

# ctc

Septiembre 2007 / Nº 33

## alimentación

CENTRO TECNOLÓGICO NACIONAL DE LA CONSERVA Y ALIMENTACIÓN

### Agrocsic

■ Ingredientes dietéticos  
procedentes de la uva:  
evaluación química  
y funcional



**Entrevista:**

**Catherine Geslain-Lanéelle**

Directora Ejecutiva de la Autoridad  
Europea de Seguridad Alimentaria EFSA

**3** SYMPOSIUM  
INTERNACIONAL  
SOBRE TECNOLOGÍA  
ALIMENTARIA



### uniagro:

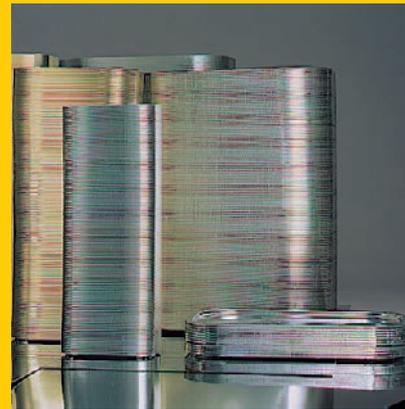
■ Estudio a escala planta piloto de una nueva tecnología para el tratamiento de aguas residuales

■ Utilización de una técnica por PCR para la detección específica de leche de vaca en leche de búfala y queso mozzarella de búfala

**29/30**  
OCTUBRE - 07



ALGUNOS LO TIENEN  
DIFÍCIL PARA HACER UN  
BUEN ABREFÁCIL



*Las cosas más  
sencillas de  
manejar esconden  
siempre un  
complejo proceso  
de trabajo.*



*En Auxiliar Conservera el diseño, la tecnología y el control de calidad se dan la mano para conseguir el sistema de apertura de envases más cómodo, seguro y práctico del mercado.*



SI USTED  
TIENE UN  
PRODUCTO,  
NOSOTROS  
PODEMOS  
ENVASARLO.



AUXILIAR CONSERVERA, S.A.



Murcia • Ctra. Torrealta, s.n. • telf.: 968 64 47 88 • Fax: 968 61 06 86 • 30500 Molina de Segura (Murcia - España)  
Sevilla • Ctra. comarcal 432, km. 147 • telf.: 95 594 35 94 • fax: 95 594 35 93 • 41510 Mairena del Alcor (Sevilla - España)

# III Symposium Internacional

LUIS DUSSAC MORENO. SECRETARIO GENERAL CTC



**E**l Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación y el Instituto de Fomento de la Región de Murcia, en colaboración con un Comité Técnico integrado por tecnólogos de industrias del sector, han organizado el tercer Symposium Internacional sobre Tecnologías Alimentarias que mostrará innovaciones que podrán ser incorporadas a sus procesos como a los productos finales que llegan al consumidor.

Entre los días 29 y 30 del próximo mes de octubre y bajo el lema "Ideas y Soluciones", el Auditorio y Centro de Congresos de Murcia acogerá a un número importante de tecnólogos y empresarios, con el fin de poner en común los conocimientos más avanzados del sector agroalimentario en materia de seguridad y avances técnicos. Los tres grandes temas a tratar en el Symposium son la utilización de sensores en la industria alimentaria, nuevas aplicaciones tecnológicas de los infrarrojos y fluidos supercríticos y la valorización de subproductos. Sin duda, las conclusiones de este Symposium Internacional repercutirán en los procesos de fabricación,

al introducir nuevas tecnologías que beneficiarán al sector agroalimentario regional en particular y al nacional en general.

Paralelamente a estas sesiones de innovación y avances en materia de seguridad alimentaria, el Centro de Enlace del Mediterráneo Español, en colaboración con el CTC, ha organizado unas jornadas de Transferencia Tecnológica dirigida a empresas que desean establecer contactos con potenciales socios tecnológicos. Los asistentes a esta jornada serán empresas agroalimentarias de toda Europa con interés en tecnologías novedosas que formularán sus propuestas de cooperación mediante perfiles de oferta o demanda tecnológica.

El Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación manifiesta con la realización de este tipo de acciones su firme apuesta por la innovación y la transferencia tecnológica en el sector agroalimentario y agradece la colaboración de Pedro Abellán, Manuel Chico, Diego Mellado, Manuel Ángel Palazón, Francisco Puerta, Antonio Sáez y Francisco Serrano, todos ellos miembros del Comité Técnico de este Symposium.



HERRAMIENTA DE DIFUSIÓN  
DEL PROYECTO:



## C R É D I T O S

**CTC ALIMENTACIÓN**  
REVISTA SOBRE AGROALIMENTACIÓN  
E INDUSTRIAS AFINES

**Nº 33**

PERIODICIDAD TRIMESTRAL  
FECHA DE EDICIÓN **SEPTIEMBRE 2007**

**EDITA**

Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación  
Molina de Segura - Murcia - España  
tel. 968 38 90 11 / fax 968 61 34 01  
www.ctnc.es

**DIRECTOR**

LUIS DUSSAC MORENO  
ctcluis@ctnc.es

**COORDINACIÓN: OTRI CTC**

ÁNGEL MARTÍNEZ SANMARTÍN  
ctcangel@ctnc.es

MARIAN PEDRERO TORRES  
ctcdoc@ctnc.es

**PERIODISTA**

JOSÉ IGNACIO BORGONÓNS MARTÍNEZ

**CONSEJO EDITORIAL**

PRESIDENTE: JOSÉ GARCÍA GÓMEZ  
PEDRO ABELLÁN BALLESTA  
JUAN ANTONIO AROCA BERMEJO  
FRANCISCO ARTÉS CALERO  
LUIS MIGUEL AYUSO GARCÍA  
ALBERTO BARBA NAVARRO  
JAVIER CEGARRA PÁEZ  
JOSÉ ANTONIO GABALDÓN HERNÁNDEZ  
MANUEL HERNÁNDEZ CÓRDOBA  
FRANCISCO PUERTA PUERTA  
FRANCISCO SERRANO SÁNCHEZ  
FRANCISCO TOMÁS BARBERÁN

**EDICIÓN, SUSCRIPCIÓN Y PUBLICIDAD**

FRANCISCO GÁLVEZ CARAVACA  
ctcfgalvez@ctnc.es  
I.S.S.N. 1577-5917

**DEPÓSITO LEGAL**  
MU-595-2001

**PRODUCCIÓN TÉCNICA**  
S.G. FORMATO, S.A.

El Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación no se hace responsable de los contenidos vertidos en los artículos de esta revista.



## Contenidos

### EDITORIAL

#### **3 III Simposium Internacional**

Luis Dussac Moreno. Secretario General CTC

### ENTREVISTA

#### **7 Catherine Geslain-Lanéelle**

Directora Ejecutiva de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA)

### UNIAGRO

#### **9 Utilización de una técnica de PCR para la detección específica de leche de vaca en leche de búfala y queso mozzarella de búfala**

Inés López-Calleja, Isabel González\*, Violeta Fajardo, Irene Martín, María Rojas, Pablo Hernández, Teresa García y Rosario Martín

\* Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad Complutense de Madrid

16



31



37

ARTÍCULO

**16** El Ministerio de Industria aprueba el proyecto para una alianza estratégica liderada por el CTC

AGROCSIC

**17** Ingredientes dietéticos procedentes de la uva: evaluación química y funcional

Monagas, M.; Bartolomé, B.; Gómez-Cordovés, C  
Instituto de fermentaciones industriales (CSIC).

ARTÍCULO

**31** La importancia de un correcto pretratamiento en un sistema de ósmos inversa - 1.ª parte

UNIAGRO

**37** Estudio a escala planta piloto de una nueva tecnología para el tratamiento de aguas residuales

Mercedes Lloréns, Ana Belén Pérez-Marín, M.ª Isabel Aguilar, Juan F. Ortuño, José Sáez y Víctor F. Meseguer.  
Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química. Universidad de Murcia

NUESTRAS EMPRESAS

**43** Eurocaviar, S.A.

NOTICAS BREVES

**46** Instituto de estudios avanzados de la OTAN

TECNOLOGÍA

**48** Ofertas y demandas de tecnología

RESEÑAS

**51** Referencias bibliográficas

**52** Referencias legislativas

NORMAS UNE

**54** Actualización normas UNE:  
Sector agroalimentario



22



# crear

# innovar



# crecer

## PROGRAMA DE FINANCIACIÓN PARA PYMES. **ICO · INFO**

### HECHOS. **NO PALABRAS**

El Instituto de Crédito Oficial y el Instituto de Fomento han suscrito un Convenio con el objeto de **ayudar a las empresas de la Región de Murcia, especialmente a las PYMES y emprendedores.** Un programa donde proyectos de creación, ampliación e innovación no queden en simples palabras y se conviertan realmente en hechos.



Región de Murcia  
Consejería de Economía,  
Industria e Innovación



Instituto de Crédito Oficial



Unión Europea  
Fondo Europeo  
de Desarrollo Regional

**Información:**

Instituto de Fomento de la Región de Murcia  
968 36 28 39  
ifrm-murcia.es

Consejería de Economía, Industria e Innovación  
Oficina Sectorial de Atención al Ciudadano  
968 36 60 98  
carm.es/ctic

# Catherine Geslain-Lanéelle

Directora Ejecutiva de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria EFSA

*¿Cuáles son los objetivos y áreas de trabajo de la EFSA? Después de cinco años de la fundación de la EFSA, ¿cuáles son sus principales logros y retos futuros?*

La EFSA ha emitido hasta la fecha alrededor de 485 opiniones científicas sobre temas tan diversos como la BSE/TSE, aditivos alimentarios, pesticidas y gripe aviar. En 2007 nuestras actividades se han ampliado a otras áreas tales como la nanotecnología y la clonación animal.

La EFSA forma parte del sistema Europeo de seguridad alimentaria y su principal misión es la valoración de riesgos de seguridad alimentaria tanto humana como animal. Nuestra labor es informar a los responsables de tomar decisiones sobre seguridad alimentaria con el fin último de proteger a los consumidores. Entre nuestras áreas de interés se encuentran la nutrición, salud y bienestar animal, protección vegetal y salud vegetal. La EFSA cuenta con las aportaciones de los mejores científicos de Europa y desarrolla su trabajo en colaboración con los Estados Miembros de la Unión Europea. Compartir el conocimiento científico es de la máxima importancia para la Autoridad Europea.

La comunicación de riesgos es también una parte vital de la misión de la EFSA, que debe asegurarse de que todas las partes interesadas y el público en general reciben información objetiva, significativa, exacta y en el momento oportuno, basada en la valoración de riesgos y en la experiencia científica de nuestros Paneles de expertos. Comunicar nuestras propias iniciativas y asegurar la cooperación y coherencia entre los Estados Miembros son temas cruciales para mantener la confianza del consumidor en el proceso de valoración de riesgos. El creciente compromiso de los Estados Miembros en las actividades de la EFSA ayuda a reforzar la excelencia científica en la valoración de los riesgos derivados de la seguridad alimentaria en Europa.



El principal objetivo de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria es convertirse en un organismo de referencia en todo lo relacionado con la seguridad alimentaria humana y animal tanto en Europa como en el resto del mundo.

*El CTC es una asociación de unas 200 empresas agroalimentarias Españolas aunque cada año presta servicios a más de 500 empresas, PYMES en su mayoría. Estas empresas tienen que hacer frente día a día a riesgos como Salmonella, Legionella (en torres de refrigeración), OGMs, micotoxinas, alérgenos, parásitos, etc., etc. ¿Cómo se relaciona la EFSA con las industrias agroalimentarias? ¿Es posible que los tecnólogos de alimentos Españoles formen parte de alguno de los nueve paneles científicos de la EFSA o que se les informe de sus decisiones?*

La EFSA es una organización comprometida con la veracidad, la transparencia

y el diálogo. Una de las formas en las que demuestra este compromiso es a través de sus actividades con distintas organizaciones europeas que van desde la industria alimentaria hasta grupos de consumidores. El diálogo de la EFSA con estas organizaciones se facilita en foros específicos tales como la Plataforma Consultiva que se reúne dos veces al año y un Coloquio anual. Estas plataformas ofrecen la oportunidad de debatir de una forma abierta temas de política alimentaria así como de discutir distintos puntos de vista.

El trabajo científico de la EFSA lo desarrolla el Comité Científico y los Paneles Científicos de EFSA con el apoyo del Departamento Científico de la EFSA. Los paneles están integrados por científicos independientes de reconocido prestigio de los Estados Miembros, que son designados para un periodo de tres años a través de una convocatoria pública de expresiones de interés. Los Paneles crean Grupos de Trabajo cuando es necesaria una asistencia adicional en áreas de competencia específicas.

*3. Aunque a veces los fraudes no puedan ser considerados riesgos alimentarios, el departamento de Seguridad Alimentaria del CTC está trabajando también en caracterización de especies, origen de especies etc. ¿Trabaja la EFSA con este tipo de fraudes?*

La EFSA no trata de una forma directa temas como los fraudes. Esta área la tratan los gestores de riesgos. No obstante, a veces, se nos ha pedido manifestar opiniones en temas como la contaminación.

En 2006, por ejemplo, el Panel de OGMs de la EFSA emitió un dictamen científico en respuesta al requerimiento de la Comisión Europea LLRICE601 sobre la presencia inadvertida de arroz modificado genéticamente.

Este año también ha pedido la Comisión Europea que la EFSA emita un dictamen científico sobre los riesgos para la salud humana y animal ocasionados por la presencia de melamina y compuestos de estructura relacionada (tales como ácido cyanurico, ammelina y ammelida) en compuestos ricos en proteínas utilizados para alimentos y para piensos. Esta solicitud fue provocada por los casos de enfermedad y muerte de gatos y perros en los Estados Unidos provocados por melamina, un producto químico industrial, que era añadido al gluten de trigo y a la proteína de arroz importados de China.

*La opinión pública es también un factor muy importante. El CTC está trabajando en la comunicación a la sociedad de temas relacionados con la investigación alimentaria. ¿Cuál es su opinión sobre actividades como la participación en las Semanas de Ciencia y Tecnología, revistas tecnológicas, libros y juegos para niños, etc.?*

Las comunicaciones es una de las responsabilidades básicas de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Con el fin de desarrollar una eficiente comunicación con el público, la EFSA se esfuerza en traducir las evidencias científicas en mensajes accesibles y con sentido, tratando las diferentes necesidades de los distintos segmentos de población. Para ello la EFSA trabaja con las autoridades nacionales y con organizaciones en estrecho contacto con consumidores en diferentes países, quienes saben como lanzar mensajes sobre complejos temas científicos para abordar preocupaciones a nivel nacional.

*Muchas de nuestras empresas están ahora haciendo frente a un nuevo reto: la pro-*

*ducción de alimentos funcionales. ¿Qué piensa sobre la creciente demanda de este tipo de alimentos?*

Básicamente es la responsabilidad de las empresas desarrollar, producir y distribuir nuevos alimentos funcionales. Hasta ahora, este tipo de productos no están regulados como tal en la Unión Europea (UE). Mientras que la legislación y control son competencia de las autoridades nacionales de los distintos Estados Miembro y de la Comisión Europea, la EFSA es el organismo de valoración de riesgos de la UE. Por tanto, en lo que respecta a alimentos funcionales, la EFSA tendría competencias cuando la seguridad esté comprometida o cuando un producto entra dentro de la legislación existente para la cual la EFSA tiene competencias como, por ejemplo, los Novel Foods. Si este fuese el caso, la EFSA daría asesoramiento científico a la Comisión Europea y a los Estados Miembro.

*La Plataforma Tecnológica Europea Food for Life dice que “dietas saludables, cambio de los hábitos alimenticios y un aumento de la actividad física, son las claves que influirán en el binomio envejecimiento y enfermedad”. ¿Cree que la industria alimentaria competirá con el sector farmacéutico a medio plazo?*

Aunque la valoración de la seguridad alimentaria es la base del trabajo de la EFSA, en el futuro la nutrición jugará un papel bastante más importante. Actualmente se está desarrollando una estrategia de nutrición que refleja la mayor competencia de la Autoridad en esta área y su contribución a problemas de salud pública relacionados con la dieta tales como la prevención de la obesidad y las enfermedades crónicas.

Como organismo de referencia en Europa, la EFSA ayuda a los políticos a nivel nacional y europeo en el desarrollo de políticas y establecimiento de objetivos de salud pública relacionados con la dieta. La EFSA hace una importante contribución a la actividad de la Comunidad en el área de la nutrición, asegurando que es apoyada por el más actualizado y experto consejo científico. Con este fin la EFSA continuará participando activamente con Plataformas como la de Dieta, Actividad Física y Salud, de la que la EFSA es un observador desde que la plataforma comenzó sus actividades en la primavera de 2005, o la Food For Life de la cual nuestro Vice Director Ejecutivo y Director de Ciencia, Dr. Herman Koeter, es miembro del Consejo de Dirección.

*¿Como se coordina la EFSA con las agencias de seguridad alimentaria nacionales?*

La EFSA trabaja en estrecho contacto con una red de autoridades nacionales de seguridad alimentaria de todos los Estados Miembro así como de otros países Europeos, quienes asesoran a los gobiernos nacionales. Las actividades a nivel nacional y europeo están coordinadas a través del Forum Asesor de EFSA bajo unas premisas de estrecha cooperación. Esta estructura nos permite trabajar juntos para intercambiar información y datos científicos, coordinar programas de trabajo, optimizar recursos y cooperar en proyectos conjuntos. Fortalecer esta cooperación ha sido la máxima prioridad de la EFSA. Esto nos ayuda a estimular nuestra capacidad para apoyar a los gestores de riesgos a través del desarrollo de estrategias coordinadas de gestión de riesgos evitando la duplicidad de esfuerzos y asegurando comunicaciones efectivas en la Unión Europea.



**CTC**  
Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación

**ECA**

**El CTC en su calidad de ECA –empresa colaboradora con la administración en materia ambiental–, realiza las siguientes actividades:**

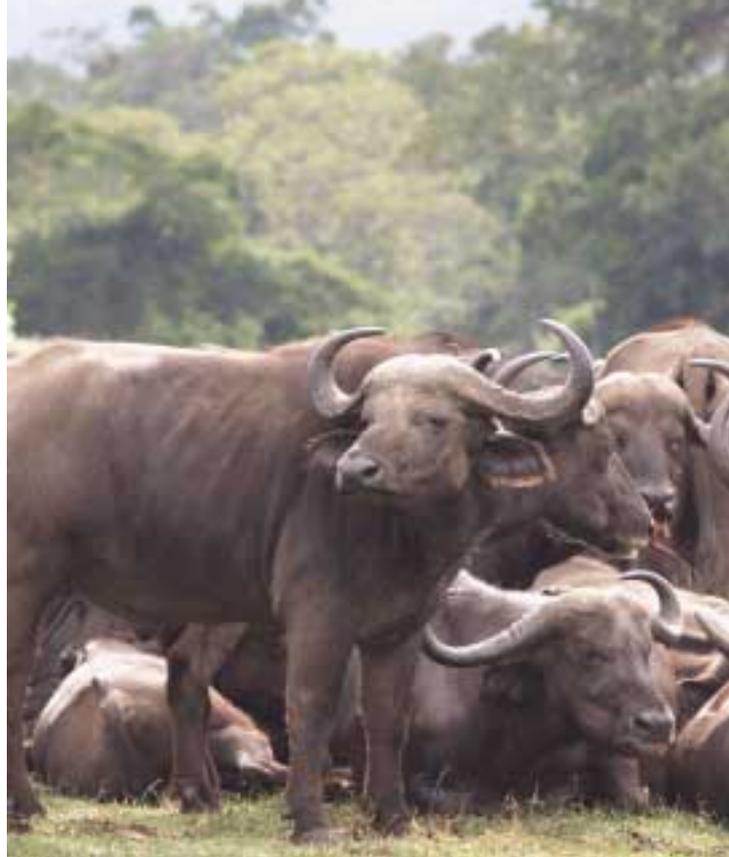
- Toma de muestras y análisis de aguas residuales y residuos sólidos.
- Realización de certificados ECA en materia ambiental.
- Realización de informes ambientales.
- Auditorías y diagnósticos ambientales.
- Asesoría en Legislación.
- Desarrollo de estudios y planes de adecuación ambiental.
- Declaraciones anuales de medioambiente.
- Certificaciones ambientales trianuales.

# Utilización de una técnica de PCR para la detección específica de leche de vaca en leche de búfala y queso mozzarella de búfala

INÉS LÓPEZ-CALLEJA, ISABEL GONZÁLEZ\*, VIOLETA FAJARDO, IRENE MARTÍN, MARÍA ROJAS, PABLO HERNÁNDEZ, TERESA GARCÍA Y ROSARIO MARTÍN  
\* DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN, BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID



*En este trabajo se ha utilizado una técnica de PCR para la detección cualitativa y específica de vaca en leche de búfala y en queso Mozzarella de búfala. Para ello, se utilizó un cebador directo diseñado en una región del gen mitocondrial 12S ARN ribosómico (ARNr) común a varias especies de mamíferos, y un cebador inverso que hibrida específicamente en la secuencia de vaca. El análisis de mezclas binarias elaboradas con leche de búfala o queso Mozzarella de búfala que contenían, respectivamente, diferentes porcentajes de leche de vaca o queso Mozzarella de vaca, permitió la identificación específica de vaca con un límite de detección del 0,1%.*



**G**arantizar la autenticidad de una materia prima o de un producto transformado es una exigencia derivada de las normas de etiquetado y resulta esencial a la hora de implantar sistemas de trazabilidad en la cadena alimentaria. Uno de los problemas que afecta a la industria láctea consiste en la identificación, en la leche y en los quesos, de leche procedente de especies animales distintas de las que se indican en el etiquetado del producto. El queso *Mozzarella* es un producto típico italiano originariamente elaborado con leche de búfala (*Bubalus bubalis*). No obstante, actualmente en Italia y en otros países se están elaborando productos similares empleando materias primas más baratas, como la leche de vaca. Por ello, disponer de técnicas analíticas que identifiquen el origen de la leche con la que se ha elaborado un producto lácteo es esencial, particularmente en la *Mozzarella di Bufala Campana*, denominación de origen reservada para los quesos elaborados únicamente con leche de búfala en una zona geográfica de Italia (Rea y col., 2001). Asimismo, los quesos *Mozzarella* sin denominación de origen pueden también elaborarse con leche de vaca o con mezclas de leche de vaca y de búfala, siendo necesario en estos casos indicar en la etiqueta del producto la especie o especies que los componen.

Las técnicas utilizadas para la identificación de especies animales en productos lácteos se clasifican en dos grandes grupos: aquéllas basadas en el análisis de proteínas y las que se centran en el análisis del ADN o técnicas genéticas (Ramos y

Juárez, 1986; Borková y Snáselová, 2005; De la Fuente y Juárez, 2005). Dentro de las primeras, las técnicas electroforéticas y cromatográficas generan perfiles complejos y bastante similares para las distintas especies animales, hecho que dificulta la correcta identificación de la especie diana. Además, las técnicas basadas en el análisis de proteínas que se desnaturalizan por el calor pueden resultar inadecuadas para la identificación de especies en productos sometidos a tratamiento térmico (Stefos y col., 2004). Por el contrario, la estabilidad del ADN y la cantidad de información que contiene, confieren a esta molécula una gran especificidad para la diferenciación de especies (Asensio y col., 2001; Calvo y col., 2001; Rodríguez y col., 2004; Sezaki y col., 2005). Los métodos genéticos más utilizados para la identificación de especies en los alimentos incluyen la amplificación de fragmentos de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), bien de forma independiente (Di Pinto y col., 2004) o combinada con otras técnicas complementarias como la secuenciación (Girish y col., 2004) o el análisis del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP) (Fajardo y col., 2006), entre otras.

