDM)*. Thesis. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Central de Venezuela.

Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., & Mattila-Sandholm, T. (2002). Gut bacteria and health foods—the European perspective. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 99-117.

Sloan, E. (2002). The top 10 functional food trends. The next generation. *Food Technology*, 56(4), 32-57.

Tapia, M. S., Schulz, E., Gómez, V., López-Malo, A., & Welte-Chanes, J. (2003). A new approach to vacuum impregnation and functional foods: Melon impregnated with calcium and zinc. In *2003 IFT annual meeting technical program abstracts (60D-2)*, Chicago, USA.

Weaver, C. (1998). Calcium in food fortification strategies. *International Dairy Journal*, 8, 443–449.