La diferenciación de especies mediante técnicas genéticas exige una cuidadosa elección de los marcadores que se van a utilizar para la identificación. Los genes mitocondriales, y en particular el 12S ARN ribosómico, satisfacen muchos de los requisitos necesarios para el desarrollo de técnicas de identificación de especies (Unsel y col., 1995): se trata de un ADN ha-

ploide y no recombinante, no posee intrones, es mucho más pequeño que el ADN nuclear y acumula mutaciones puntuales con la suficiente rapidez como para permitir la diferenciación de especies filogenéticamente próximas. Además, el elevado número de copias de genes mitocondriales presente en las células, y la existencia de regiones conservadas y variables dentro de su secuencia, son características imprescindibles para el desarrollo de técnicas de PCR aplicadas a la diferenciación de especies.

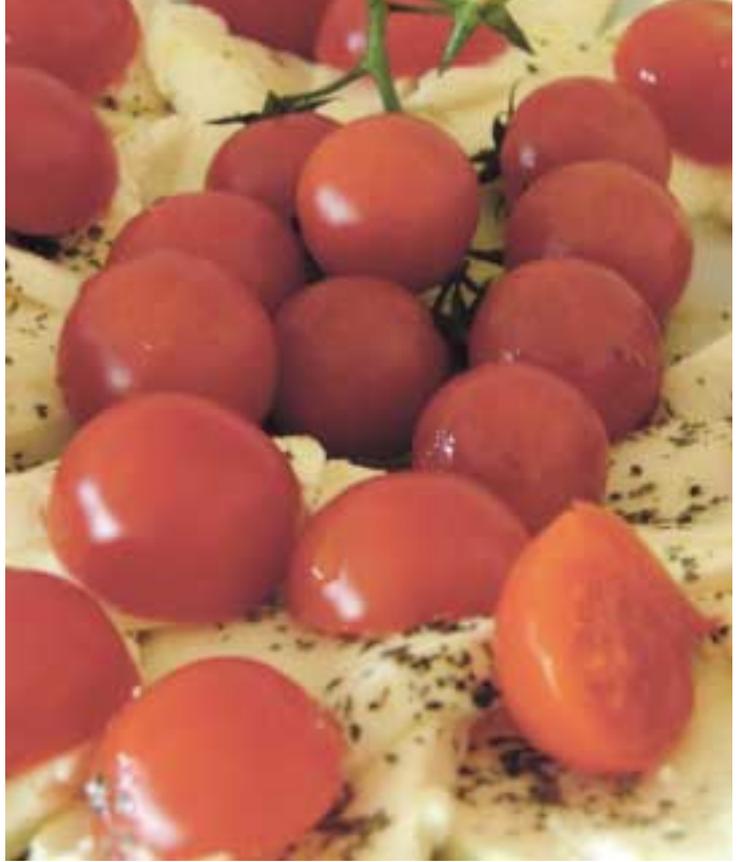
En este trabajo se ha utilizado un ensayo de PCR para la detección específica de vaca en mezclas con leche de búfala y en quesos *Mozzarella* de búfala. La técnica emplea cebadores específicos de especie diseñados en el gen mitocondrial bovino 12S ARNr.

## 1. Material y métodos

### 1. Selección de las muestras

Para los análisis realizados en este trabajo se han utilizado muestras de leche cruda de vaca (*Bos taurus*), oveja (*Ovis aries*), cabra (*Capra hircus*) y búfala (*Bubalus bubalis*) obtenidas de animales procedentes de explotaciones ubicadas en la Comunidad de Madrid. Asimismo, se emplearon quesos *Mozzarella* de búfala con el distintivo de calidad Denominación de Origen Protegida (DOP) y quesos *Mozzarella* de vaca, adquiridos en distintos centros comerciales.

Para determinar la sensibilidad del método se prepararon mezclas binarias, crudas pasteurizadas y esterilizadas, de leche de vaca en leche de búfala. Del mismo modo,



se elaboraron mezclas experimentales de *Mozzarella* de vaca en *Mozzarella* de búfala. Cada batería de mezclas contenía cinco porcentajes diferentes (10, 5, 1, 0,5 y 0,1%) de la especie diana (vaca) en un volumen final de 1 mL en el caso de las mezclas lácteas y de 250 g en el de las mezclas de quesos.

## 2. Extracción del ADN

Para la extracción del ADN a partir de las muestras de leche se utilizó el *kit Wizard<sup>®</sup> DNA Clean-up* (Promega). Previamente, las células somáticas se recuperaron de la leche con un reactivo de clarificación denominado "Reactivo A" (ADA 0,15 M, Triton X-100 0,5% y 0,01% de partículas de poliestireno), tal y como se describe a continuación:

A 1 ml de leche se le añadieron 0,5 ml del Reactivo A. La mezcla se centrifugó a 15.000 x g durante 5 min, obteniéndose un pellet que se resuspendió en 860 µL de tampón de extracción (Tris 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 2 mM, 1% SDS, pH 8,0), 100 mL de guanidinio cloruro 5M y 40 µL de proteinasa K (20 mg/mL). Las mues-

tras se incubaron toda la noche a 55 °C en agitación y después se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadieron 500 µL de cloroformo al lisado que a continuación se centrifugó a 15.000 x g durante 10 min. 500 µL del sobrenadante obtenido tras la centrifugación (fase acuosa) se emplearon para extraer el ADN utilizando el *kit Wizard DNA Clean-Up System* acoplado a un sistema de vacío, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADN se resuspendió en 100 µL de agua bidestilada estéril y su concentración se estimó midiendo la absorbancia a 260 nm.

Para la extracción del ADN a partir de la *Mozzarella* se homogeneizaron 2 g de queso con 8,6 mL de tampón de extracción (Tris 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 2 mM, 1% SDS, pH 8,0), 1 mL de guanidinio cloruro 5M y 200 µL de proteinasa K a una concentración de 20 mg/mL. Las muestras se incubaron toda la noche a 55 °C en agitación y después se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente,

se añadieron 5 mL de cloroformo al lisado y a continuación se centrifugó a 10.000 x g durante 10 min. Para extraer el ADN, se mezclaron 500 µL del sobrenadante obtenido tras la centrifugación (fase acuosa) con 1 mL de la resina del *kit Wizard<sup>®</sup> DNA Clean-up System*, y se procedió tal y como se ha descrito para las muestras de leche.

## 3. Amplificación por PCR y secuenciación de un fragmento conservado en el gen mitocondrial 12S ARN ribosómico

En primer lugar se amplificó un fragmento de ADN de aproximadamente 712 pb en el gen mitocondrial 12S ARNr de vaca, oveja, cabra y búfala, tal y como se describe en un trabajo previo (López-Calleja y col., 2004). Para ello, se emplearon los cebadores conservados 1SSSEQDIR/12SSEQINV (Tabla 1). Cada reacción de amplificación (50 µL) contenía 100 ng de ADN, 2

**El queso *Mozzarella* es un producto elaborado con leche de búfala**

CEBADOR	TM (°C)	TAMAÑO (pb)	SECUENCIA (5'-3')	FUNCIÓN
12SSEQDIR	67,2	20	GGTAAATCTCGTGCCAGCCA	Directo para secuenciar
12SSEQINV	64,0	25	TCCAGTAGCTTACCTTGTTACGAC	Inverso para secuenciar
12FWM	63,5	28	CTAGAGGAGCCTGTTCTATAATCGATAA	Directo común
12SBTINV2	66,1	27	AAATAGGGTTAGATGCACTGAATCCAT	Inverso específico de vaca
12SBUFINV	65,0	26	TTCATAATACTTTCGTGTTGGGTGT	Inverso específico de búfala

mM de MgCl<sub>2</sub>, 5 pmol de cada cebador, dNTPs 200 μM y 2U de ADN polimerasa *Tth* (Biotools, Madrid, España) en un tampón de reacción compuesto por 75 mM Tris-HCl, pH 9,0; 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 20 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> y 0,001% BSA. La reacción de PCR se realizó en un termociclador Progene (Techne Ltd., Cambridge, Reino Unido), programado para desarrollar una

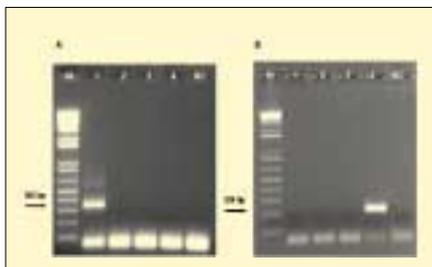
## Mozzarella sin denominación de origen puede elaborarse con leche de vaca

desnaturalización inicial de 93 °C durante 2 min, seguida de 35 ciclos que consistían en 30 s a 93 °C para desnaturalizar, 30 s a 63 °C para permitir la unión del cebador y 45 s a 72 °C para extender la cadena. La última extensión se alargó 5 min. Los productos de PCR (10 μL) se separaron mediante electroforesis (45 min a 100V) en un gel de agarosa D1 al 1,5% (Hispanlab S.A., Torrejón, España) que contenía 1 μg/mL de bromuro de etidio. Los fragmentos de ADN resultantes se visualizaron en un transiluminador de luz UV y se analizaron usando un sistema de documentación de fluorescencia en gel Geldoc 1000 PC (Bio-Rad, Hercules, CA, EEUU).

Las secuencias de los productos amplificados del gen 12S ARNr se determinaron en el Centro de Genómica y Proteómica (Universidad Complutense de Madrid) empleando un secuenciador automático ABI Prism, modelo 377 (Perkin-Elmer) y el *dRhodamine terminator cycle sequencing ready reaction kit* (Perkin-Elmer, Foster City, CA).

### 4. Amplificación por PCR de fragmentos de ADN específicos de vaca

Tras el alineamiento y estudio de las secuencias del gen 12S ARNr obtenidas de



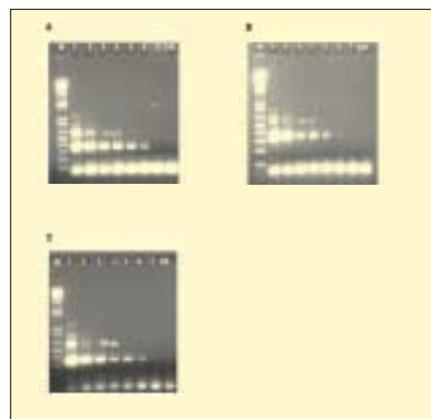
**Figura 2.** Análisis electroforético de la ampliación por PCR de fragmentos específicos de especie en el gen 12S ARNr. (A) producto de PCR específico de vaca, al emplear los cebadores 12SFWM y 12SBTINV2. (B) producto de PCR específico de búfala, al emplear los cebadores 12SFWM y 12SBUFINV. Las muestras corresponden al ADN extraído de leche de vaca (1), oveja (2), cabra (3) y búfala (4). (CN) corresponde al control negativo y (M) al marcador de peso molecular 1Kb plus DNA ladder.

los productos de PCR de vaca, oveja, cabra y búfala se diseñó una pareja de cebadores para la amplificación selectiva de un fragmento de ADN de vaca de 223 pb. Los cebadores empleados son: 12SFWM (directo común) y 12SBTINV2 (inverso específico de vaca) (Tabla 1). Asimismo, para comprobar la ausencia de resultados falsos negativos, se diseñó otro cebador inverso

específico de búfala (12SBUFINV). La pareja de cebadores 12SFWM y 12SBUFINV se emplearía como control endógeno, indicativo de la presencia de ADN de búfala en las muestras analizadas.

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 50 μL que contenía 100 ng de ADN, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 10 pmol de cada cebador, dNTPs 200 μM y 2U de ADN polimerasa *Tth* (Biotools, Madrid, España) en un tampón de reacción compuesto por 75 mM Tris-HCl, pH 9,0; 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 20 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> y 0,001% BSA. Los parámetros de tiempo y temperatura programados en el termociclador fueron los mismos que se describen para los cebadores 12SSEQDIR/12SSEQINV, pero con 40 ciclos de amplificación.

El límite de detección del método se determinó mediante electroforesis en gel de agarosa del ADN amplificado a partir de mezclas binarias experimentales (leche de vaca en leche de búfala y Mozzarella de vaca en Mozzarella de búfala) que conte-



**Figura 3.** Análisis electroforético de los productos de PCR del gen 12S ARNr amplificados con los cebadores 12SFWM y 12SBTINV2 a partir de mezclas lácteas binarias experimentales de vaca/búfala crudas (A), pasteurizadas (B) y esterilizadas (C). Las líneas 2 a 6 corresponden a mezclas que contienen 10, 5, 1, 0,5 y 0,1% de leche de vaca en leche de búfala, respectivamente. Línea 1: 100% leche de vaca. Línea 7: 100% leche de búfala. CN: control negativo. M: marcador de peso molecular 1Kb plus DNA ladder.

nian porcentajes comprendidos entre el 0,1 y el 100% de la especie diana (vaca).

## Resultados y discusión

El empleo de cebadores específicos para la amplificación selectiva de fragmentos de ADN constituye una estrategia comúnmente adoptada para la identificación de especies mediante técnicas de PCR. Para abordar el diseño de cebadores especie-específicos, a menudo es necesario amplificar primero regiones comunes a varias especies empleando cebadores universales. Ello permite estudiar las secuencias nucleotídicas de las dianas elegidas, a fin de encontrar diferencias que faciliten el posterior diseño de los cebadores específicos que se utilizarán para la identificación. La técnica de PCR con cebadores específicos se ha empleado para la autenticación de productos de origen animal como la carne y productos cárnicos (Calvo y col., 2001, Rodríguez y col., 2004), pescado (Asensio

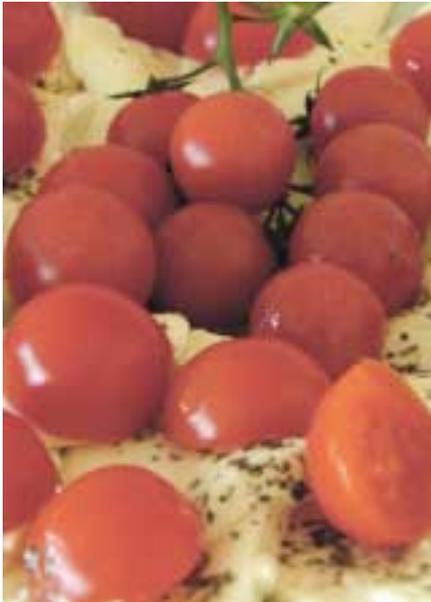
## La técnica emplea cebadores específicos de especie diseñados en el gen mitocondrial bovino

y col., 2001; Sezaki y col., 2005) y, en menor extensión, leche y productos lácteos (Calvo y col., 2002, Di Pinto y col., 2004; López-Calleja y col., 2004, 2005).

La leche de los rumiantes contiene células somáticas, principalmente leucocitos y células epiteliales, que poseen ADN genómico susceptible de ser amplificado por PCR (Lipkin y col., 1993; Amills y col., 1997). No obstante, la leche constituye una matriz altamente compleja cuyos componentes (fundamentalmente las caseínas y la grasa) pueden interferir en los procesos de extracción de ADN e inhibir la reacción de PCR. Además, en el caso de los quesos,



**Figura 4.** Análisis electroforético de los productos de PCR del gen 12S ARNr amplificados con los cebadores 12SFWM y 12SBTINV2 a partir de mezclas binarias experimentales de vaca en búfala preparadas con quesos *Mozzarella* de vaca y *Mozzarella di bufala campana*, respectivamente. Las líneas 2 a 5 corresponden a mezclas que contienen 10, 5, 1, 0,5 y 0,1% de queso de vaca en queso de búfala. Línea 1: 100% queso de vaca. Línea 7: 100% queso de búfala. CN: control negativo. M: marcador de peso molecular 1Kb plus DNA ladder.



los fenómenos degradativos que se producen debido a los procesos de maduración, así como la pérdida de células somáticas durante la fase de desuerado, pueden dificultar la obtención de ADN amplificable a partir de estos productos (Maudet y Taberlet, 2002). Estas limitaciones han contribuido a que el número de trabajos publicados en el área de identificación genética de especies animales en la leche y productos lácteos sea inferior a los dirigidos a la autenticación de otros alimentos. En este trabajo se describe el empleo de una técnica de PCR con cebadores específicos diseñados en el gen mitocondrial 12S ARN ribosómico para detectar la presencia de vaca en leche de búfala y en queso *Mozzarella* de búfala. Para conseguir el objetivo propuesto, en primer lugar se amplificó un fragmento común de aproximadamente 712 pb a partir de las muestras de leche de vaca, oveja, cabra y búfala empleando los cebadores conservados 12SSEQDIR y 12SSEQINV (López-Calleja y col., 2004) (resultados no mostrados). La

## Dicha técnica se puede emplear en programas de inspección de etiquetado

secuenciación de estos fragmentos y la posterior comparación de las secuencias obtenidas a partir de los productos de PCR, permitió el diseño de una pareja de cebadores: uno inverso específico de vaca (12SBTINV2) y otro directo (12SFWM) común a las cuatro especies (Figura 1). Como se observa en la Figura 2A, la pareja de cebadores 12SFWM/12SBTINV2 amplificó un fragmento de 346 pb en las muestras de leche de vaca, sin producir señal de

amplificación en las muestras de ADN obtenidas a partir de leche de oveja, cabra y búfala. Para verificar la presencia de ADN de búfala cuando no se generaban bandas de amplificación con los cebadores específicos de vaca, las muestras de leche se analizaron en paralelo con los cebadores específicos de búfala 12SFWM y 12SBUFINV. Los resultados obtenidos mostraron amplificación positiva del fragmento específico de la búfala (220 pb), mientras que no se obtuvieron bandas de amplificación en las otras especies estudiadas (Figura 2B).

Una vez comprobada la especificidad de los cebadores, se determinó la sensibilidad de la técnica mediante el análisis de mezclas binarias, crudas y tratadas térmicamente, que contenían porcentajes de leche de vaca en leche de búfala comprendidos entre el 0,1% y el 100%. Los resultados obtenidos (Figura 3) muestran cómo a medida que se va reduciendo la cantidad de leche de vaca presente en las mezclas, se obtienen bandas de amplificación menos intensas con los cebadores específicos de especie. El límite de detección conseguido fue del 0,1%. Como se observa, la sensibilidad del método no se modificó cuando las muestras de leche se analizaron tras los tratamientos de pasteurización (Figura 3B) o esterilización (Figura 3C).

En este trabajo, también se determinó la utilidad de la técnica de PCR desarrollada para la detección de ADN de vaca en mezclas binarias de *Mozzarella* de vaca en *Mozzarella* de búfala. Al igual que en el caso de las mezclas lácteas, los resultados ob-

tenidos tras los ensayos de PCR muestran cómo la intensidad de los amplicones es proporcional al porcentaje de vaca presente en las mezclas de quesos *Mozzarella*. El límite de detección del ensayo fue también del 0,1% (Figura 4).

La mayoría de los trabajos publicados hasta el momento en el área de identificación genética de especies animales en leche y quesos se basan en la amplificación de fragmentos de ADN específicos de especie mediante técnicas de PCR simple o múltiple (Bania y col., 2001; Maudet y Taberlet 2001; Mafra y col., 2004). Entre estos trabajos, destacan algunos dirigidos concretamente a la autenticación de quesos *Mozzarella*, consiguiendo límites de detección iguales o superiores a los obtenidos en el presente estudio. Por ejemplo, Bottero y col. (2002) emplearon una técnica de PCR múltiple para la identificación simultánea de leche de vaca y de búfala en queso *Mozzarella*, con un límite de detección de un 1%. Di Pinto y col. (2004) detectaron hasta un 1,5% de leche de vaca en *Mozzarella* de búfala mediante una técnica de PCR con cebadores específicos. Feligini y col. (2005) determinaron por PCR la presencia de leche de vaca en *Mozzarella* de búfala, con un límite de detección del 0,5%.

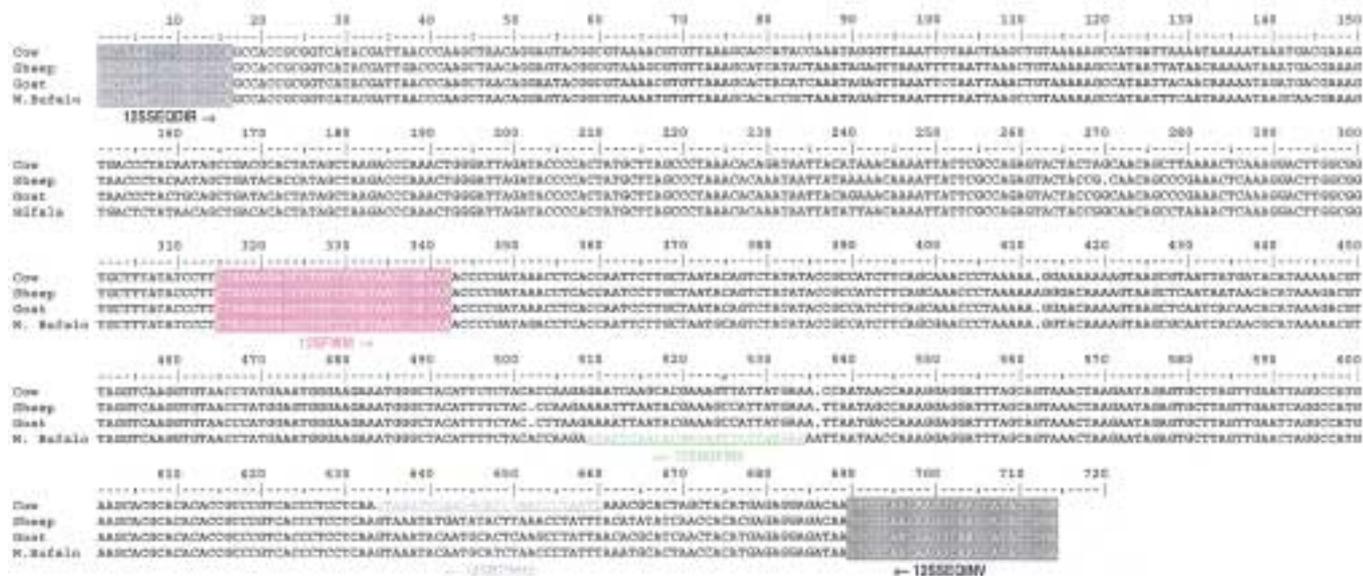
De los resultados obtenidos se deduce que la técnica de PCR utilizando cebadores específicos de especie constituye una herramienta sensible y fiable para la identificación específica de pequeños porcentajes de vaca en mezclas lácteas y en quesos. Dicha técnica se puede emplear en programas de inspección para asegurar el cumplimiento de las normas de etiquetado y garantizar la autenticidad de la leche y de los quesos de un mayor valor comercial, como aquellos elaborados con leche de búfala.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Comunidad Autónoma de Madrid (Programa de Vigilancia Sanitaria S-0505/AGR/000265). Inés López-Calleja e Irene Martín disfrutaron de una beca de la Universidad Complutense de Madrid. Violeta Fajardo y María Rojas disfrutaron de una beca del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

## Bibliografía

- AMILLS, M., FRANCINO, O., JANSÁ, M. y SÁNCHEZ, A. (1997). Isolation of genomic DNA from milk samples by using chelex resin. *Journal of Dairy Research* 64, 231-238.
- ASENSIO, L., GONZÁLEZ, I., FERNÁNDEZ, A., CÉSPEDES, A., RODRÍGUEZ, M.A., HERNÁNDEZ, P.E.,



**Figura 1.** Secuencias de ADN correspondientes a los productos de PCR amplificados con los oligonucleótidos 12SSEQDIR y 12SSEQONV a partir de muestras de leche de vaca, oveja, cabra y búfala. Los cebadores 12SSEQDIR (directo) y 12SSEQONV (inverso) y 12SFWM (directo) aparecen sombreados. Los cebadores específicos 12SBTINV2 (vaca) y 12SBUFINV (búfala) aparecen subrayados.

GARCÍA, T. y MARTÍN, R. (2001). Identification of Nile perch (*Lates niloticus*), grouper (*Epinephelus guaza*), and wreck fish (*Polyprion americanus*) filets by PCR amplification of the 5S rDNA gene. *Journal of AOAC International* 84, 777-781.

BANIA, J., UGORSKI, M., POLANOWSKI, A. y ADAMCZYK, E. (2001). Application of a polymerase chain reaction for detection of goats' milk adulteration by milk of cow. *Journal of Dairy Research* 68, 333-336.

BORKOVÁ M. y SNÁSELOVÁ, J. (2005). Possibilities of different animal milk detection in milk and dairy products. *Czech Journal of Food Science* 23, 41-50.

BOTTERO, M.T., CIVERA, T., ANASTASIO, A., TURI, R.M. y ROSATI, S. (2002). Identification of cow's milk in "buffalo" cheese by duplex polymerase chain reaction. *Journal of Food Protection* 65, 362-366.

CALVO, J.H., ZARAGOZA, P. y OSTA, R. (2001). A quick and more sensitive method to identify pork in processed and unprocessed food by PCR amplification of a new specific DNA fragment. *Journal of Animal Science* 79, 2108-2112.

CALVO, J.H., OSTA, R., ZARAGOZA, I. y ZARAGOZA, P. (2002). Species-specific amplification for detection of bovine, ovine and caprine cheese. *Milchwissenschaft* 57, 444-446.

DE LA FUENTE, M.A. y JUÁREZ, M. (2005). Authenticity assessment of dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45, 563-585.

DI PINTO, A., CONVERSANO, M.C., FORTE, V.T., NOVELLO, L. y TANTILLO, G.M. (2004). Detection of cow milk in buffalo Mozzarella by polymerase chain reaction (PCR) assay. *Journal of Food Quality* 27, 428-435.

FAJARDO, V., GONZÁLEZ, I., LÓPEZ-CALLEJA, I., MARTÍN, I., HERNÁNDEZ, P.E., GARCÍA, T. y MARTÍN, R. (2006). PCR-RFLP authentication of meats from red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), roe deer (*Capreolus capreolus*), cattle (*Bos taurus*), sheep (*Ovis aries*), and goat (*Capra hir-*



*cus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 1144-1150.

FELIGINI, M., BONIZZI, I., CURIK, V.C., PARMA, P., GREPPI, G.F. y ENNE, G. (2005). Detection of adulteration in Italian Mozzarella cheese using mitochondrial DNA templates as biomarkers. *Food Technology and Biotechnology* 43, 91-95.

GIRISH, P.S., ANJANEYULU, A.S.R., VISWAS, K.N., ANAND, M., RAJKUMAR, N., SHIVAKUMAR, B.M. y BHASKAR, S. (2004). Sequence analysis of mitochondrial 12S rRNA gene can identify meat species. *Meat Science* 66, 551-556.

LIPKIN, E., SHALOM, A., KHATIB, H., SOLLER, M. y FRIEDMANN, A. (1993). Milk as a source of deoxyribonucleic acid and as a substrate for the polymerase chain reaction. *Journal of Dairy Science* 76, 2025-2032.

LÓPEZ-CALLEJA, I., GONZÁLEZ, I., FAJARDO, V., RODRÍGUEZ, M.A., HERNÁNDEZ, P., GARCÍA, T. y MARTÍN, R. (2004). Rapid detection of cows' milk in sheep's and goats' milk by a species-specific PCR technique. *Journal of Dairy Science* 87, 2839-2845.

LÓPEZ-CALLEJA, I., GONZÁLEZ, I., FAJARDO, V., MARTÍN, I., HERNÁNDEZ, P.E., GARCÍA, T. y MARTÍN, R. (2005). Application of polymerase chain reaction

to detect adulteration of sheep's milk with goats' milk. *Journal of Dairy Science* 88, 3115-3120.

MAFRA, I., FERREIRA, I.M., FARIA, M.A. y OLIVEIRA, B.P. (2004). A novel approach to the quantification of bovine milk in ovine cheeses using a duplex polymerase chain reaction method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 4943-4947.

MAUDET, C. y TABERLET, P. (2001). Detection of cows' milk in goats' cheeses inferred from mitochondrial DNA polymorphism. *Journal of Dairy Research* 68, 229-235.

MAUDET, C. y TABERLET, P. (2002). Holstein's milk detection in cheeses inferred from melanocortin receptor 1 (MC1R) gene polymorphism. *Journal of Dairy Science* 85, 707-715.

RAMOS, M. y JUÁREZ, M. (1986). Métodos analíticos para la identificación de mezclas de leche de diferentes especies. *Revista Española de Lechería* 7, 19-31.

REA, S., CHIKUNI, K., BRANCIARI, R., SANGAMAYYA, R., RANUCCI, D. y AVELLINI, P. (2001). Use of duplex polymerase chain reaction (duplex-PCR) technique to identify bovine and water buffalo milk used in making Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Research* 68, 689-698.

RODRÍGUEZ, M.A., GARCÍA, T., GONZÁLEZ, I., ASENSIO, L., HERNÁNDEZ, P.E. y MARTÍN, R. (2004). PCR identification of beef, sheep, goat and pork in raw and heat-treated meat mixtures. *Journal of Food Protection* 67, 172-177.

SEZAKI, K., ITOI, S. y WATABE, S. (2005). A simple method to distinguish two commercially valuable eel species in *Japan Anguilla japonica* and *A-anguilla* using polymerase chain reaction strategy with a species-specific primer. *Fisheries Science* 71, 414-421.

STEFOS, G., ARGYROKASTRITIS, A., BIZELIS, I., MOATSOU, G., ANIFANTAKIS, E. y ROGDAKIS, E. (2004). Detection of bovine mitochondrial DNA specific sequences in *Feta cheese* and ovine yoghurt by PCR-RFLP. *Milchwissenschaft* 59, 509-511.

UNSELD, M., BEYERMANN, B., BRANDT, P. y HIESEL, R. (1995). Identification of the species origin of highly processed meat products by mitochondrial DNA sequences. *PCR Methods and Applications* 4, 241-243.

Se utiliza para garantizar la autenticidad de los productos elaborados con leche de búfala



## TECNOLOGÍA INDUSTRIAL GARCÍA

el reto de avanzar con los  
progresos tecnológicos e  
industriales de su empresa



servicios y suministros industriales



cursos de formación   diseño de sistemas industriales   tecnoevolución   servicio postventa



TECNOLOGÍA  
INDUSTRIAL  
GARCÍA

DISTRIBUIDOR OFICIAL EXCLUSIVO  
PARA ESPAÑA DE

 POMPE INDUSTRIALI INOX

**TECNOLOGIA INDUSTRIAL GARCIA, S.L.**  
Ctra. de Madrid km. 377 - Pol. Ind. El Tapiado - Apdo. 350  
30500 Molina de Segura (Murcia)  
Tfno. 968/611739 - Fax 968/640948  
<http://www.tecnologia-industrial.com>  
E-mail: [tecnologiaindustrial@telefonica.net](mailto:tecnologiaindustrial@telefonica.net)

## El Ministerio de Industria aprueba el proyecto para una alianza estratégica liderada por el CTC

*“El proyecto, de más de un millón de euros, plantea la creación de un grupo de trabajo, que comprende a siete centros tecnológicos de toda España, investigará sobre la mejora de los envases existentes y el desarrollo de otros nuevos”*

Presencia a la gran competencia que siempre entraña un concurso público de adjudicación, en esta ocasión la contundencia del proyecto presentado por el CTC y por otros seis centros más en torno al estudio de envases inteligentes que eviten la degradación de los compuestos grasos de los alimentos, ha resultado valorada positivamente en la convocatoria “Fomento de la Investigación Técnica para Proyectos Consorciados CONSORCIA”, realizada por la DG-Pyme del Ministerio de Industria, Turismo y Comercio, lo que se traduce en una importante inyección económica para que estos centros tecnológicos complementarios entre sí, comiencen a investigar en el ámbito de las tecnologías de envase y embalaje aplicadas a productos alimentarios.

En la actualidad, los envases plásticos, bien por problemas de resistencia mecánica o térmica, bien por la mala conservación del producto, presentan problemas de distinta naturaleza con alimentos grasos como el jamón, el pescado o el queso. Por tanto, lo que se proponen estos centros es revertir la situación y hacer posible la perfecta compatibilidad del plástico con estos alimentos y también con los procesos de conservación habituales como la esterilización térmica, las altas presiones, las atmósferas modificadas y la pasteurización. Por otra parte, el proyecto servirá para fomentar la coordinación entre los centros tecnológicos dentro del panorama nacional, donde cabe destacar los esfuerzos realizados por los miembros de esta Alianza Estratégica para tratar de poner de acuerdo a los distintos centros, ofreciendo un trabajo atractivo con el que todos ya estaban relacionados de una manera u otra, pero que sin duda se verá potenciado con las sinergias, propor-

cionando una mayor cohesión entre ellos. La concesión oficial de este proyecto, que es uno de los seis que ha otorgado el Ministerio de entre veintiocho presentados a concurso, respalda el esfuerzo realizado por los miembros de esta Alianza. Desarrollar nuevos envases activos que mejoren la vida útil de los compuestos grasos de los alimentos no es tarea fácil, para ello se ha iniciado esta colaboración que será a largo plazo, lo que propiciará a su vez el desarrollo de proyectos

ca (ANFACO-CECOPECA) de Galicia, el Instituto Tecnológico del Embalaje, Transporte y Logística (ITENE) y el Instituto Tecnológico del Plástico (AIMPLAS) de la Comunidad Valenciana y, por último, la Fundación LEIA Centro de Desarrollo Tecnológico del País Vasco.

Todo este despliegue investigador que ahora comienza, mejorará con sus resultados los envases existentes actualmente, incrementando por ejemplo el periodo de

transporte y la distribución de los alimentos, al interactuar en los procesos de degradación conservando durante más tiempo las propiedades del alimento. En definitiva, los alimentos deben llegar al consumidor conservando todas sus características organolépticas y nutritivas. Además, los resultados de la investigación se difundirán ampliamente con objeto de favorecer la utilización de los mismos por parte de las empresas.

Finalmente, hay que mencionar la importancia de la figura denominada Gestor de la Innovación creada por el Instituto de Fomento de la Región de Murcia, de la que este organismo ha dotado a la red de centros tecnológicos de la Región,

para que ejerzan como agentes dinamizadores e innovadores de las Pymes, con objeto de promover, difundir y captar las necesidades tecnológicas de las empresas, siendo un claro ejemplo de su importancia el gestor de la innovación destacado en el CTC, que es quien ha coordinado las actividades de este proyecto encaminado a encontrar el mejor modelo de envase inteligente y sostenible, siempre pensando en el consumidor final.



I+D+i en el ámbito de las tecnologías de envase y embalaje aplicadas a los productos alimentarios. Los firmantes del acuerdo de colaboración son, además del CTC, el Centro Nacional de Tecnología Alimentaria (CNTA) de Navarra, el Centro Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (CETAEX), la Asociación Nacional de Fabricantes de Conservas de Pescados y Mariscos-Centro Técnico Nacional de Conservación de los Productos de la Pes-

# Ingredientes dietéticos procedentes de la uva: evaluación química y funcional

MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. INSTITUTO DE FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CSIC). JUAN DE LA CIERVA 3, 28006 MADRID. SPAIN.



*En este artículo se recogen los resultados y las implicaciones de un amplio estudio de caracterización polifenólica de ingredientes dietéticos comerciales procedentes de pepitas, hollejos y orujos de *Vitis Vinifera L.*, así como de evaluación de sus propiedades bioactivas (medidas como actividad antioxidante) *in vitro*. Por medio de los protocolos analíticos de HPLC-DAD/ESI-MS desarrollados en este trabajo, se ha analizado la fracción polifenólica completa de los distintos ingredientes, comprobándose la autenticidad de los materiales vegetales de partida, pero constatándose una gran variabilidad en la composición fenólica de estos ingredientes comerciales. La capacidad antioxidante, determinada por el método ORAC, permitió confirmar la bioactividad potencial de los diferentes ingredientes y su relación directa con la composición fenólica. Se concluye que ambos parámetros, capacidad antioxidante y caracterización química, deben combinarse para conocer el grado de biodisponibilidad y las actividades fisiológicas potenciales de estos ingredientes.*

## Abstract

The results and implications of a large study about the polyphenolic characterization of commercial dietary ingredients derived from *Vitis vinifera* L. grape seeds, skins and pomace, and the *in vitro* evaluation of their bioactive properties (measured as antioxidant capacity), are presented in this work. Through the HPLC-DAD/ESI-MS analytical protocols developed in this work, the complete polyphenolic fraction of the different ingredients has been analysed, confirming the authenticity of the original vegetal materials but proving the wide range of variability existing among these commercial ingredients. The antioxidant capacity, as determined by the ORAC method, allowed the confirmation of the potential bioactivity of the different ingredients and its direct relationship with their phenolic composition. It is concluded that the combination of both parameters antioxidant capacity and chemical characterization, is necessary in order to know the degree of bioavailability and the potential physiological activities of these ingredients.

**Palabras clave:** uva, *Vitis Vinifera* L., polifenoles, flavanoles, antocianos, HPLC/MS, tiolisis, ORAC, actividad antioxidante, biodisponibilidad.

## Introducción

Desde las primeras observaciones de la llamada "Paradoja Francesa" (Renaud y Lorgeril, 1992), numerosos estudios epidemiológicos han demostrado los efectos fisiológicos beneficiosos de una dieta rica en compuestos fenólicos, en especial de tipo flavonoideo, particularmente en relación a las enfermedades cardiovasculares (Liu *et al.*, 2000; Joshipura *et al.*, 2001; Mennen *et al.*, 2004). El reconocimiento de los efectos beneficiosos de los compuestos fenólicos de la uva y del vino (Figura 1) ha despertado un gran interés por los subproductos vinícolas ricos en polifenoles como materia prima para la obtención de ingredientes a emplear en la formulación de suplementos dietéticos antioxidantes (Valiente *et al.*, 1995; Moure *et al.*, 2001; Schieber *et al.*, 2001; Torres *et al.*, 2002; González-Paramas *et al.*, 2004). Los suplementos dietéticos, como su nombre indica, son productos que intentan suplementar la dieta. Por lo general, son preparaciones que contienen uno o más ingredientes dietéticos (vitaminas, minerales, aminoácidos, polifenoles, carotenoides, hierbas u otras plantas y otras sustancias), para ser suministrados por vía oral, en forma de pastilla,



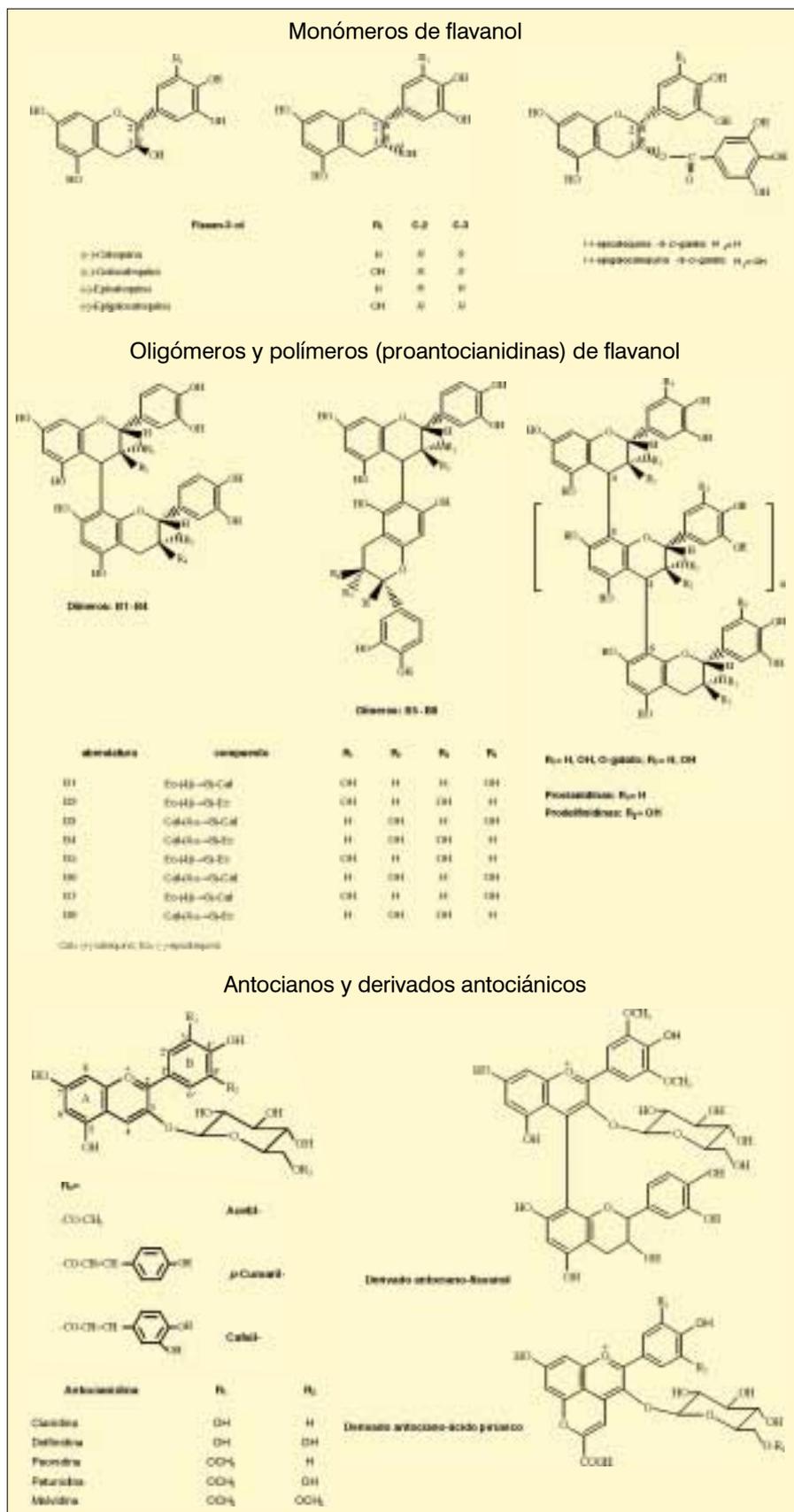
cápsula, ó líquido (Rapaka y Coates, 2006). Por lo general, los ingredientes dietéticos se preparan mediante extracción del material vegetal con agua, etanol, CO<sub>2</sub>, u otro solvente (Rapaka y Coates, 2006). De cualquier modo, el primer paso en la elaboración de un ingrediente dietético es la autenticación del material botánico de partida, verificando también que no esté adulterado con otras especies o contaminado con sustancias dañinas. Entre los subproductos vinícolas, el denominado *orujo de uva* es el más utilizado como materia prima de ingredientes funcionales. Éste se obtiene después de la fermentación y prensado de la uva, y está compuesto principalmente por hollejos, pepitas de uva, y ocasionalmente por raspón, pudiendo someterse a destilación para producir etanol o bebidas ricas en él base de macerados de

## Los suplementos dietéticos son productos que intentan suplementar la dieta

frutas o hierbas. También, los hollejos y pepitas que se descartan previamente a la elaboración de vinos blancos y rosados y de mostos, por tanto no sometidos a fermentación, también constituyen otros tipos de subproductos (Shrikhande, 2000). Los ingredientes dietéticos tienen como fin cumplir con ciertas propiedades nutricionales y/o funcionales que benefician la salud humana. En el caso de los ingredientes dietéticos fenólicos, es importante destacar que sus propiedades biológicas y, por

tanto, los efectos fisiológicos beneficiosos derivados de las mismas, dependen estrictamente de la biodisponibilidad del compuesto fenólico en cuestión, que a su vez está muy relacionada con su *estructura química* (Manach *et al.*, 2004).

En el caso de la uva, y por tanto, de los subproductos vinícolas, las estructuras fenólicas presentes son muy diversas (Monagas *et al.*, 2005a) (Figura 1). Los flavanoles, en sus formas monoméricas, oligoméricas (2-5 unidades) y poliméricas (<5 unidades), las dos últimas formas conocidas con el nombre de proantocianidinas o taninos condensados, se encuentran localizadas en las pepitas, los hollejos y el raspón. Las pepitas contienen procianidinas (oligómeros y polímeros de (+)-catequina, (-)-epicatequina, y de (-)-epicatequina 3-O-galato), mientras que los hollejos y raspónes además contienen prodelfinidinas (oligómeros y polímeros de (-)-epigallocatequina y de trazas de (+)-galocatequina y (-)-epigallocatequina 3-O-galato). En los hollejos de uvas tintas se localizan los pigmentos antocianicos, los cuales son responsables del color rojo del vino tinto (Figura 1). Las antocianinas identificadas en las uvas y vinos de *Vitis vinifera* L. son los 3-O-monoglucósidos y los 3-O-monoglucósidos-acilados de cinco antocianidinas principales: delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina. La acilación ocurre en la posición C-6 de la



**Figura 1.** Estructuras químicas de los flavanoles y antocianos característicos de los subproductos vinícolas.

molécula de glucosa por medio de la esterificación con los ácidos acético, *p*-cumárico y cafeico. Debido a su naturaleza, el orujo también puede presentar otros com-

puestos resultantes de la fermentación como son los llamados “derivados antociánicos” (Figura 1), los cuales incluyen los productos resultantes de las reacciones de

condensación, ya sea directa o mediada por el acetaldehído, entre antocianos y flavanoles, así como los denominados piranoantocianos, que son productos originados por las reacciones de cicloadición C-4/C-5 de los antocianos con metabolitos secundarios procedentes de la fermentación con las levaduras o con otros fenoles (ácido pirúvico, 4-vinilfenoles, ácidos hidroxicinámicos, vinilflavonoles, acetaldehído, acetona, entre otros) (Monagas *et al.*, 2005a). Finalmente, es importante destacar que la composición fenólica y la facilidad para la extracción de los subproductos vinícolas también depende de la variedad de uva y de las condiciones del proceso empleadas para la vinificación, siendo también factores que añaden variabilidad a la composición fenólica de un determinado ingrediente dietético (Schieber *et al.*, 2001).

De lo anteriormente expuesto se deduce que para poder emplearse como ingredientes funcionales efectivos en la formulación de suplementos dietéticos, los polifenoles derivados de subproductos vinícolas deben presentar una composición química y actividad biológica definidas y constantes, para lo cual es necesario caracterizarlos químicamente, y de esta manera conseguir su estandarización y control de calidad. Todo ello exige el empleo de métodos analíticos basados en técnicas muy específicas y sensibles, como es la técnica de la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas (HPLC/MS). En está artículo se resumen los resultados correspondientes a un estudio de: *a)* caracterización fenólica de ingredientes dietéticos comerciales elaborados a partir de pepitas, hollejos y orujos de uva de *Vitis vinifera* L. por medio de HPLC/MS; y *b)* evaluación de sus propiedades bioactivas (actividad antioxidante) por métodos *in vitro* (Monagas *et al.*, 2005b, Monagas *et al.*, 2006 a y b). El artículo se completa con una amplia discusión sobre las actividades biológicas y la biodisponibilidad de los polifenoles flavonoides (flavanoles y antocianos) presentes en estos ingredientes dietéticos.

## Materiales y métodos

### Ingredientes dietéticos comerciales

En este trabajo se estudiaron un total de 26 ingredientes dietéticos comerciales (16 obtenidos de pepitas, 4 de hollejos, y 6 de orujo de uvas de *Vitis Vinifera* L). De algunos de ellos, se estudiaron diferentes lotes de producción (*pepitas*: ingrediente #2, *n*=6; ingrediente #3, *n*=3; ingrediente #4,



$n=4$ ; ingrediente #5,  $n=4$ ; hollejos: ingrediente #1,  $n=5$ ; ingrediente #2,  $n=4$ ). Todos los ingredientes fueron suministrados en forma sólida (polvo), con la excepción de los ingredientes # 7, 8, 9 y 10, derivados de orujo de uva, que fueron suministrados en forma de concentrados líquidos estandarizados a 38 °Brix (siropes). Los ingredientes #7 y 8 procedían de orujo de vinificación, mientras que los ingredientes #9 y 10 procedían de orujo no fermentado (material residual después de la extracción del mosto).

#### *Análisis de antocianos por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia-Espectrometría de Masas (HPLC-DAD/ESI-MS)*

Para el análisis de antocianos por esta técnica, los ingredientes de hollejos y orujo (en forma sólida) (0,15-0,80 g) se mezclaron con metanol: HCl (1000:1, v/v) (25 ml) y se sometieron a ultrasonidos durante 2 min. Después de un período de maceración de 15 min a temperatura ambiente, las muestras se centrifugaron (2.000 rpm, 10 min) y se recogieron los sobrenadantes.

## Los ensayos in vitro, como el ORAC, son el punto de partida de los ensayos in vivo

La extracción de las muestras se realizó por duplicado. Los ingredientes de orujo suministrados como siropes (#7-10) se diluyeron (1:10, v/v) con agua destilada. Las muestras se filtraron a través de un filtro de 0,45 mm antes del análisis por HPLC. Se empleó un sistema de cromatografía líquida Hewlett-Packard serie 1100 (Palo Alto, CA) equipado con un detector de fotodiodos alineados (DAD) y un espectrómetro de masas cuadrupolar (Hewlett-Packard series 1100 MSD) acoplado a una interfase de ionización por "electrospray" (ESI). La separación de los antocianos se

llevó a cabo inyectando 100  $\mu$ L del extracto en una columna de fase inversa Waters Nova-Pak® C<sub>18</sub> [150 mm x 3,9 mm (diámetro interno); tamaño de partícula: 4 $\mu$ m] a temperatura ambiente. Las condiciones cromatográficas y de detección se indican en Monagas *et al.* (2006a). La cuantificación se realizó por medio de la medida del área a 530 nm expresada en mg/L de malvidín-3-glucósido a través de una recta de calibrado de patrón externo.

#### *Análisis de flavanoles (monoméricos y oligoméricos) por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia-Espectrometría de Masas (HPLC-DAD/ESI-MS)*

Para el análisis de flavanoles monoméricos y oligoméricos, los ingredientes procedentes de pepita de uva (0,05g) se extrajeron con 10 mL de metanol: HCl (1000:1, v/v) siguiendo el protocolo anteriormente descrito. Las muestras se filtraron a través de un filtro de 0,45  $\mu$ m antes del análisis por HPLC. Se empleó el mismo sistema cromatográfico anteriormente descrito para el análisis de antocianos.

La separación de los compuestos fenólicos se llevó a cabo por inyección de 15-150  $\mu$ L en una columna de fase inversa Waters Nova-Pak® C<sub>18</sub> [300 mm x 3,9 mm (diámetro interno); tamaño de partícula: 4 $\mu$ m] a temperatura ambiente. Las condiciones cromatográficas y de detección se indican en Monagas *et al.* (2006a). Los flavanoles y del ácido gálico se cuantificaron a 280 nm a través de rectas de calibrado de patrón externo. Las procianidinas no-galoiladas se cuantificaron por medio de la recta de calibrado de la (-) epicatequina, y las galoiladas por medio de la obtenida con el galato de (-) epicatequina.

#### *Degradación en medio ácido y en presencia de tolueno- $\alpha$ -tiol (tiólisis) de las procianidinas poliméricas en extractos de pepitas de uva*

Los extractos metanólicos de los ingredientes de pepitas de uva se sometieron a tiólisis empleando las condiciones descritas por Monagas *et al.* (2006a). Un volumen de 300  $\mu$ L de extracto se introdujo en un vial de 1,0 mL de volumen para la inyección automática en HPLC, y se mezcló con 300  $\mu$ L de una solución al 5% tolueno- $\alpha$ -tiol en metanol-HCl 0,2 M. La mezcla se colocó en un baño de agua a 55 °C durante 15 min. La muestra tiolizada se enfrió en baño de hielo e inmediatamente se analizó por HPLC en fase inversa. A su vez, se preparó un blanco mezclando 300  $\mu$ L de la muestra con el mismo volumen de metanol-HCl (0,2 M) pero sin tolueno- $\alpha$ -tiol. Se utilizó un sistema de cromatografía líquida Waters (Milford, MA) equipado con un controlador 600-MS, un inyector automático 717 Plus, y un detector de fotodiodos alineados (DAD) 996, acoplados al programa Waters Millennium (versión 2.10) de adquisición y tratamiento de datos. La separación de los compuestos fenólicos se llevó a cabo inyectando 15-150  $\mu$ L en una columna de fase inversa Waters Nova-Pak® C<sub>18</sub> [300 mm x 3,9 mm (diámetro interno); tamaño de partícula: 4 $\mu$ m] a temperatura ambiente. Las condiciones cromatográficas y de detección se indican en Monagas *et al.* (2006a). Los flavanoles monoméricos se cuantificaron a través de rectas de calibrado elaboradas a partir de estándares [(+)-catequina, (-)-epicatequina, y (-)-epicatequina-3-O-galato]. La cantidad exacta de flavanoles monoméricos liberados de la tiólisis como subunidades terminales se determinó por diferencia con los presentes en el blanco (muestra

no tiolizada). La cuantificación de los aductos de tolueno- $\alpha$ -tiol (subunidades de extensión) se realizó empleando los factores de respuesta publicados por Vivas *et al.* (2004). El procedimiento de tiólisis se realizó por duplicado. Para calcular el grado de polimerización medio (GPm), la suma de las subunidades de extensión se dividió entre la suma de las subunidades terminales. El contenido de proantocianidinas (PRO) se calculó por medio de la suma de las masas de todas las subunidades (excluyendo la porción de tolueno- $\alpha$ -tiol de los aductos).

*Capacidad antioxidante de los extractos de ingredientes de pepita, hollejo y orujo de uva*  
Para la medida de la capacidad antioxidante de los extractos, se siguió la metodología ORAC (Oxigen-Radical Absorbance Capacity, capacidad de absorción de radicales de oxígeno) empleando fluo-

resceína como sustancia fluorescente, AAPH como precursor de radicales de oxígeno y Trolox como patrón de referencia, según se describe en Monagas *et al.* (2005b). Los valores ORAC se expresaron en  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalentes (TE)/mg de piel de almendra.

#### Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados generados en este estudio se llevó a cabo con la ayuda de los programas para Windows, STATISTICA (versión 5.1.; Statsoft Inc., Tulsa, OK, 1998) y SPSS (versión 11.01; SPSS Inc., Chicago, IL, 2001).

## Resultados y discusión

### 1. INGREDIENTES PROCEDENTES DE PEPITAS DE UVA

#### 1.1. Caracterización fenólica

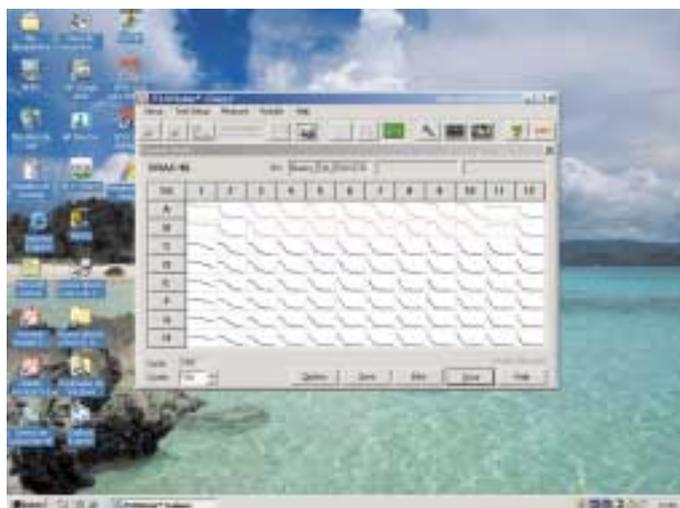
El perfil de flavanoles monoméricos y oligoméricos se estudió por HPLC-DAD/ESI-

MS en los extractos metanólicos de los ingredientes dietéticos comerciales derivados de pepitas de uva, identificándose los siguientes compuestos (Figura 2): Ácido gálico (1) ( $[\text{M-H}]^- = m/z 169$ ); flavanoles monoméricos no-galoilados y galoilados ( $[\text{M-H}]^- = m/z 289$ ;  $m/z 441$ , respectivamente); procianidinas diméricas no-galoiladas y galoiladas ( $[\text{M-H}]^- = m/z 577$ ;  $m/z 729$ , respectivamente), y procianidinas triméricas ( $[\text{M-H}]^- = m/z 865$ ). Los flavanoles monoméricos identificados correspondieron a la (+)-catequina (4), (-)-epicatequina (8) y epicatequina-3-O-galato (11). Las procianidinas incluyeron los dímeros B3 (2), B1 (3), B4 (6), B2 (7), B3'-3-O-galato (9), y los trímeros T2 (5) y C1 (10) (Figura 2). Se encontraron dos perfiles de HPLC diferentes entre los ingredientes estudiados (Figura 2). La mayoría de los ingredientes (#1, 3, 5-11, 14-16) presentaron el perfil mostrado en la Figura 2A, el cual coincide

Ingrediente #	Lote #	Ac. gálico <sup>a</sup>	B3	B1	Cat	T2	B4	B2	Ec	B3'G	C1	EcG
1		. <sup>b</sup>	4,41	19,1	55,6	11,9	9,82	31,2	84,2	3,34	2,52	7,19
2	1	0,127	-	-	0,217	-	-	-	0,362	-	-	0,602
	2	0,187	-	-	0,197	-	-	-	0,520	-	-	0,496
	3	0,124	-	-	0,223	-	-	-	0,291	-	-	0,617
	4	0,091	-	-	0,155	-	-	-	0,184	-	-	0,456
	5	0,137	-	-	0,160	-	-	-	0,371	-	-	0,796
	6	0,116	-	-	0,421	-	-	-	0,160	-	-	0,818
3	1	10,3	4,15	15,5	37,8	12,9	4,96	77,2	85,3	4,89	2,17	25,0
	2	20,3	4,35	15,1	42,7	10,5	6,67	47,0	116	3,84	2,15	23,7
	3	18,7	4,54	15,1	57,1	17,3	7,16	36,9	156	4,17	2,61	28,3
	4	0,359	-	-	0,649	-	-	-	0,469	-	-	1,41
4	2	0,387	-	-	0,653	-	-	-	0,435	-	-	1,39
	3	0,351	-	-	0,817	-	-	-	0,671	-	-	1,40
	4	0,372	-	-	0,838	-	-	-	0,774	-	-	1,51
	5	0,643	1,50	6,67	19,2	4,63	3,15	9,28	22,2	2,80	1,32	6,79
5	2	0,646	1,44	6,41	19,2	4,52	2,94	9,38	21,5	2,92	1,29	7,32
	3	0,695	1,18	5,63	17,8	3,91	2,44	8,57	21,3	2,72	1,06	6,75
	4	0,604	1,30	6,64	19,3	4,40	2,22	9,75	23,2	3,11	1,13	7,13
	6	7,24	8,50	27,5	120	10,3	6,00	27,2	113	6,95	2,40	47,2
7	0,474	2,21	2,48	18,3	1,78	1,44	5,17	13,4	2,25	<sup>b</sup> tr	6,49	
8	6,98	12,7	26,2	88,1	11,4	8,19	29,3	130	5,95	2,97	42,9	
9	3,74	10,0	17,7	52,1	13,2	8,91	22,1	64,7	4,54	3,48	25,3	
10	6,59	19,0	13,8	202	6,17	2,90	31,9	249	2,50	2,28	47,9	
11	3,61	5,09	11,7	33,7	9,39	8,10	23,5	57,8	3,37	2,88	13,2	
12	1,44	-	-	5,07	-	-	-	4,91	-	-	-	4,61
13	0,130	-	-	0,410	-	-	-	0,723	-	-	-	0,518
14	5,80	7,64	25,8	83,4	12,3	7,48	27,8	87,27	6,91	3,48	31,8	
15	8,23	3,64	16,2	50,0	8,37	6,02	18,6	57,99	4,68	2,00	20,3	
16	5,58	4,98	14,1	30,9	1,47	7,41	14,5	51,45	2,95	1,53	5,99	

**Tabla 1.** Concentración de ácido gálico y de flavanoles en los ingredientes de pepita de uvas.

<sup>a</sup>Expresado como mg/g de ingrediente (valor medio  $n=2$ ). <sup>b</sup>.-: no detectado; tr: trazas. B3: procianidina B3; B1: procianidina B1; Cat: (+)-catequina; T2: procianidina T2; B4: procianidina B4; B2: procianidina B2; Ec: (-)-epicatequina; B3'G: procianidina B3'-O-galato; C1: procianidina C1; EcG: (-)-epicatequina-3-O-galato.



con el perfil típico de los flavanoles monoméricos y oligomérico de las pepitas de uvas (Monagas *et al.*, 2003) y de otros extractos comerciales. Por el contrario, el perfil ilustrado en la (Figura 2B) sólo lo presentaron los ingredientes #2, 4, 12 y 13. Los monómeros de flavanoles fueron los más abundantes (1,18-499 mg/g) en los diferentes ingredientes de pepitas, seguidos de los dímeros (0-107 mg/g) y finalmente de los trímeros (0-16,7 mg/g) (Tabla 1). Se encontraron grandes diferencias entre las 16 marcas de ingredientes de pepitas en relación al contenido individual de compuestos fenólicos. Las diferencias más importantes se registraron en los monómeros de flavanoles. Para la (+)-catequina (0,217-202 mg/g) y la (-)-epicatechin (0,160-249 mg/g), las diferencias registradas entre ingredientes fueron de aproximadamente 1.000 veces, y para la epicatequina-3-*O*-galato (0,456-47,9 mg/g) del orden de 10 veces (Tabla 1). El intervalo de concentraciones encontradas para las procianidinas diméricas fue de: 0-19,0 mg/g (B3), 0-27,5 mg/g (B1), 0-9,82 mg/g (B4), 0-77,2 mg/g (B2), y de 0-6,95 mg/g (B3'-

O-galato) (Tabla 1). En el caso de la procianidina trimérica T2, la concentración varió entre 0 y 17,3 mg/g, mientras que para C1 los valores registrados fueron entre 0 y 3,48 mg/g. Por su parte, el ácido gálico varió entre 0 y 20,3 mg/g entre los diferentes ingredientes (Tabla 1). Por otra parte, el análisis de diferentes lotes de producción de los ingredientes #2, 3, 4 y 5, reveló un coeficiente de variación entre lotes (42,2; 29,9; 27,6 y 3,8 %, respectivamente, para el contenido de (-)-epicatequina) relativamente alto en el caso de los ingredientes #2, 3, 4, y bastante bajo para el ingrediente #5. Estos resultados indican cierta variabilidad tanto en la composición de la materia prima empleada (subproducto vinícola) como en las condiciones del proceso de elaboración que deberían estandarizarse. A diferencia de los monómeros, dímeros y trímeros, los oligómeros y polímeros de flavanoles con un grado de polimerización medio (GPM) >5 unidades no presentan resolución o separación mediante HPLC en fase inversa debido al elevado número de posibles isómeros. Sin embargo, la des-

polimerización en medio ácido y en presencia de tolueno-*a*-tiol (tiólisis) seguida de análisis por HPLC-DAD, permite la diferenciación de las subunidades terminales de las procianidinas liberadas como monómeros [(+)-catequina, (-)-epicatequina y (-)-epicatequina-3-*O*-galato] y de las unidades de extensión liberadas como sus correspondientes derivados benziltioéter [(+)-catequina-benziltioéter-*cis*, (+)-catequina-benziltioéter-*trans*, (-)-epicatequina-benziltioéter y (-)-epicatechin-3-*O*-galato-benziltioéter (Monagas *et al.* 2003). La ausencia de unidades trihidroxiladas [(epi)gallocatechins] como unidades constitutivas de las cadenas poliméricas, las cuales son características de los hollejos y raspones, permitió determinar la autenticidad de los ingredientes como derivados reales de pepitas de uvas de *Vitis vinifera* L. La (-)-epicatequina fue la unidad constitutiva más importante, representando >50 % mol como subunidad de extensión (resultados no mostrados). En relación al contenido de procianidinas (PRO) y grado de polimerización medio (GPM) calculados según se indica en *Materiales y Métodos*, se encon-

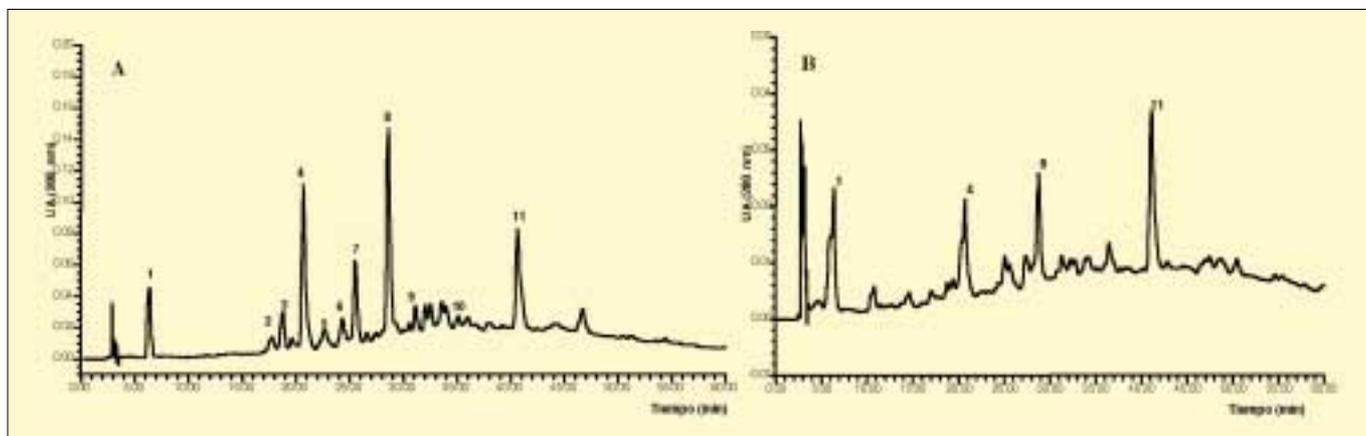


Figura 2. Cromatogramas de HPLC-DAD a 280 nm de los ingredientes #11 (A) y #12 (B) derivados de pepitas de *Vitis vinifera* L.



traron marcadas diferencias entre ingredientes (Figura 3). El contenido de PRO varió entre 48,8 y 606 mg/g (@12 veces) y los valores de Gpm entre 2,1 y 11,9 (Figura 3), indicando un alto grado de heterogeneidad en la fracción procianidínica de los mismos. Los valores de GmP encontrados para los ingredientes están de acuerdo con aquellos descritos por Prieur *et al.* (1994) para un extracto de procianidinas de pepitas de uvas.

Con el objetivo de completar la caracterización química de los ingredientes estudiados, se realizó un análisis de conglomerados (cluster) en función de las siguientes variables: ácido gálico,  $\Sigma$ monómeros,  $\Sigma$ dímeros,  $\Sigma$ trímeros, Gpm y PRO. Como resultado de la aplicación de este análisis, los ingredientes se separaron en dos grupos (Grupos 1 y 2) (Figura 4). Los ingredientes incluidos en el Grupo 1 (Subgrupo 1a: #5, 16; Subgrupo 1b: #2, 4, 7, 12, 13) se caracterizaron por un contenido monomérico bajo (1,16-88,4 mg/g), por la ausencia de dímeros y trímeros (#2, 4, 12, 13) y por un Gpm situado entre 6,5-11,2 (Tabla 1, Figura 3B). Por su parte, el Gru-

po 2 incluyó ingredientes (Subgrupo 2a: #10; Subgrupo 2b: #1, 3, 6, 8-11, 14, 15) con un contenido monomérico más elevado (105-499 mg/g) y con un Gpm más bajo (2,1-5,7) (Tabla 1, Figura 3B). Prieur *et al.* (1994) encontraron un Gpm  $\approx$  10 para un extracto de procianidinas de pepitas, con un largo de cadena que variaba entre 2 y 20 unidades, siendo la fracción oligomérica de Gpm  $\approx$  4,7 la más abundante (60%), seguida de otra fracción con un Gpm  $\approx$  15-17. Los resultados encontrados en el presente trabajo indican que los ingredientes de pepitas estudiados están constituidos por fracciones ricas en monómeros, oligómeros o polímeros de flavanoles, sugiriendo que se están empleando técnicas de purificación muy diversas para la elaboración comercial de estos ingredientes.

### 1.2. Capacidad antioxidante

Se encontraron diferencias marcadas (aproximadamente de 10 veces) en la capacidad antioxidante de los ingredientes de pepitas estudiados, lo cual está de acuerdo con las diferencias en su composición fenólica. Los

valores de ORAC se encontraron en el intervalo de  $2,71 \pm 0,35$  (ingrediente #13) a  $26,4 \pm 1,8$  (ingrediente #10)  $\mu\text{mol TE/mg}$  (Figura 5). En general, los valores ORAC encontrados para los ingredientes de pepitas fueron más elevados que los encontrados para las pepitas de uva no procesadas (ORAC =  $2.107 \mu\text{mol TE/mg}$  peso seco) (Monagas *et al.*, 2005b). Atendiendo a la capacidad antioxidante, las 16 marcas de ingredientes pudieron clasificarse en tres grupos: grupo 1 (ingredientes #2, 4, 7, 12 y 13) presentando valores de ORAC bajos ( $< 10 \mu\text{mol TE/mg}$ ); grupo 2 (ingredientes #1, 3, 5, 6, 9, 11 y 14) con valores de ORAC medios ( $\geq 10 \mu\text{mol TE/mg}$  y  $< 20 \mu\text{mol TE/mg}$ ), y grupo 3 (ingredientes #8, 10, 15 y 16) presentando valores de ORAC elevados ( $\geq 20 \mu\text{mol TE/mg}$ ). Estas diferencias entre marcas de ingredientes explican en parte la variabilidad encontrada por Dávalos *et al.* (2004) en la capacidad antioxidante ( $0,018$ - $3,18 \mu\text{mol TE/mg}$ ) de suplementos dietéticos comerciales elaborados a partir de ingredientes de pepitas de uva de *Vitis vinifera* L. empleando la misma metodología ORAC.

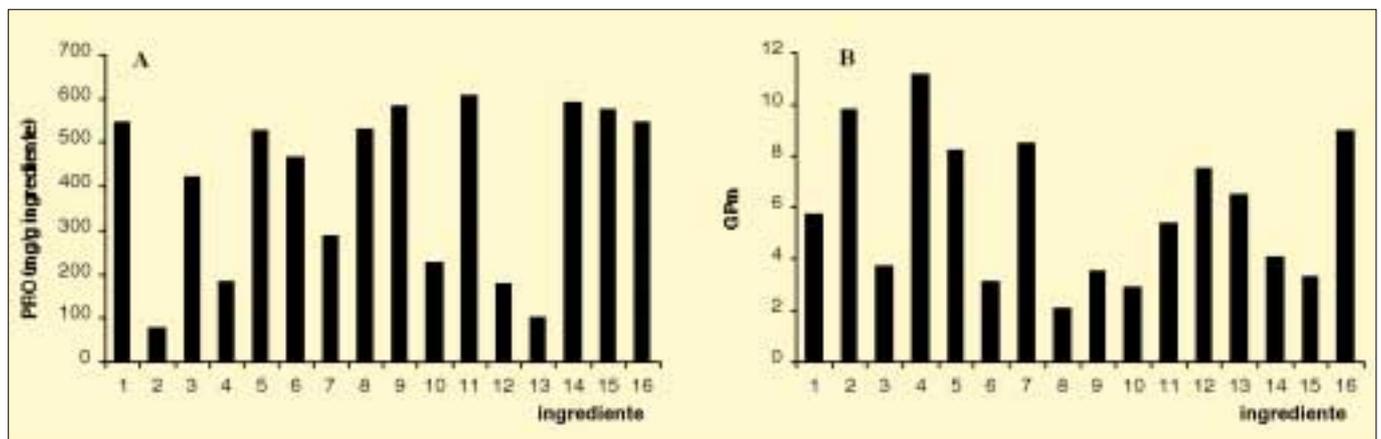


Figura 3. Concentración de proantocianidinas (PRO) (A) y valores de Gpm (B) en los ingredientes de pepita de uva.

Considerando el papel que juega la estructura química en las propiedades bioactivas de los compuestos fenólicos, se procedió a determinar la relación existente entre la capacidad antioxidante (valores ORAC) y la composición fenólica de los ingredientes dietéticos de pepitas. Primeramente se realizó un análisis de correlación, encontrándose una correlación significativa ( $p < 0,05$ ) y positiva entre los valores de ORAC y la mayoría de las variables analizadas [(-)-epicatequina ( $r = 0,7842$ ), B3 ( $r = 0,7715$ ), ácido gálico ( $r = 0,7463$ ), (+)-catequina ( $r = 0,7338$ ), B1 ( $r = 0,7246$ ), (-)-epicatequina-3-*O*-galato ( $r = 0,6968$ ), C1 ( $r = 0,6856$ ), B3'-*O*-galato ( $r = 0,6571$ ), B4 ( $r = 0,6372$ ), and PRO ( $r = 0,6168$ )], con la excepción de la correlación ORAC vs GPM que también fue significativa pero negativa mDP ( $r = -0,6384$ ), indicando que los ingredientes constituidos por fracciones de procianidinas con elevado GPM debían presentar una menor actividad antioxidante y viceversa. Una vez confirmada la existencia de correlación entre los valores de ORAC y la composición fenólica de los ingredientes, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple por pasos sucesivos con la finalidad de encontrar las variables fenólicas individuales que proporcionaban el

mejor modelo para predecir o explicar la capacidad antioxidante. El modelo resultante:

$$\text{ORAC} = 0,2368 + 0,0829 \text{ [(-)-epicatequina]} + 0,0290 \text{ (PRO)} - 0,9138 \text{ (T2)} + 0,7134 \text{ (ácido gálico)}$$

explicó un 95% de la variación de la capacidad antioxidante ( $R^2 = 0,949$ ). El error estándar de la estimación fue de 1,935 (13,8% del valor promedio de la variable dependiente). Todos los coeficientes de regresión fueron significativamente diferentes de cero ( $p < 0,01$ ). Los resultados de estos análisis estadísticos sugieren que además del ácido gálico, los monómeros, oligómeros y polímeros de flavanoles también son responsables de la actividad antioxidante de los ingredientes estudiados. En otras palabras, la capacidad antioxidante de estos ingredientes no se puede definir por única variable sino por la combinación de varias de ellas.

## 2. Ingredientes procedentes de hollejos y orujos de uva

### 2.1. Caracterización fenólica

En los ingredientes derivados de hollejo y orujo de uva de *Vitis vinifera* L. se identificaron los siguientes compuestos antociá-

nicos por HPLC-DAD/ESI-MS: antociandín-3-glucósidos [delfinidín (1), cianidín (2), petunidín (3), peonidín (4) y malvidín (5)], -3-(6-acetyl)-glucósidos [delfinidín (6), cianidín (8), petunidín (9), peonidín (10) y malvidín (11)], -3-(6-cafeoil)-glucósidos [peonidín (13) y malvidín (14)], y -3-(6-*p*-cumaryl)-glucósido [delfinidín (12), petunidín (15), peonidín (16) y malvidín (17)] (Figura 6). También se identificaron derivados antociánicos resultantes de la cicloadición C-4/C-5 de los antocianos con el ácido pirúvico [malvidín-3-glucósido piruvato, (7)], con vinilflavonoles [malvidín-3-(6-acetil)-glucósido-vinilepicatequina (19) y malvidín-3-glucósido-vinilepicatequina (20)], y con 4-vinilfenoles y/o ácidos hidroxicinnámicos [malvidín-3-glucósido-vinilcatecol (18), malvidín-3-glucósido-vinilfenol (21), y malvidín-3-glucósido-vinilguayacol (22)]. El pico 23, el cual eluyó durante la fase de lavado de la columna con metanol, correspondió a pigmentos poliméricos.

La ausencia de antociandín-3,5-diglicósidos en todos los ingredientes estudiados también se confirmó por HPLC-DAD/ESI-MS, indicando la autenticidad de los ingredientes como derivados de órganos y tejidos de *Vitis vinifera* L. y no de otras especies de uva (Monagas *et al.*, 2005a). Se

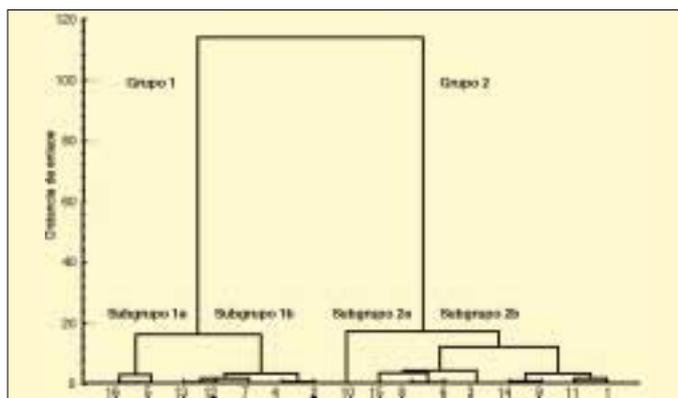


Figura 4. Dendrograma resultante de la aplicación del análisis cluster a los ingredientes de pepitas de uva.

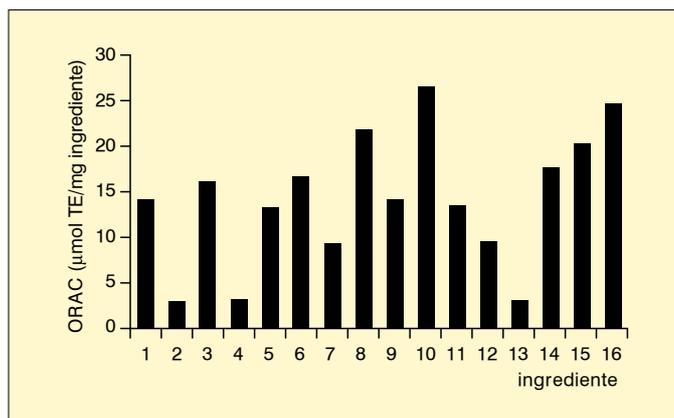


Figura 5. Capacidad antioxidante (ORAC) de los ingredientes de pepitas de uva.

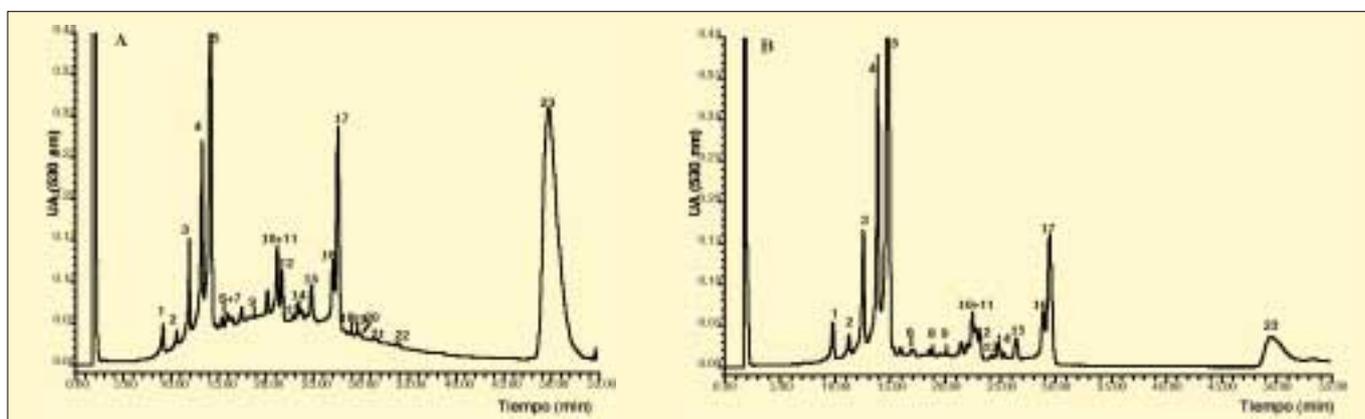


Figura 6. Cromatogramas de HPLC-DAD a 530 nm de los ingredientes #1 (A) y #2 (B) derivados de hollejos de *Vitis vinifera* L.

encontraron dos perfiles antociánicos diferentes entre los ingredientes (Figura 6). Como era de esperar, los ingredientes #5-10, derivados del orujo, contenían tanto antocianos originarios de la uva como derivados antociánicos (Figura 6A), mientras que los ingredientes #2 y 4 derivados de hollejos solamente contenían los primeros (Figura 6B). Sin embargo, los ingredientes #1 y 3, que pertenecían a este último grupo (i.e. hollejo no procesado) de acuerdo al etiquetado del producto, también presentaron derivados antociánicos, indicando o bien que el ingrediente no fue realmente elaborado a partir de hollejo como estaba etiquetado, o que otros factores relacionados con el proceso de elaboración (i.e., extracción, calentamiento, fraccionamiento, secado, etc.) pudieran haber favorecido el desarrollo de ciertas reacciones de condensación entre los antocianos y otros fenoles presentes en el material. Los antocianidín-3-glucósidos presentaron las concentraciones más elevadas en todos los ingredientes estudiados (Tabla 2). El malvidín-3-glucósido fue el pigmento más abundante, característica común de la especie *Vitis vinifera* spp (Tabla 2). En general, la concentración de las diferentes antocianinas individualizadas varió considerablemente entre los ingredientes derivados de la misma fuente (hollejo y orujo) (Tabla 2). En el caso de ingredientes derivados de hollejos, las muestras #2 y 4 presentaron una concentración de malvidín-3-glucósido más elevada [9533 (valor medio entre lotes) y 10571 µg/g, respectivamente] que los ingredientes #1 y 3 [2831 (valor medio entre lotes) y 3595 µg/g, respectivamente]. En cuanto a los ingredientes derivados de orujo de uva suministrados en forma sólida (polvo), se encontraron grandes diferencias en la concentración antociánica de los ingredientes #5 y 6 (7561 y 1036 µg/g de malvidín-3-glucósido, respectivamente), mientras que para aquellos suministrados en forma de sirope, ingredientes # 7-10, las diferencias fueron menos pronunciadas [553,9 (#8)-1032 (#10) µg/g de malvidín-3-glucósido] (Tabla 2). La concentración de los derivados antociánicos identificados en estos ingredientes fue muy baja o a nivel de trazas (resultados no mostrados). El orujo de uva es un material muy heterogéneo (Schieber *et al.*, 2001). Además de las características varietales de la uva empleada,

otros factores relacionados con el proceso fermentativo (i.e., cepa de levadura y temperatura de fermentación) pueden afectar a la composición antociánica del orujo, influyendo en la formación de derivados antociánicos. Por otra parte, si este orujo es sometido a destilación después de la vinificación para producir etanol o destilados para bebidas, se añaden otros factores de variabilidad. Finalmente, las condiciones del proceso de producción empleado para

## Existen estudios que demuestran las actividades biológicas de los polifenoles de la uva

transformar estas materias primas en ingredientes comerciales también determinarán la composición final del producto. Así, en el ingrediente #1, la composición antociánica de sus lotes reveló grandes diferencias entre ellos. Por ejemplo, la concentración de malvidín-3-glucósido, varió entre 488,0 (lote #5) y 6584 (lote #1) µg/g (Tabla 2). Además, se encontraron diferencias en la distribución porcentual de las diferentes antocianinas (por ejemplo, malvidín-3-glucósido representó entre un 28 y 50% del total de antocianos), evidenciando que el perfil antociánico no era el mismo

Ing/Lote	DG	CG	PtG	PnG	MG	Dac+ Mpy	PnAc+ MAc+ DCum	PnCaf	MCaf	PtCum	PnCum	MCum	
1	1	385,3	138,3	785,7	2303	6584	tr	1023	52,38	156,3	102,7	513,7	1150
	2	104,6	40,69	250,4	355,2	1890	tr	353,7	14,22	52,78	136,5	201,7	720,7
	3	231,8	90,71	659,6	824,4	4612	tr	661,5	36,44	157,2	266,5	419,7	1590
	4	30,11	16,33	65,91	135,3	581,6	tr	220,4	6,179	20,75	53,57	97,83	276,1
	5	22,0	12,6	46,6	91,1	488,0	tr	383,9	6,027	25,98	58,25	99,62	501,0
2	1	504,0	224,1	1326	2701	9473	tr	1265	80,42	246,7	283,0	759,4	2222
	2	514,7	229,1	1347	2744	10332	tr	1286	62,16	255,4	320,2	728,8	2407
	3	451,5	204,0	1203	2451	9213	tr	1163	70,15	222,5	277,6	783,7	2171
	4	465,2	203,4	1201	2427	9116	tr	1150	67,41	214,9	273,6	755,8	2137
3	513,7	123,6	707,5	817,6	3595	467,9	1234	tr	41,27	123,2	198,4	474,4	
4	571,3	199,6	1252	3905	10571	tr	1228	nd	211,5	141,1	711,3	1551	
5	373,1	79,34	747,8	896,2	7561	347,6	3004	nd	205,3	125,4	305,4	975,8	
6	48,76	28,54	63,49	105,0	1036	77,82	163,5	nd	14,46	108,9	38,33	318,9	
7	145,0	24,02	221,2	41,99	684,7	18,30	109,7	tr	57,19	104,8	25,85	304,1	
8	103,9	22,46	138,0	35,8	553,9	28,42	85,45	tr	12,71	54,28	10,52	162,1	
9	190,6	45,51	169,4	328,2	898,5	tr	39,80	tr	9,558	37,23	47,67	170,8	
10	229,1	54,14	198,4	382,0	1032	tr	14,90	nd	32,70	50,83	31,21	88,69	

**Tabla 2.** Concentración antociánica de los ingredientes de hollejo (1-4) y orujo de uvas (5-10).

\*Expresado como µg de malvidín-3-glucósido/g de ingrediente. En el caso de los ingredientes # 7-10, los resultados se expresan como mg of malvidín-3-glucósido/g de sólidos solubles (valor medio, n=3). **DG:** delphinidín-3-glucósido; **CG:** cianidín-3-glucósido; **PtG:** petunidín-3-glucósido; **PnG:** peonidín-3-glucósido; **MG:** malvidín-3-glucósido; **Dac+Mpy:** delphinidín-3-(6-acetil)-glucósido + malvidín-3-glucósido-piruvato; **CAC:** cianidín-3-(6-acetil)-glucósido; **PAc:** petunidín-3-(6-acetil)-glucósido; **PnAc+MAc+DCum:** Peonidín-3-(6-acetil)-glucósido + Malvidín-3-(6-acetil)-glucósido + Delphinidín-3-(6-p-cumaril)-glucósido; **PnCaf:** Peonidín-3-(6-cafeil)-glucósido; **MCaf:** Malvidín-3-(6-cafeil)-glucósido; **PtCum:** Petunidín-3-(6-p-cumaril)-glucósido; **PnCum:** Peonidín-3-(6-p-cumaril)-glucósido; **MCum:** Malvidín-3-(6-p-cumaril)-glucósido.

**tr:** trazas; **nd:** no detectado.

en cada lote de producción. Estas diferencias tan marcadas entre los lotes del ingrediente #1 pudieron deberse a variabilidades en la materia prima o en el proceso productivo, o a la combinación de ambos factores. El caso contrario se presentó en el ingrediente #2, ya que se encontraron diferencias muy pequeñas entre lotes, tanto en la concentración como en la distribución de los diferentes pigmentos: 9116-10332  $\mu\text{g/g}$  para el malvidín-3-glucósido, representando un 50-51% del total de antocianos de la muestra (Tabla 2).

## 2.2. Capacidad antioxidante

Los ingredientes de orujo de uva suministrados en forma sólida, ingredientes # 5 y 6, presentaron los valores ORAC más altos: 13,3 y 21,4  $\mu\text{mol TE/mg}$ , respectivamente (Figura 7A), debido posiblemente a la contribución de las pepitas de uva, las cuales son ricas en procianidinas. Por su parte, los ingredientes de orujo suministrados en forma de siropes, ingredientes # 7, 8, 9 y 10, presentaron valores ORAC mucho más bajos: 1,38-3,32  $\mu\text{mol TE/mg}$  de sólidos solubles (Figura 7B). Para los ingredientes derivados de hollejos de uva, ingredientes # 1-4, los valores ORAC se encontraron en un intervalo comprendido entre 2,23 y 6,32  $\mu\text{mol TE/mg}$  (Figura 7A); para estos últimos ingredientes se realizó un análisis de correlación ( $n=11$ ), encontrándose una correlación significativa ( $p<0,01$ ) entre los valores de ORAC y la concentración de los antocianidín-3-glucósidos de delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina. Sin embargo la correlación fue más pobre ( $p<0,05$ ) para las antocianinas aciladas [malvidín-3-(6-cafeil)-glucósido, petunidín-3-(6-*p*-cumaril)-glucósido y malvidín-3-(6-*p*-cumaril)-glucósido], con la excepción de peonidín-3-(6-*p*-cumaril)-glucósido que presentó un nivel de significación para  $p\leq 0,01$ . Por el contrario, en el caso de los ingre-



dientes de orujo sólidos ( $n=6$ ), no se encontró correlación entre los valores de ORAC y las antocianinas individuales. Considerando que la glicosilación de los antocianos reduce su actividad antioxidante en comparación con las correspondientes agliconas (Wang y Lin, 2000) que también se ha encontrado en otros tipos de fenoles, la acilación de los glucósidos también se espera que tenga alguna influencia en esta propiedad. Esto explicaría el menor nivel de significación encontrado en el caso de los ingredientes de hollejos para la correlación ORAC vs derivados acilados en comparación con la correlación ORAC vs glucósidos sencillos. De hecho, los resultados de la aplicación de un análisis de regresión lineal por pasos sucesivos para describir los valores de ORAC en función de los pigmentos individuales, mostraron que los antocianidín-3-glucósidos de cianidina y malvidina, fueron la primera y la segunda variables más explicativas, respectivamente. El modelo obtenido:  $\text{ORAC} = 2,574 + 0,42 (\text{Cianidín-3-glucósido}) - 0,001(\text{Malvidín-3-glucósido})$  presentó un coeficiente de determinación ( $R^2 = 0,879$ ) y una desviación estándar residual ( $s = 0,551$ ), que indicaba un error aceptable de estimación.

## 3. Actividades biológicas de los flavanoles y antocianos

Los ensayos *in vitro*, como el ORAC, son el punto de partida de los ensayos *in vivo* que deberán confirmar las actividades biológicas de los polifenoles y establecer los efectos beneficiosos en el organismo humano del consumo de alimentos ricos en estos compuestos. En la actualidad se admite que el estrés oxidativo, debido a la producción excesiva de radicales libres o especies reactivas de oxígeno, se asocia con diversos factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, como son la hipertensión, dislipidemia, diabetes y el hábito de fumar. Estas especies reactivas de oxígeno atacan a los lípidos, proteínas y DNA celular provocando daño a las membranas y orgánulos celulares. Así, la modificación oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (low-density lipoproteins, LDL) debido al estrés oxidativo da lugar a la disfunción endotelial generadora de la aterosclerosis. Las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos, es decir, la capacidad que tienen de interactuar con superóxidos y otras especies reactivas de oxígeno (i.e., radicales hidroxilo y peróxilo), constituye la hipótesis más ge-

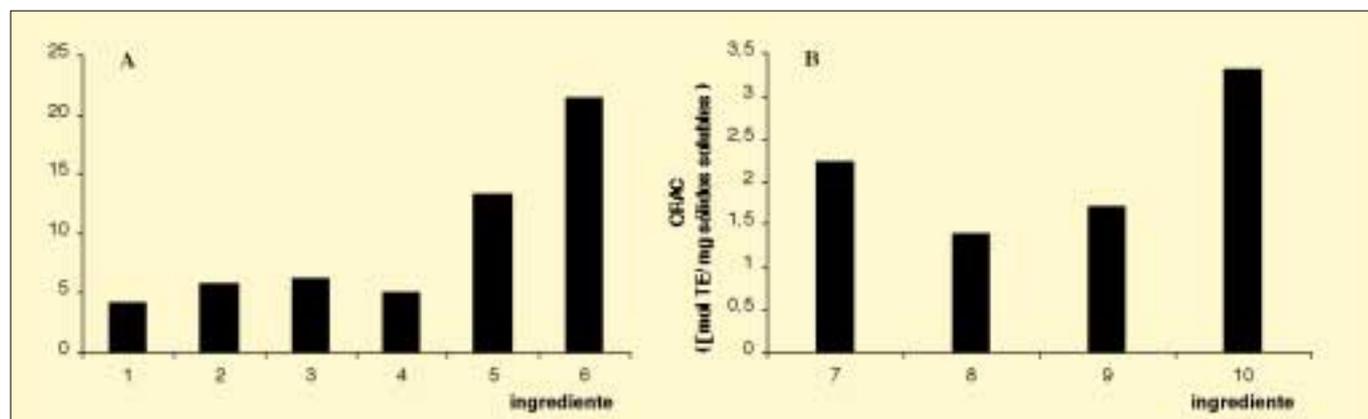
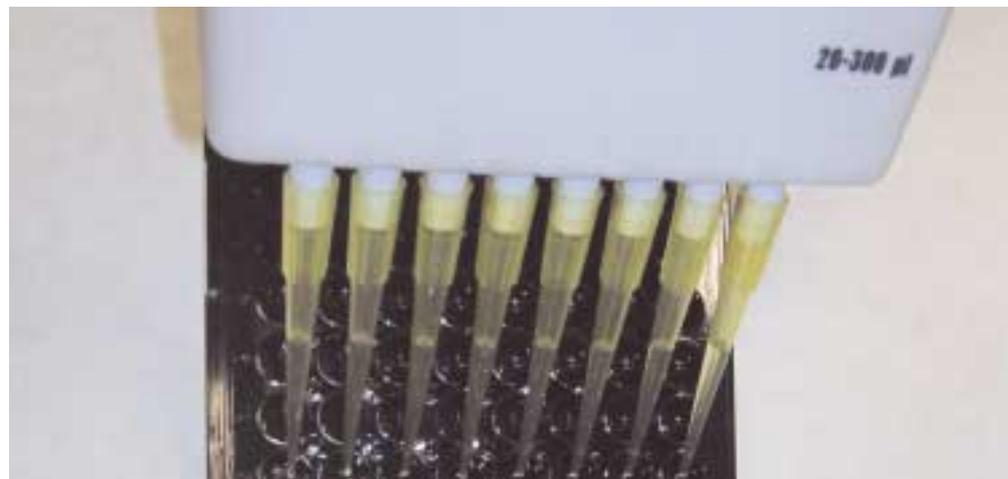


Figura 7. Capacidad antioxidante (ORAC) de los siguientes derivados de: (A) hollejo (1-4) y orujo (5,6) suministrados en forma sólida, y (B) orujo suministrados en forma de sirope (7-10).



neralizada para explicar los efectos beneficiosos de los polifenoles en enfermedades de tipo cardiovascular. Sin embargo, en los últimos años esta *hipótesis antioxidante* está siendo sustituida por una *hipótesis fisiológica*, fundamentada en los efectos de los polifenoles en la regulación redox celular, transducción de señales, y modulación de otros sistemas enzimáticos y genómicos (Williams *et al.*, 2004).

*In vivo*, la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de la uva y sus derivados, se refleja directamente en:

- El incremento en el nivel de glutatión total en ratas alimentadas con una dieta pobre en vitamina E y alta en colesterol, pero suplementada con procianidinas de pepitas de uva (Tebib *et al.*, 1997).

## Los efectos en la salud derivados del consumo de ingredientes fenólicos dependen de su biodisponibilidad

- La inhibición de la oxidación de las LDL en conejos, perros, monos y humanos por el consumo de mosto tinto, procianidinas de pepitas de uva y vino tinto (Yamakoshi *et al.*, 1999; Meyer *et al.*, 1997; Folts, 2002; Lasunción *et al.*, 2003).

- La disminución de la capacidad oxidativa de los neutrófilos circulantes en la sangre tras la ingesta de mosto tinto en humanos (Lasunción *et al.*, 2003).

- La reducción de especies reactivas de oxígeno y cardiomiocitos apoptóticos en el corazón de ratas isquémicas (Sato *et al.*, 2001) por la administración de procianidinas de uvas.

- La reducción de la producción de aniones superóxidos en macrófagos de ratas, y de la peroxidación lipídica en el hígado y el cerebro del mismo animal, así como en la protección frente a la fragmentación del DNA, por el consumo de procianidinas de

pepitas (Bagchi *et al.*, 1998).

Por otro lado, la hipótesis fisiológica se materializa en diversos efectos a nivel molecular. La modificación oxidativa de las LDL desencadena un proceso inflamatorio a nivel del endotelio de las arterias que estimula la producción de moléculas de adhesión endotelial y reprime la producción de NO, un importante mediador de la vasodilatación que a su vez reduce la agregación plaquetaria y limita el flujo de proteínas plasmáticas aterogénicas dentro de la arteria. Como consecuencia de la producción de moléculas de adhesión endotelial, los monocitos y leucocitos migran al subendotelio de las arterias y se acumulan por medio de proteínas como la MCP-1, pudiendo convertirse en macrófagos y evolucionar hasta células

espumosas, características de las lesiones ateroscleróticas. En este sentido, se ha encontrado que fraccio-

nes tanto de procianidinas como de antocianos modulan la expresión genética de las moléculas de adhesión endotelial, tales como la molécula de adhesión intravascular-1 (ICAM-1), la molécula de adhesión vascular-1 (VCAM-1) y la E-selectina (Kalin *et al.*, 2002; Rossi *et al.*, 2003), y de la MCP-1 (Feng *et al.*, 1999), y producen vasorelajación endotelial por medio del incremento de la generación de NO y/o de su propia actividad biológica (Fitzpatrick *et al.*, 2000; Andriambelason *et al.*, 1998). Se ha determinado que se requiere una mayor concentración de antocianos que de procianidinas oligoméricas para producir un mismo efecto vasorelajante (Fitzpatrick *et al.*, 2000; Andriambelason *et al.*, 1998). Además, los polifenoles del vino tinto afectan la producción de otros mediadores del tono vascular como son la prostaciclina (Derek *et al.*, 1997) y el factor de hiperpo-

larización derivado del endotelio (Ndiaye *et al.*, 2003), y reducen la síntesis de endotelin-1, un importante vasoconstrictor. Finalmente, los polifenoles del vino tinto inhiben la agregación plaquetaria, aunque se han encontrado resultados contradictorios acerca de la contribución de antocianos y procianidinas en este efecto (Demrow *et al.*, 1995; Rein *et al.*, 2000; Russo *et al.*, 2001). A nivel del metabolismo de lípidos, se ha visto que la ingesta de mosto tinto produce una disminución de los niveles plasmáticos de LDL y un aumento de HDL en humanos (Lasunción *et al.*, 2003). En hamsters, se ha encontrado una reducción de las concentraciones plasmáticas de colesterol y de triglicéridos (Auger *et al.*, 2002). Por su parte, Bouhamidi *et al.* (1998) describen una reducción de los ácidos grasos poliinsaturados en microsomas del hígado del ratón después de la ingesta continuada de procianidinas de pepitas de uva.

Los compuestos fenólicos de la uva poseen actividades antiviral (Takechi *et al.*, 1985), anticancerígena (Franke *et al.*, 2002); Uesato *et al.*, 2001; Weyant *et al.*, 2000) y antiúlcera (Saito *et al.*, 1998). Franke *et al.* (2002) han demostrado el efecto quimioprotector de la (+)-catequina contra el cáncer de colon en ratas. Según Uesato *et al.* (2001), la (-)-epicatequina galato y la (-)-epigallocatequina galato poseen mayor actividad anticancerígena que la (-)-epicatequina, en células cancerígenas hepáticas y del colon en ratas. Weyant *et al.*, (2000) encontraron que la (+)-catequina presentaba actividad antitumoral tanto en *in vitro* como *in vivo*. Saito *et al.* (1998) estudiaron la actividad antiúlcera de los extractos de procianidinas de uva en ratas demostrando que los oligómeros con un grado de polimerización entre 4-6 unidades, y no los monómeros, dímeros y trímeros presentaban esta actividad posiblemente debido a la habilidad que tiene los oligómeros de cadena larga de unirse a las proteínas del estómago.

En resumen, existen una gran cantidad de estudios *in vitro* e *in vivo* que demuestran las actividades biológicas de los polifenoles de la uva. Sin embargo, todos estos estudios concluyen a su vez en que la estructura química del flavanol/antociano condiciona su bioactividad. Consecuentemente, la actividad de un determinado ingrediente estará condicionada por la composición y concentración relativa de sus distintos componentes. En este sentido, los resultados aquí aportados definen los ingredientes dietéticos procedentes de la uva como mezclas complejas de polifenoles bioactivos: ácido gálico, monómeros, ga-

latos y oligómeros de flavanoles, en el caso de los ingredientes procedentes de pepitas, y antocianos glucosídicos, acetílicos, cinamílicos y derivados condensados, en el caso de los ingredientes procedentes del hollejos y orujos. Los protocolos analíticos desarrollados en este trabajo, como la aplicación de HPLC-DAD/ESI-MS y tiólisis-HPLC, permiten una caracterización química completa de la fracción polifenólica de estos ingredientes, de suma importancia para evaluar sus potenciales actividades fisiológicas.

#### 4. Biodisponibilidad de los flavanoles y antocianos

Los efectos en la salud derivados del consumo de ingredientes fenólicos dependen estrictamente de su biodisponibilidad (absorción, distribución, metabolismo y eliminación). El metabolismo de los flavanoles es similar al de muchos xenobióticos, a través del cual se hacen más hidrofílicos y de esa manera se limitan sus efectos tóxicos y se facilita su eliminación biliar y urinaria (Scalbert y Williamson, 2000). Los flavanoles no se degradan en las condiciones ácidas del estómago *in vivo* (Rios *et al.*, 2002). Los monómeros y las procianidinas diméricas se absorben directamente en el intestino delgado. Sin embargo, los oligómeros con un GPm >3 y los polímeros no pueden absorberse en su forma nativa y pasan al intestino grueso donde son degradados por la microflora intestinal. Durante el proceso de absorción, los polifenoles se conjugan en el intestino delgado y posteriormente en el hígado (Manach *et al.*, 2004). Este proceso incluye principalmente la metilación por la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT), la glucuronidación por la enzima UDP-glucuronosiltransferasa (UDPGT), y la sulfatación por la enzima sulfotransferasa (SULT). La capacidad de conjugación que tiene el organismo es alta, y por lo general, las "agliconas" (i.e., (epi)catequina no-conjugada) se encuentran ausentes en el plasma o en concentraciones muy bajas, después de la ingesta de dosis nutricionales de estos compuestos. Sin embargo, el sistema de conjugación puede saturarse cuando se administran dosis altas. Por lo general, los metabolitos glucuronidados son los que se encuentran en mayor concentración en plasma.

En el intestino grueso, los flavanoles que no se han absorbido en el intestino delgado (i.e., oligómeros con un GPm >3 y polímeros) son hidrolizados por la microflora intestinal. Se produce la rotura del anillo

heterocíclico central de los flavanoles dando lugar a fenilvalerolactonas y ácidos hidroxifenilpropiónicos que luego son metabolizados a ácidos benzoicos (Manach *et al.*, 2004). Estos metabolitos pueden absorberse y conjugarse con glicina, ácido glucurónico o sulfato. Posteriormente, los metabolitos fenólicos pueden penetrar en los tejidos aunque aún se desconoce su capacidad de acumulación. Finalmente, se eliminan por la orina y la bilis. Los metabolitos extensivamente conjugados tienen mayor probabilidad de eliminarse por la bilis, mientras que los pequeños (i.e., monosulfatos) se eliminan preferentemente por la orina. A través de la vía biliar, los metabolitos son segregados en el duodeno; posteriormente, ya en el intestino grueso, pueden hidrolizarse por la acción de enzimas bacterianas, especialmente b-glucuronidasa, para después ser reabsorbidos dando lugar a una circulación enterohepática. Estudios farmacocinéticos indican que después de la ingesta de 35 mg de catequina suministrado en forma de vino tinto, se alcanza una máxima concentración en plasma de 0,1 mmol/L de catequina a las 1,5 horas de la ingesta, eliminándose en la orina un 5% de la dosis ingerida (Manach y Donivan, 2004).

En comparación con los flavanoles, los antocianos se absorben más rápidamente pero con menor eficiencia. La máxima concentración en plasma se alcanza alrededor de las 1,5 horas y es del orden de 0,01-0,02 µmol/L después de la ingesta de 150 mg-2g de antocianos en forma de frutos o concentrados. También son eliminados rápidamente (2,5 h) encontrándose en proporciones muy bajas en orina (0,004-0,1% de la cantidad ingerida) (Manach y Donivan, 2004). Los estudios farmacocinéticos indican que la absorción de los antocianos puede empezar en el estómago. Hasta hace poco se pensaba que los antocianos eran diferentes a otras formas glicosiladas porque sólo se encontraban en su forma nativa en el plasma. Sin embargo, recientemente se han identificado sus formas glucuronizadas y sulfatadas en la orina por medio de HPLC-MS/MS (Felgines *et al.*, 2003). Por otro lado, las cianidinas pueden metilarse a peonidinas para convertirse en peonidín glucurónico (Wu *et al.*, 2002).

Lo anteriormente expuesto indica que la biodisponibilidad de flavanoles está sujeta a su grado de polimerización, lo que repercute de forma importante en los posibles efectos sobre la salud derivados del consumo de los suplementos dietéticos elaborados con los ingredientes de pepitas

como los estudiados, debido al amplio intervalo de GPm (2,1-11,9) encontrado en los mismos. Es de esperar que estos ingredientes de pepitas, enriquecidos en monómeros y con GPm relativamente bajo (i.e., ingredientes incluidos en el Grupo 2 de la Figura 4) tengan mejor absorción en el organismo y, por tanto, que ejerzan en él mayores efectos que los que se incluyen en el Grupo 1, que presentan un bajo contenido en monómeros y un GPm más elevado. En este último caso, los efectos sobre la salud se verían limitados a la posible actividad local que los polímeros pudieran ejercer en el tracto gastrointestinal o a alguna actividad mediada por los ácidos fenólicos producidos por la degradación microbiana que ocurre en el intestino grueso. Las concentraciones plasmáticas y la eliminación urinaria de estos metabolitos pueden ser más elevadas que las alcanzadas en los tejidos, especialmente para los polifenoles de la uva que están altamente polimerizados.

Debido a la rápida absorción y metabolismo de los antocianos, ya indicada, los posibles efectos beneficiosos para la salud derivados del consumo de antocianos sólo serán evidentes con dosis elevadas de alimentos ricos en estos compuestos. Sin embargo, la concentración total de antocianos (2,00-20,3 mg/g) encontrada en los ingredientes derivados de hollejos y orujo es relativamente baja. Esto debe tenerse en consideración a la hora de elaborar suplementos dietéticos basados únicamente en estos ingredientes funcionales.

En resumen, en esta memoria se recogen los resultados y las implicaciones del que pensamos es el estudio más extenso y profundo reportado en la bibliografía, sobre la composición polifenólica de ingredientes dietéticos procedentes de *Vitis Vinifera* L. La capacidad antioxidante determinada por métodos *in vitro* confirma la bioactividad potencial de estos ingredientes, si bien la caracterización química se hace necesaria para determinar otras potenciales actividades fisiológicas y su grado de biodisponibilidad.

#### Bibliografía

- Andriambelison, E.; Magnier, C.; Haan-Archipoff, G.; Lobstein, A.; Anton, R.; Beretz, A.; Stoclet, J.C.; Andriantsitohaina, R. *J Nutr.* 1998, 128: 2324-2333.
- Auger, C.; Caporiccio, B.; Landrault, N.; Teissedre, P.L.; Laurent, C.; Cros, G.; Besancon, P.; Rouanet, J.M. *J Nutr.* 2002, 132: 1207-1213.
- Bagchi, D.; Garg, A.; Krohn, R.L.; Bagchi, M.; Bagchi, D.J.; Balmoori, J.; Stohs, S.J. *Gen Pharm.* 1998, 30: 771-776.
- Bouhamidi, R.; Prevost, V.; Nouvelot, A. *Life Sci.* 1998, 321: 31-38.
- Dávalos A, Gómez-Cordovés C, and Bartolomé B. *J Agric Food Chem.* 2004, 52: 48-54.

Demrow, H.S.; Slane, P.R.; Folts, J.D. *Circulation*. 1995, 91: 1182-1188.

Derek, D.; Pearson, D.A.; German, J.B. *J Nutr Biochem*. 1997, 8: 647-651.

Felgines, C.; Talavera, S.; Gonthier, M.P; Texier, O.; Scalbert, A.; Lamaison, J.L.; Remesy, C. *J Nutr*, 2003, 133: 1296-1301.

Feng, A.N.; Chen, Y.L.; Chen, Y.T.; Ding, Y.Z.; Lin, S.J. *Circulation*. 1999, 100: 2254-2259.

Fitzpatrick, D.F.; Fleming, R.C; Bing, B.; Maggi, D.A.; O'Malley, R. *J Agric Food Chem*. 2000, 48: 6384-6390.

Folts, J.D. *Adv Exp Med Biol*. 2002, 505: 95-111.

Franke, A.A.; Custer, L.J.; Cooney, R.V.; Tanaka, Y.; Xu, M.; Dashwood, R.H. *Adv Exp Med Biol*. 2002, 505: 123-133.

Gonzalez-Paramas, A.M.; Esteban-Ruano, S.; Santos-Buelga, C.; De Pascual-Teresa, S.; Rivas-Gonzalo, J.C. *J Agric Food Chem*. 2004, 52: 234-238.

Joshi, K.J.; Hu, F.B.; Manson, J.E.; Stampfer, M.J.; Rimm, E.B.; Speizer, F.E.; Colditz, G.; Ascherio, A.; Rosner, B.; Spiegelman, D.; Willett, W.C. *Ann Int Med*. 2001, 134: 1106-1114.

Kalin, R.; Righi, A.; Del Rosso, A. et al. *Free Rad Res*, 2002, 36, 819-825.

Lasunción, M.A.; Castilla, P.; Echarrí, R.; Ortega, H.; Teruel, J.L. *Clin Nutr*. 2003, 22: S20.

Liu, S.; Manson, J.E.; Lee, I.M.; Cole, S.R.; Hennekens, C.H.; Willett, W.C.; Buring, J.E. *Am J Clin Nutr*. 2000, 72: 922-928.

Manach, C.; Donovan, J. *Free Rad Res*. 2004, 38: 771-785.

Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. *Am J Clin Nutr*. 2004, 79: 727-47.

Mennen, L.I.; Sapinho, D.; de Bree, A.; Arnault, N.; Bertrais, S.; Galan, P.; Hercberg, S. *J Nutr*. 2004, 92: 963-972.

Meyer, A.S.; Yi, O.; Pearson, D.A.; Waterhouse, A.L.; Franke, E.N. *J Agric Food Chem*. 1997, 45: 1638-1643.

Monagas, M.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B.; Laureano, O.; Ricardo Da Silva, J. M. *J. Agric. Food Chem*. 2003, 51, 6475-6481.

Monagas, M.; Bartolomé, B.; Gómez-Cordovés, C. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2005a, 45: 85-118.

Monagas, M.; Hernández-Ledesma, B.; Garrido, I.; Martín-Alvarez, P.J.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B. *Nutr Cancer*. 2005b, 53: 244-254.

Monagas, M.; Garrido, I.; Bartolomé, B.; Gómez-Cordovés, C. *Anal Chim Acta*. 2006a, 563: 401-410.

Monagas, M.; Hernández-Ledesma, B.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B. *J Agric Food Chem*. 2006b, 54: 319-327.

Moure, A.; Cruz, J.M.; Franco, D.; Dominguez, J.M.; Sineiro, J.; Dominguez, H.; Nuñez, M.J.; Parajo, J.C. *Food Chem*. 2001, 72: 145-171.

Ndiaye, M.; Chataigneau, T.; Andriantsitohaina, J.C.S.; Schini-Kerth, V.B. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 310: 371-377.

Prieur C.; Rigaud J.; Cheyrier V.; Moutounet, M. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochem*. 1994, 36, 781-784.

Rapaka, R.S.; Coates, P.M. *Life Sci*. 2006, 78: 2026-2032.

Rein, D.; Paglieroni, T.G.; Pearson, D.A.; Wun, T.; Schmitz, H.H.; Gosselin, R.; Keen, C.L. *J Nutr*, 2000, 130: 2120S-2126S.

Renaud, S.C.; De Lorgeril, M. *Lancet*. 1992, 339. 1523-1526.

Rios, L.Y.; Bennett, R.N.; Lazarus, S.A.; Remesy, C.; Scalbert, A.; Williamson, G. *Am J Clin Nutr*. 2002, 76 : 1106-1110.

Rossi, A.; Serraino, I.; Dugo, P.; Di Paola, R.; Mondello, L.; Genovese, T.; Morabito, D.; Dugo, G.; Sautebin, L.; Caputi, A.P.; Cuzzocrea, S. *Free Rad Res*. 2003, 37: 891-900.

Russo, P.; Tedesco, I.; Russo, M.; Russo, G.L.; Venezia, A.; Cicala, C. *Nutr Metab Cardiovas Dis*, 2001, 11: 25-29.

Saito, M.; Hosoyama, H.; Ariga, T.; Kataoka, S.; Yamaji, N. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 1460-1464.

Sato, M.; Bagchi, D.; Tosaki, A.; Das, D.K. *Free Rad Biol Med*. 2001, 31: 729-737.

Scalbert, A.; Williamson, G. *J Nutr*. 2000, 130, 2073S-2085S.

Schieber, A.; Stintzing, F.C.; Carle, R. *Trends Food Sci Tech*. 2001, 12: 401-413.

Shrikhande, A.J. *Food Res Int*. 2000, 33: 469-474.

Takechi M.; Tanaka Y.; Nonaka G.I.; Nishioka I. *Phytochem*. 1985, 24: 2245-2250.

Tebib, K.; Rouanet, J.M.; Besancon, P. *Food Chem*. 1997, 59: 135-141.

Torres, J.L.; Varela, B.; Garcia, M.T.; Carilla, J, Matito, C.; Centelles, J.J.; Cascante, M.; Sort, X.; Bobet, R. *J Agric Food Chem*. 2002, 50: 7548-7555.

Uesato, S.; Kitagawa, Y.; Kamishimoto, M.; Kumagai, A.; Hori, H.; Nagasawa, H. *Cancer Letters*. 2001, 170: 41-44.

Valiente, C.; Arrigoni, E.; Esteban, R.M.; Amado, R. *J Food Sci*. 1995, 60: 818.

Vivas, N.; Nonier, M.F.; Vivas de Gaulejac, N.; Absalon, C.; Bertrand, A.; Mirabel, M. *Anal Chim Acta*. 2004, 513, 247-256.

Wang, S.Y.; Lin, H. *J Agric Food Chem*. 2000, 48: 140-146.

Weyant, M.J.; Carothers, A.M.; Bertagnolli, M.M. *Surgery Forum Abstracts*. 2000, 191: S89.

Williams, R.J.; Spencer, J.P.; Rice-Evans, C. *Free Radic Biol Med*, 2004, 36: 838-849.

Wu, X.; Cao, G.; Prior, R.L. *J Nutr*, 2002, 132: 1865-1871.

Yamakoshi, J.; Kataoka, S.; Koga, T.; Ariga, T. *Atherosclerosis*. 1999, 142: 139-149.

**NUEVA GENERACIÓN  
DE FOTÓMETROS  
NOVA**



**Nuevo sistema de ópticas**

- Sin partes mecánicas ni móviles.
- Filtros en técnica diodo array con haz de referencia.
- Todo controlado por un completo software.

**DISTRILAB**



**DISTRIBUIDORES PARA  
LABORATORIOS, S.L.**

e-mail: [distrilab@retemail.es](mailto:distrilab@retemail.es)  
Telf. 968 50 66 48 - Fax 968 52 99 01  
Av. Berlín - H - 3 Políg. Ind. Cabezo Beaza  
30395 CARTAGENA (Murcia)

**La revolución en el análisis del agua**

- Sencilla operación con función AUTO-SELEC (código de barras).
- Portátil, con batería incorporada (opcional).
- Fácil actualización de nuevos métodos mediante un Memochip.
- Medidas simultáneas para correcciones de turbidez.
- Sistema incorporado de Control de Calidad. Analítico Conformidad GLP.

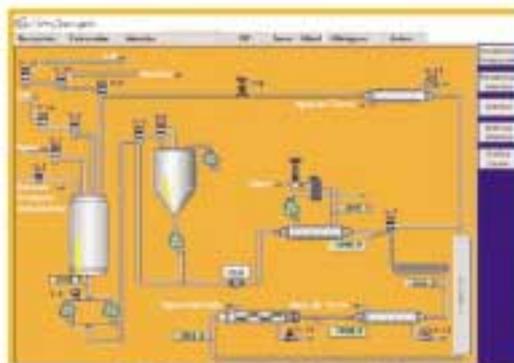
**2 modelos**

- NOVA 30: • 6 filtros.
- Sólo acepta tests Spectroquant en cubetas.
  - No es programable con nuevos métodos.
- NOVA 60: • 12 filtros.
- Acepta test Spectroquant en cubetas y reactivos.
  - Programable con nuevos métodos.

# Gémima<sup>®</sup>

*"Soluciones a la medida de sus necesidades"*

Automatización



Pasteurización



Intercambiadores



Plantas Asépticas

**Simón Ingeniería, S.L.**

Polígono Industrial Los Romerales - Parc. 3 y 4 - 30520 Jumilla - Murcia - España

Teléfono: + 34 968 716 018 - Fax: + 34 968 780 682

[gemina@gemina.es](mailto:gemina@gemina.es) [www.gemina.es](http://www.gemina.es)

Líderes en diseño y fabricación de sistemas para la industria alimentaria

# La importancia de un correcto pretratamiento en un sistema de ósmosis inversa - 1.<sup>a</sup> parte

ARTÍCULO PUBLICADO EN LA REVISTA "TECNOLOGÍA DEL AGUA" - SEPTIEMBRE 2005  
ANDREU PUJADAS NIÑO, INGENIERO INDUSTRIAL, DIRECTOR TÉCNICO STENCO Y DEPTO. TÉCNICO DE COBET, TRATAMIENTO DEL AGUA, S.L.



*La aplicación práctica de la tecnología de la ósmosis inversa es realmente fácil y las instalaciones deberían funcionar sin grandes problemas. La real dificultad se presenta en el pretratamiento y acondicionamiento adecuado del agua antes de entrar al sistema de membranas. En el presente artículo se enumeran el conjunto de problemas más habituales que puede presentar un agua, de salinidad media o baja, para su correcto tratamiento en un sistema de ósmosis inversa y también se van enumerando los pretratamientos más habituales para contrarrestarlos. De todo ello se concluye la necesidad de disponer de un buen laboratorio que permita hacer un completísimo análisis del agua a tratar y un sistema de seguimiento de los sistemas una vez están funcionando.*



Un sistema de ósmosis constructivamente es realmente simple. A nadie se le puede hacer difícil disponer un sistema de bombeo que impulse a unas condiciones establecidas de caudal y presión, según indican los resultados de los programas de cálculo que facilitan los fabricantes de membranas. Tampoco debe ser un problema acoplar mecánicamente un conjunto de recipientes a presión, con el sistema de bombeo previsto. Sin embargo no es tan fácil prever cuáles serán las condiciones del agua dentro del sistema. Son muchos y muy diversos los elementos y compuestos que puede tener el agua que se pretende tratar, la cual al concentrarse en el interior de los módulos tendrá un importante cambio en su equilibrio químico. El riesgo de que se puedan producir problemas de precipitación, incrustación o ensuciamiento será muy elevado.

La ejecución de un adecuado pretratamiento es el condicionante más importante para conseguir el perfecto funcionamiento de una instalación de ósmosis inversa, así como su correcta explotación y mantenimiento. Siempre será imprescindible modificar y acondicionar el agua antes de que llegue a las membranas, para minimizar cualquier riesgo de problema. También se deben evitar o eliminar todos los elementos que puedan hacer disminuir el rendimiento de las membranas o deteriorarlas de forma irreversible.

Todas las partículas, coloides y en general cualquier elemento en suspensión que exista en el agua, es una fuente potencial de ensuciamiento interior del módulo y obturación de poros, pero también pueden ser causa de desgaste y roturas por rozamiento.

Así mismo la concentración de sales rompe el equilibrio químico del agua que se procesa y se pueden producir precipitaciones e incrustaciones. Debe tenerse muy presente que en el interior de los mó-

dulos hay zonas, concretamente alrededor de la membrana donde la concentración de sales es incluso superior a la del agua de rechazo. Esta concentración es la denominada concentración de polarización, la cual tienen muy en cuenta los fabricantes de membranas en sus programas de cálculo de sistemas.

La primera conclusión es que es imprescindible un conocimiento exhaustivo de todo lo que lleva el agua, tanto en disolución como en suspensión, para lo que la disposición de un potente laboratorio de análisis se convierte en una necesidad para poder tomar las medidas oportunas.

A continuación se exponen las principales causas que pueden dar lugar a problemas y la formas básicas de combatirlos.

Siempre nos referiremos a problemas que se puedan dar al tratar aguas de normal suministro de redes municipales o po-

## Un adecuado pretratamiento del agua es fundamental para el funcionamiento de una instalación de ósmosis

zos con salinidades bajas, medias o altas. No se incluyen los problemas que se producen en los sistemas para el tratamiento de agua de mar.

### Ensuciamiento por coloides y partículas en suspensión

En el agua puede haber partículas en suspensión que por su tamaño pueden ser visibles como granos de arena, pero puede haber partículas muy finas que no sean apreciables a simple vista. También puede haber coloides, que son partículas que sin estar en solución no llegan a estar en suspensión y su presencia puede crear serios problemas.

Los procesos de filtración permiten eliminar las partículas no coloidales prácticamente en su totalidad y parte de las coloidales.

No está claro cuál es el tamaño de los coloides pero puede decirse que oscila entre 0,3 y 1 micras y puede afirmarse que poseen una cierta carga negativa.

Los coloides atraen iones positivos de la solución creando una capa compacta de distinto signo a su alrededor que a su vez dará lugar a una nueva capa de distinto signo, pero ya muy debilitada, lo que le da una cierta estabilidad y provoca que no exista atracción alguna entre ellos y por tanto no coagulen. Si la salinidad es muy alta la estabilidad de los coloides disminuye.

En el interior de los módulos puede haber alta concentración de coloides y una elevada salinidad alrededor de las membranas. El fenómeno que suele ocurrir es que, debido a la salinidad, se produzca su desestabilización y consecuente coagulación y precipitación sobre su superficie. Para minimizar los problemas de atasca-

miento por coloides es imprescindible controlar y reducir al máximo su contenido.

Los dos parámetros que provocan la coagulación de coloides son su concentración y su grado de estabilidad.

La estabilidad puede determinarse en el potencial Z, que es una medida de carga eléctrica que cuanto más negativo sea el potencial más inestables serán los coloides.

Una idea de concentración puede determinarse mediante el índice de atascamiento S.D.I., (Silt Density Index), que es un test estandarizado que consiste en la medición de la obturación que tiene un filtro de 0,45 micras a unas condiciones específicas de presión constante y entre unos parámetros de tiempo determinados.

Se ha comprobado que generalmente existe cierta relación entre las determina-



ciones citadas. A potencial Z más negativo corresponde menor SDI.

Otra determinación que permite dar una idea del riesgo de ensuciamiento de las membranas es la turbidez, que consiste en la determinación de las propiedades del medio en absorber la luz. Su expresión más habitual en la actualidad son las Unidades Nefelométricas de Turbidez (NTU).

No puede establecerse una relación directa entre NTU y SDI, pero los fabricantes de módulos de ósmosis inversa recomiendan que el agua llegue a las membranas, tenga una turbidez inferior a 1 NTU y el SDI sea inferior a 3. A pesar de conseguirse y mantener estas precauciones no existe una total garantía de que no habrá problemas de ensuciamiento.

Habitualmente las aguas de pozo en principio no dan problemas por coloides, ya que es habitual que el SDI sea inferior a 2. Sin embargo, las aguas superficiales acostumbran a dar grandes problemas por este concepto. Su SDI puede ser superior a 10 ó 15 e incluso en ocasiones no es posible medirlo por bloquearse rápidamente las membranas de 0,45 micras que se utilizan para realizar el test.

Los pretratamientos para reducir los problemas por atascamiento coloidal irán siempre enfocados a disminuir el SDI eliminando en lo posible los coloides.

Cuando el SDI es inmedible puede hacerse necesario establecer una coagulación para conseguir que se establezcan los coloides, seguida de una floculación para que se aglutinen formando partículas de mayor tamaño para su posterior filtración. En general, para conseguir que el agua llegue a las membranas en condiciones, con un SDI más pequeño se precisará una filtración sobre arena, hidroantracita, filtro multicapa, multilecho, etc. Ayudada o no por una coagulación y/o floculación.

Se ha comprobado que puede ser efectiva una coagulación en línea con una fil-

tración. Existen sistemas dobles de filtración de probada efectividad, en ellos se coagula en línea antes del primer filtro y se flocula también en línea antes del segundo filtro. Si los problemas pasan a ser muy graves puede ser necesario disponer sistemas de microfiltración.

En la actualidad existen polielectrolitos catiónicos que pueden sustituir la utilización del conjunto coagulante-floculante pero su utilización es altamente peligrosa. Son muy efectivos para la desestabilización y floculación de los coloides, pero su eliminación puede no ser total en los filtros y su presencia en el agua crea problemas de muy difícil solución, si llegan a las membranas.

Las membranas de poliamida actuales tienen una cierta carga negativa, por lo que la presencia de un floculante catiónico provoca un ensuciamiento muy estable y de difícil eliminación.

También debe vigilarse la utilización de coagulantes y el carácter iónico de los inhibidores que se utilicen, ya que el conjunto de ambos puede formar unos complejos cuya precipitación sobre las membranas puede ser de muy difícil eliminación.

La conclusión es clara. Es imprescindible que las partículas en suspensión con-

## Los dos parámetros que provocan la coagulación de coloides son concentración y grado de estabilidad

tenidas en el agua de alimentación a las membranas de ósmosis inversa sean eliminadas y no es fácil encontrar el sistema óptimo para su eliminación.

En todos los sistemas de ósmosis inversa se establece como último paso del pretratamiento y previo a la entrada a la alimentación de las bombas de alta presión una filtración fina, llamada de seguridad, con filtros de cartucho de 1 ó 5 micras. Siempre, todos los sistemas de ósmosis llevan este tipo de filtración.

El ensuciamiento de las membranas por coloides generalmente puede eliminarse mediante limpiezas químicas, para lo que pueden ser necesarios tanto productos ácidos como alcalinos y complementados siempre con detergentes.

### Problemas de ataque químico de las membranas

La presencia de algún compuesto o elemento químico concreto en el agua puede dar lugar a un proceso de ataque progresivo de la membrana, que la deteriore de una forma irreversible.

Las membranas actuales más habituales son de poliamida, por lo que la acción de oxidantes puede ser causa de su degradación.

El oxígeno libre que se puede llegar a encontrar en el agua, incluso alcanzando valores de saturación no crea ningún problema en las membranas que actualmente hay en el mercado. En todo caso puede dar lugar a algún problema de forma indirecta, como podría ser la oxidación de hierro si lo hay, lo que daría lugar a algún problema consecuente de ensuciamiento.

Otros oxidantes muy habituales en el agua pueden ser el permanganato y muy

especialmente el cloro. Es imprescindible su eliminación, previo al contacto con la membrana.

Las poliamidas aromáticas utilizadas para fabricar las membranas actuales tienen cierta resistencia al cloro que puede cifrarse entre 2.000 y 3.000 p.p.m.; ha pesar de esto, es necesario disponer todos los sistemas y resortes necesarios para proceder a su total eliminación. En el caso de utilización de poliamidas alifáticas, su resistencia al cloro es nula.

Aunque sean de poca utilización, debe decirse que las membranas de polisulfona y las de acetato de celulosa o acetato triacetato, no tienen problema alguno frente a los oxidantes. Sin embargo, estas últimas se ven muy afectadas por el pH ya que si éste es algo alcalino se produce su hidrólisis y consecuente descomposición.

La eliminación del cloro es habitual que se realice con la acción de algún reductor, siendo el más habitual es bisulfito sódico. Su uso está muy extendido ya que además tiene un importante carácter bacteriostático y de ser dosificado en exceso es positivo para el sistema.

La utilización del carbón activo también está extendida para esta aplicación, pero debe vigilarse su uso ya que siendo efectivo para eliminar el cloro puede dar lugar a problemas de crecimiento bacteriano, ya que por su propia estructura porosa, el carbón es un lecho de fácil proliferación. Por el contrario, tiene otras características positivas como son su facilidad de retener compuestos orgánicos y cloraminas. La presencia de trihalometanos que no serían retenidos por las membranas por su bajo peso molecular pueden ser retenidos por el carbón activo.

En condiciones normales los elementos o compuestos que puedan atacar a las membranas no deben ser más que los citados más arriba. Sin embargo debe prestarse especial atención a que no se incorpore de forma no controlada algún compuesto, aunque sea en cantidades bajas, que se esté utilizando como complemento, catalizador o similar, en alguno de los productos que se utilicen para el acondicionamiento previo antes de entrar en el sistema.

También se deben vigilar muy especialmente los productos que se utilizan en los procesos de limpieza de membranas, concretamente cuando se precisa utilizar algún oxidante como el ácido peracético o peróxido de hidrógeno

Los problemas de ataque químico a las membranas tienen consecuencias irreversibles, por lo que no existen sistemas de limpieza que puedan devolverles sus características originales.

### Precipitación de carbonato cálcico

Los bicarbonatos están presentes en la mayoría de aguas naturales debido a la facilidad de disolución del carbonato cálcico en las corrientes subterráneas y superficiales o a la presencia del dióxido de car-

bono en el aire. Es bastante frecuente que las aguas naturales estén cerca de su saturación en cuanto a bicarbonato disuelto. Al concentrarse esta agua en los sistemas de ósmosis, en principio el carbonato cálcico será una de las sales que tendrán un alto riesgo de precipitación.

Esta capacidad potencial de precipitación se puede determinar a través del índice de Langelier en el agua de rechazo y su expresión es.

$$LSI = pH - pH_s$$

Donde  $pH_s$  es el pH al que el agua está saturada de carbonato cálcico. Es decir que si LSI es positivo habrá precipitación y por tanto debe mantenerse negativo para garantizar que no haya riesgo de precipitación.

El valor del pH de saturación ( $pH_s$ ) se determina de la forma siguiente:

$$pH_s = (9,3 + A + B) - (C + D)$$

Donde el factor A depende de la salinidad:

$$A = 1/10((\log TDS) - 1)$$

El factor B es función de la temperatura del agua:

$$B = 13,12 \log ( ^\circ C + 273 ) + 34,55$$

El factor C es función del contenido en calcio:

$$C = \log ( Ca^{++} \text{ como } CaCO_3 ) - 0,4$$

El factor D es función del contenido en bicarbonatos:

$$D = \log ( TAC \text{ como } CaCO_3 )$$

Siendo el TAC el Título Alcalimétrico Completo.

Tal como nos muestra el gráfico 1 el pH de un agua es función del equilibrio existente entre  $CO_2$  y los Bicarbonatos.

Con el auxilio del gráfico 1 podemos conocer cual será el pH previsible en el agua de rechazo.

El contenido en  $CO_2$  del agua de rechazo será igual al del agua de alimentación y al del permeado ya que la membrana no rechaza gases, mientras que el contenido en bicarbonatos será función de la conversión que se establezca y de lo que rechace la membrana.

La determinación del índice de Langelier del agua de rechazo será siempre una determinación a efectuar cuando se calcula un sistema y deberá hacerse a partir de los datos que se disponen, que son el agua de alimentación, el rechazo de sales de la membrana y las condiciones de conversión que se establezcan en el sistema. Conocidas las condiciones indicadas se debe determinar el pH que tendrá el agua de rechazo.

El índice de Langelier pierde exactitud cuando la salinidad del agua es elevada y en estos casos se hace la determinación a través del índice de Stiff-Davis. Cuando la salinidad del agua es superior a los 5.000 mg/l sólo se utiliza este índice

$$S\&D\text{I} = pH - pCa - pAlk - K$$

Donde:

pCa es el logaritmo negativo de la concentración molar de calcio.

pAlk es el logaritmo negativo de la concentración molar de bicarbonatos.

K es una constante cuyo valor depende de la temperatura y la fuerza iónica tal como indica el gráfico 2.

Para evitar el problema de precipitación calcárea se puede acidificar el agua a tratar. Disminuyendo el pH se pueden alcanzar valores negativos del índice de Langelier, por tanto, el agua tendrá una tendencia a cierta agresividad y desaparecerá su tendencia incrustante.

Los ácidos más utilizados para esta aplicación son el sulfúrico y el clorhídrico. A parte de la economía y comodidad, la utilización de sulfúrico tiene también la ventaja de permitir obtener mejor calidad de permeado ya que los sulfatos, al ser iones bivalentes, tienen un porcentaje de rechazo superior a los cloruros, que son monovalentes. Por contra, en ocasiones puede ocurrir que sea imprescindible la utilización de clorhídrico, para no aumentar el contenido en sulfatos. También se puede acidificar mediante la adición de carbónico.

Otro sistema que se utiliza para evitar la precipitación de carbonato cálcico es la descalcificación mediante resinas de intercambio iónico. Este sistema sólo es justificable cuando se trata de plantas pequeñas y con durezas de agua no muy elevadas. Este sistema resulta económicamente algo caro, ya que debe descalcificarse el agua de rechazo, además del agua de permeado.

Hay muchas ocasiones que pueden justificar la descalcificación, como puede ser la seguridad, la posibilidad de estabiliza-

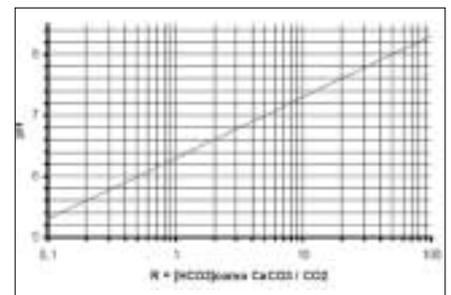


Gráfico 1. Relación pH - Contenido en Bicarbonatos /  $CO_2$ .

ción de coloides, la calidad a obtener del agua permeada, la eliminación del riesgo de precipitación de otras sales, como el sulfato cálcico.

También se había utilizado la adición de hexametáfosfato sódico. La adición adecuada de HMP en un agua a osmotizar permite trabajar con índices de Langelier positivos, sin riesgo a precipitación. El uso de fosfatos como inhibidores de precipitación se halla en total retroceso, ya que han sido ampliamente desplazados por los inhibidores formulados en base a fosfonatos y poliácridatos. En general puede utilizarse prácticamente cualquier tipo de inhibidor, pero teniendo siempre en cuenta los posibles problemas que pueda plantear, de ataque a las membranas, contaminación o polución del agua de rechazo, etc.

### Precipitación de sulfato cálcico

El bajo producto de solubilidad de sulfato cálcico, al producirse una concentración tal como sucede en el flujo de rechazo, da lugar al importante riesgo de precipitación. Debe resaltarse especialmente que de producirse el problema se crea una incrustación muy consistente cuya eliminación no es fácil con sistemas de limpieza convencionales.

El producto de solubilidad del sulfato cálcico es:

$$K_{s}(\text{CaSO}_4) = 6,4 \cdot 10^{-5}$$

Realmente el producto de solubilidad es el producto de las concentraciones de iones que disueltos expresados en moles, es decir:

$$K_{s}(\text{CaSO}_4) = [\text{Ca}^{++}] \cdot [\text{SO}_4 =]$$

La cantidad de moles que pueden haber en solución será:

$$c = [\text{Ca}^{++}] = [\text{SO}_4 =] \text{ y por tanto } K_{s}(\text{CaSO}_4) = c^2$$

Es decir que la concentración de sulfato cálcico máxima que puede haber de  $c = 8 \cdot 10^{-3}$  mol/l

lo que en gramos representan

$$136 \cdot 8 \cdot 10^{-3} \text{ gramos/litro} = 1,088 \text{ g/l}$$

y por tanto teniendo en cuenta los pesos



de los iones  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{SO}_4 =$  los pesos respectivos de los mismos serían:

$$\text{Ca}^{++} = 1,088 \cdot 40 / 136 = 0,320 \text{ g/l y } \text{SO}_4 = 1,088 \cdot 96 / 136 = 0,768 \text{ g/l}$$

Por tanto el producto de solubilidad expresando las concentraciones en g/l sería  $K_{s1}(\text{CaSO}_4) = [\text{Ca}^{++}] \cdot [\text{SO}_4 =] = 3,2 \cdot 10^{-1} \cdot 7,68 \cdot 10^{-1} = 2,4576 \cdot 10^{-1}$

Si en el agua de alimentación hay por ejemplo un contenido en sulfatos de 300 mg/l y estamos trabajando con un sistema cuya conversión es el 75%, tendríamos en el rechazo una concentración 4 veces superior (1.200 mg/l). Por tanto si aplicamos los resultados obtenidos en la última expresión la concentración máxima de calcio para que no hubiese precipitación será:

$$2,4576 \cdot 10^{-1} / 1,200 = 2,048 \cdot 10^{-1} \text{ g/l} = 204,8 \text{ mg/l}$$

que en la alimentación deberían ser cuatro veces menor, es decir 51,2 mg/l.

No se ha tenido en cuenta la concentración de polarización que haría que estas cantidades sean más desfavorables, mientras que por el contrario tampoco se ha tenido en cuenta la fuerza iónica de la solución debida al conjunto de sales que puede haber disueltas en ella que favorece que el producto de solubilidad sea más elevado.

A pesar de lo indicado, es evidente que con los valores relativamente bajos de sulfatos el riesgo de problemas de precipitación es elevado.

En principio si no se estableciera ningún sistema para contrarrestar el proble-

ma, el producto iónico del sulfato cálcico en el agua de rechazo debería mantenerse siempre en valores inferiores a 0,8 veces el producto de solubilidad, para que no existieran posibles problemas de precipitación. En la actualidad existen inhibidores de precipitación que permiten rebasar estas cifras con facilidad.

Los programas de cálculo tanto de fabricantes de membranas como de productos inhibidores de precipitación permiten controlar la situación y tomar las medidas oportunas en cada caso.

Siempre es importante considerar recursos alternativos o complementarios a la utilización de inhibidores. Por ejemplo reducir la conversión para obtener un contenido salino menor, en el rechazo. Si es necesario acidificar y estamos cerca de una zona de precipitación, es recomendable que la acidificación se efectúe con ácido clorhídrico, con ello no se aumenta el nivel de sulfatos. Una última medida a considerar como pretratamiento es la descalcificación por resinas de intercambio iónico, sistema con el que se elimina la presencia de calcio y, por tanto, se evita la precipitación de los correspondientes sulfatos.

Debe advertirse que el precipitado de sulfato cálcico siempre es difícil de destruir. Por tanto la limpieza de membranas colmatadas por este problema es realmente difícil. Si cuando se plantea la intervención, la incrustación ha sido importante, puede llegar a ser un problema irreversible.

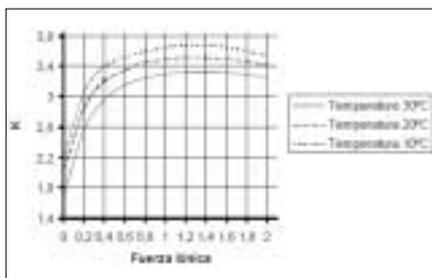
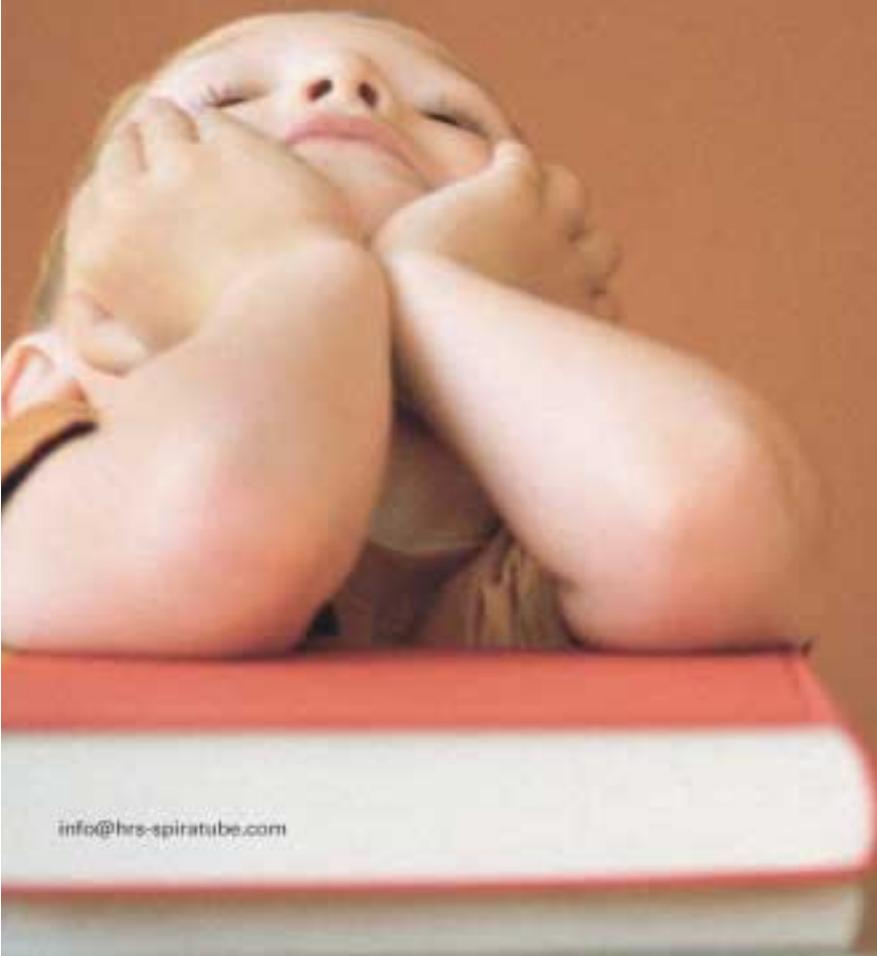


Gráfico 2. Valores de K función de la fuerza iónica y la temperatura.



¿cómo metes una calabaza  
en un brik de sopa?

ÁLEX. 5 años



#### ¿Y SI UN DÍA TODO FUERA ASÍ DE FÁCIL?

Imaginate que un buen día  
encuentras una sencilla solución.  
Que empiezas a ver el mundo  
con otros ojos, con una sonrisa.  
Que todo es más fácil, hasta lo  
que antes resultaba imposible.  
Que los problemas terminan  
antes de empezar.

Ese día puede ser hoy mismo.  
En HRS Spiratube creamos  
soluciones en procesos  
industriales que simplifican  
la producción de diferentes  
sectores. Miramos al futuro.  
Nos acercamos a él para  
disfrutarlo.

**Así de fácil.**

# Estudio a escala planta piloto de una nueva tecnología para el tratamiento de aguas residuales

MERCEDES LLORÉNS, ANA BELÉN PÉREZ-MARÍN, M<sup>ª</sup> ISABEL AGUILAR, JUAN FORTUÑO, JOSÉ SÁEZ Y VÍCTOR F MESEGUER  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA. FACULTAD DE QUÍMICA. UNIVERSIDAD DE MURCIA. CAMPUS DE ESPINARDO. 30071 MURCIA. ESPAÑA



*En este trabajo se presentan los resultados obtenidos de la aplicación a escala piloto de una nueva tecnología para el tratamiento de aguas residuales. Esta tecnología, denominada depuración simbiótica®, combina un sistema de depuración natural y subterráneo con la generación de zonas verdes sobre la superficie de la planta. Presenta bajos costes de construcción y mantenimiento debido a la simplicidad de sus elementos constructivos y a la baja demanda de energía. La depuradora consta de dos partes claramente diferenciadas: la zona de depuración y la zona de cultivo. La zona de depuración está formada por un lecho de grava y el agua residual a tratar se aplica a través de una red de goteros subterráneos colocados sobre la grava. La zona de cultivo se sitúa sobre la de depuración y está compuesta por un sustrato arenoso. El proceso global de depuración consta de un número de etapas de tratamiento en serie que depende de la carga orgánica del agua residual a tratar. Para aguas residuales urbanas se necesita un pretratamiento seguido de cuatro fases.*



**S**e han construido dos plantas piloto con diferentes configuraciones. La primera trata 8 l/h y está formada por cuatro columnas en serie de 30 cm de diámetro. En la otra configuración las etapas de tratamiento están colocadas una sobre la otra (disposición vertical), tiene una superficie de 0,585 m<sup>2</sup> y trata 48 l/h. Ambos sistemas se han aplicado al tratamiento del agua residual generada en el Campus de Espinardo de la Universidad de Murcia. En ambas plantas el efluente cumple la Directiva 91/271/CEE.

## Introducción

Debido a que tan sólo una pequeña porción del agua total del mundo resulta aprovechable para la vida terrestre, es imprescindible optimizar el uso del agua, por ello, es de vital importancia que una vez utilizada deba ser tratada para su reutilización posterior. Esto es especialmente importante en zonas áridas con escasa pluviometría como es el caso de la Región de Murcia (SE de España). Hoy en día existen distintas tecnologías para el tratamiento de las aguas residuales. Entre ellas destacan las tecnologías de bajo coste, que se caracterizan por tener facilidad de operación y mantenimiento, un equipamiento sencillo, bajos costes energéticos y además proporcionan un efluente de una calidad muy adecuada para la reutilización agrícola. Actualmente existen en el mercado diferentes

tecnologías de depuración con bajos costes de implantación y mantenimiento, entre las que se puede citar: el lagunaje (Alamancos et al., 1999), los sistemas de aplicación al terreno (tanto las aplicaciones superficiales como las subsuperficiales) (Crites y Tchobanoglous, 2000; Reed et al., 1995), los humedales (Crites y Tchobanoglous, 2000; Reed et al., 1995), etc.

La **depuración simbiótica**<sup>®</sup> es una tecnología innovadora, que combina un sistema de depuración natural, subterráneo y por goteo, para cualquier tipo de agua residual de naturaleza orgánica, con la generación de áreas verdes sobre la superficie de la depuradora, desarrollándose ambas en perfecta armonía. El desarrollo de esta tecnología es muy reciente y está todavía en fase de experimentación, por lo que la información disponible acerca de ella es todavía muy escasa. Una de sus posibles aplicaciones es el tratamiento de aguas residuales de pequeños núcleos de población (Lloréns et al., 2004). Los antecedentes de la depuración simbiótica podrían situarse en la tecnología de los filtros percoladores, aunque su funcionamiento, en lo que a la aireación se refiere, no es exactamente como el de la citada tecnología.

Una planta de depuración simbiótica consta de dos partes claramente diferenciadas: la zona de depuración y la zona de cultivo (figura 1).

La **zona de depuración** está constituida por un lecho de grava, de 120 a 150 cm

de profundidad, que se aísla del terreno mediante la correspondiente base impermeable. El agua residual se aplica mediante una red de goteros subterráneos, colocados en el interior de tuberías de drenaje, sobre la grava, para provocar su percolación a través de la misma. Una vez alcanzada la base impermeable, el agua residual, ya depurada, discurre por gravedad hacia los puntos de vertido, almacenamiento o bombeo, para su reutilización en otras superficies.

En todo momento el lecho permanece no saturado de agua, es decir, en presencia de aire, para que las aguas residuales se depuren en condiciones aerobias. Debido a ello el efluente de la planta está nitrificado (Lloréns et al., 2004).

La **zona de cultivo** se sitúa sobre la de depuración y está formada por un sustrato generalmente arenoso, de unos 30 a 50 cm de espesor, según la capacidad radicular del cultivo que se desee implantar, y de la permeabilidad del propio sustrato.

En función de la carga orgánica de las aguas residuales que se pretenda depurar, la depuración simbiótica precisa más o menos fases desarrolladas en serie, de tal forma que una fase necesita aproximadamente 0,4 m<sup>2</sup> por cada m<sup>3</sup>/día de agua que se quiera depurar. Si se utiliza esta tecnología como tratamiento terciario sólo se necesitaría 1 fase; si se trata de depuración integral de aguas residuales urbanas sería necesario un pretratamiento y 4



Figura 1.- Esquema del módulo de depuración.

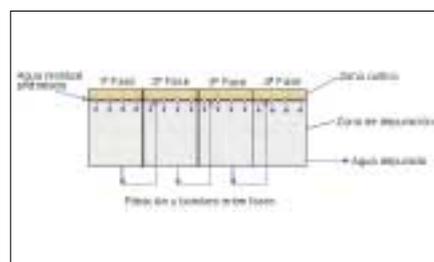


Figura 2.- Disposición horizontal de las fases de tratamiento

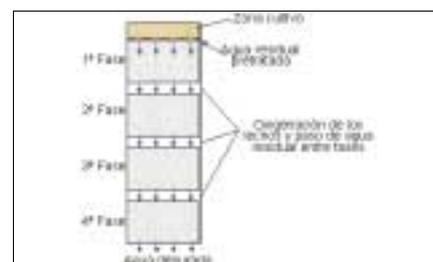


Figura 3.- Disposición vertical de las fases de tratamiento



fases. Conforme aumente la carga del agua a tratar deberá aumentarse el número de fases de tratamiento.

Las fases de tratamiento pueden organizarse según diferentes configuraciones; se puede colocar una fase a continuación de la otra (figura 2) o bien una sobre la otra (figura 3).

La disposición horizontal de las fases exige el bombeo y filtración del agua residual entre fases con el consiguiente coste energético, sin embargo la depuración es algo más efectiva. La disposición vertical tiene un coste energético menor, por no tener bombes entre fases, y la necesidad de superficie es bastante menor, sin embargo la depuración es algo menos efectiva que en la distribución horizontal.

Hay que tener en cuenta que en muchas ocasiones la superficie que se necesita para la instalación de una depuradora es un obstáculo importante para que se pueda llevar a cabo la obra. Con la distribución vertical de cuatro fases, tal y como se aprecia en las figuras 2 y 3, se requiere una superficie cuatro veces menor que en la distribución horizontal y puede ser una solución cuando haya poca disponibilidad de superficie.

Algunas de las ventajas que presenta esta tecnología respecto a otros sistemas de depuración son las siguientes:

a) Gran aumento del rendimiento hidráulico del sistema de depuración: la superficie verde simbiótica sólo capta un 2%

del total del agua aplicada, cantidad inferior a la que se pierde por evaporación en otros sistemas de depuración.

b) Aumenta la calidad de las aguas tratadas: las condiciones de oxigenación y de flujo en el lecho de percolación son permanentes e idóneas para la masa biótica encargada de la depuración.

c) La producción de fangos es muy pequeña, no genera olores desagradables, ni aerosoles: provocando una gran aceptación social y, por tanto, elimina uno de los mayores problemas de los sistemas de depuración actuales.

d) Permite construir un invernadero, jardín, campo de golf..., sobre su superficie: lo que conlleva una valorización en términos económicos y sociales de la depuración.

e) Presenta menores costes de implantación y mantenimiento: debido a la sencillez de los elementos constructivos y a los bajos requerimientos energéticos. La oxigenación es espontánea y no precisa de elementos externos para ello (soplantes, sistemas de difusión de oxígeno, etc...) que tienen un elevado consumo de energía.

f) En este tipo de depuración no se desarrollan bacterias filamentosas, por lo que no presenta problemas de bulking, foaming, etc.

g) Arranque rápido de la planta tras su puesta en marcha inicial y tras un periodo de inactividad.

h) No necesita personal con un elevado nivel de cualificación para la gestión y

explotación de este tipo de depuradora.

Existen algunas experiencias previas en la utilización de esta tecnología:

- Tratamiento terciario de aguas residuales en Quart-Benager (Valencia), realizada por la Entidad de Saneamiento de la Generalidad Valenciana bajo la superficie de un campo de golf, y en El Raal (Murcia) por la Empresa Municipal de Aguas de Murcia.

- Depuración integral de aguas residuales urbanas en Golf Altorreal (urbanización del municipio de Molina de Segura, Murcia) y en el Campus de la Universidad de Murcia (Lloréns et al., 2004; Portero, 2004; Díaz, 2004).

- Tratamiento integral de aguas residuales urbanas con alta carga procedente de vertidos industriales (EDAR Calasparra, Murcia) por la Entidad de Saneamiento y Depuración de la Región de Murcia (ESAMUR).

- Tratamiento de los purines de cerdo generados en una granja ubicada en Fuente Álamo (Murcia), por convenio entre FADESPORM y la Dirección General de Ganadería de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (Portero, 2004).

- Tratamiento de las aguas residuales generadas en la Estación de Servicio BP-Omega (Espinarado) (Plazas, 2006).

- A iniciativa de la Confederación Hidrográfica del Segura, se han construido dos pequeñas plantas de depuración simbiótica. Una para el tratamiento del agua

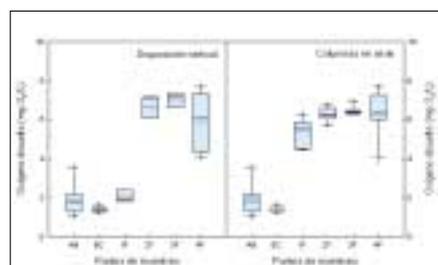


Figura 6.- Variación del contenido de oxígeno disuelto a lo largo del tratamiento

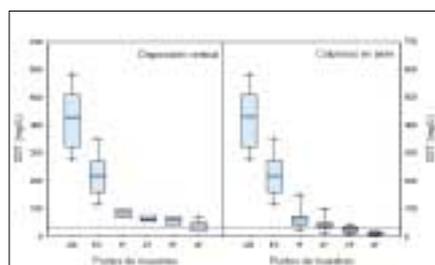


Figura 7.- Evolución del contenido de SST a lo largo del tratamiento.

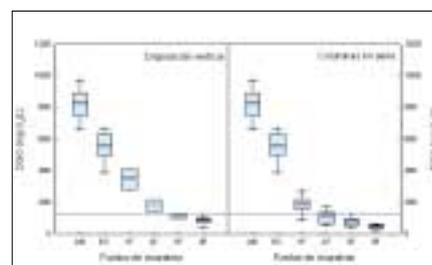


Figura 8.- Evolución de la DQO a lo largo del tratamiento

residual generada por las viviendas ubicadas junto al pantano del Cenajo (Murcia) y otra en La Casa del Agua, junto al pantano de Santomera (Murcia).

- Recientemente la Entidad de Saneamiento y Depuración de la Región de Murcia (ESAMUR) ha financiado la construcción de una planta para tratar 500 m<sup>3</sup>/día en el Campus de Espinardo de la Universidad de Murcia.

En este trabajo se presentan los resultados de la aplicación de la depuración simbiótica al tratamiento de las aguas residuales del Campus de Espinardo de la Universidad de Murcia. Para ello se han construido dos plantas piloto con diferente distribución de las fases de tratamiento. La primera presenta una disposición horizontal de las etapas de tratamiento y está formada por cuatro columnas en serie de 30 cm de diámetro y trata un caudal de 8 l/h. La otra planta piloto presenta una disposición vertical de las fases de depuración, tiene una superficie de 0,585 m<sup>2</sup> y recibe un caudal de 48 l/h. El objetivo es comprobar si el efluente de ambas plantas cumple con los requisitos establecidos en la Directiva 91/271/CEE.

## Material y métodos

### Descripción de las plantas piloto

El agua residual generada por los distintos centros universitarios ubicados en el Campus de Espinardo de la Universidad de Murcia es sometida a un pretratamiento que consta de una reja de desbaste de gruesos, y dos tamices rotativos en serie de 0,5 y 0,25 mm de paso. Antes de su entrada en las plantas piloto de depuración simbiótica, el agua es decantada y filtrada a través de un filtro de anillas de 130 micras de paso.

**Disposición horizontal:** consta de cuatro columnas de 30 cm de diámetro dispuestas en serie. La zona de depuración consta de un lecho de grava (carbonatada, partida, sin lavar y con un tamaño de 12-30 mm) de unos 120 cm de profundidad y está aislada del terreno mediante una base impermeable. Sobre la zona de depuración está la zona de cultivo, formada por una capa de arena de sílice (con granulometría de 0,5 a 1 mm) de unos 30 cm de espesor. Entre ambas zonas están colocados 2 goteros de 4 l/h cada uno. El flujo del agua residual es descendente saliendo de la columna por su parte inferior. La carga volumétrica que recibe esta planta es 0,113 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·h. La figura 4 (foto portada) muestra una vista de las cuatro columnas de depuración simbiótica.

El agua residual pretratada se distribuye por gravedad a través de la primera fase de tratamiento mediante los goteros subterráneos, percolando a través del lecho de grava hasta que alcanza la base impermeable. El agua que sale de esta primera fase se bombea a la fase siguiente, previa filtración con otro filtro de anillas de la misma luz indicada. El agua de salida de la cuarta fase es el efluente ya depurado.

**Disposición vertical:** consta también de cuatro fases de tratamiento dispuestas una sobre la otra. Tiene una superficie de 0,585 m<sup>2</sup>. La primera fase tiene una profundidad de 20 cm y las tres restantes de 40 cm, y todas ellas están formadas por grava de las mismas características que en la disposición horizontal. Sobre la primera fase de depuración se sitúa la zona de cultivo compuesta de una capa de arena de sílice de 20 cm de espesor. Entre ambas zonas están colocados 12 goteros de 4 l/h cada uno. Entre cada dos fases de tratamiento hay un espacio de 5 cm que permite la difusión del oxígeno atmosférico hacia la zona de depuración. El flujo del agua residual es descendente saliendo del sistema por su parte inferior. La última fase de tratamiento está aislada del suelo con una lámina impermeable. La carga volumétrica que recibe esta planta es 0,082 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·h. La figura 5 muestra una vista de la planta piloto con la disposición vertical de las fases de tratamiento.

El agua residual pretratada se distribuye por gravedad a través de la primera fase de tratamiento mediante los goteros subterráneos, percolando a través del lecho de grava, de ahí pasa por gravedad a las tres fases siguientes, hasta que alcanza la base impermeable. El agua de salida de la cuarta fase es el efluente ya depurado.

### Toma de muestras y determinaciones analíticas

Entre los meses de abril y julio de 2007 se han tomado muestras de ambas plantas



Figura 5.- Disposición vertical de las fases de tratamiento

piloto en los siguientes puntos: entrada de agua bruta después del desbaste y del tamizado (AB), entrada a columnas o salida del filtro de anillas (EC) y salida de cada una de las fases de tratamiento (1F a 4F).

Las determinaciones analíticas realizadas han sido: oxígeno disuelto, sólidos en suspensión totales (SST), demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>), fósforo total (PT) y nitrógeno total Kjeldahl (NTK). Los métodos analíticos han sido extraídos del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1995).

## Resultados y discusión

El análisis de los resultados experimentales obtenidos mostrará si esta tecnología de depuración es apta para el tratamiento del agua residual del Campus de Espinardo para las condiciones de funcionamiento actuales. La tabla 1 recoge las características del agua que reciben las plantas piloto.

Para una mejor comprensión de la evolución de los parámetros estudiados se han utilizado diagramas de caja donde: el punto inferior de la caja representa el percentil 25, y el superior, el 75; el punto inferior de la barra representa el percentil 5, y el superior, el 95, los puntos aislados son valores atípicos, la línea negra es la media y la azul la mediana. En las figuras 7, 8 y 9 se marca con una línea horizontal azul el

Parámetro	Valor medio	Intervalo
Oxígeno disuelto (mg O <sub>2</sub> /l)	1.96	0.98 – 3.64
SST (mg/l)	427	274 – 590
DQO (mg O <sub>2</sub> /l)	824	657 – 974
DBO <sub>5</sub> (mg O <sub>2</sub> /l)	528	440 – 620
PT (mg P/l)	12.0	8.9 – 17.6
NTK (mg N/l)	38.3	29.1 – 55.0

Tabla 1.- Características del agua de entrada a las plantas piloto (tras su desbaste y tamizado)

valor establecido en la Directiva 91/271/CEE para ese parámetro.

### Oxígeno disuelto

En ambas plantas piloto se observa claramente un aumento progresivo del contenido en oxígeno a lo largo del tratamiento (figura 6). Esto puede ser debido a la difusión del oxígeno atmosférico hacia la zona de depuración como consecuencia del gradiente de concentración y de la demanda de oxígeno ejercida por la materia orgánica del agua, que hace que el agua tratada se vaya saturando de oxígeno a medida que avanza a lo largo de las fases.

### Sólidos en Suspensión Totales (SST)

El contenido en SST disminuye bruscamente desde el agua bruta hasta la salida de la primera fase, en todos los muestreos (figura 7). Esto es debido tanto a la existencia del filtro de anillas (situado entre la toma de agua bruta y la entrada a la primera fase de tratamiento) como a la primera fase del tratamiento. El porcentaje de eliminación de sólidos en suspensión osciló entre 85,5% y 96,5% para la disposición vertical y entre 94,2% y 99,0% para las columnas en serie. El rendimiento del filtro de anillas oscila entre un 10,4% y un 72,9%, estando el rendimiento medio en torno al 45%.

En la Directiva comunitaria 91/271/CEE se establece para los efluentes de instalaciones de depuración de aguas urbanas, un valor de 35 mg/l para los SST. En la figura 7 se aprecia que a la salida de la cuarta fase (4F) el contenido de SST se encuentra muy por debajo de este valor en las columnas en serie; además, a la salida de la tercera fase (3F) ya se alcanzan valores inferiores a 35 mg/l, por lo que se podría asegurar que con la tercera columna prácticamente se eliminan todos los SST. En el caso de la disposición vertical, los SST a la salida de la cuarta fase (4F) son superiores, en varios muestreos, a los que establece dicha Directiva; se podría reducir la concentración de SST instalando un decantador a la salida de dicha planta.

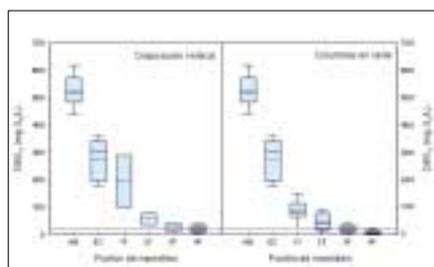


Figura 9.- Evolución de la DBO<sub>5</sub> a lo largo del tratamiento

La demanda química de oxígeno experimenta una disminución muy importante desde la entrada del agua bruta hasta la salida de la primera etapa de tratamiento; en las fases siguientes continúa su descenso pero de manera gradual (figura 8). El rendimiento de eliminación de DQO osciló entre 82,2% y 94,5% para la disposición vertical y entre 91,5% y 96,7% para las columnas en serie. El rendimiento del filtro de anillas oscila entre el 17,2% y el 49,6%, siendo el rendimiento medio del 32,7%.

La Directiva 91/271/CEE establece que el límite permitido para la demanda química de oxígeno es de 125 mg O<sub>2</sub>/l. En la figura 8 se puede observar que en todos los muestreos, y para las dos plantas piloto, a la salida de la tercera fase (3F), los valores de DQO son inferiores a los establecidos en dicha Directiva.

### Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

La evolución de la DBO<sub>5</sub> a lo largo de las distintas fases de tratamiento es similar a la que experimenta la DQO (figura 9). La eliminación de DBO<sub>5</sub> osciló entre 92,7% y 99,1% para la disposición vertical y entre el 95,0% y 99,4% para las columnas en serie. El rendimiento de la etapa de filtración oscila entre 31,8% y 67,9%, siendo el rendimiento medio de eliminación del 47%.

En la figura 9 se observa que, para las columnas en serie, a la salida de la cuarta fase (4F) la DBO<sub>5</sub> presenta valores muy inferiores a los recogidos en la Directiva 91/271/CEE (25 mg O<sub>2</sub>/l), sin embargo el efluente de salida de la planta con disposición vertical no siempre cumple este requisito.

La disminución del contenido de materia orgánica (bien expresada como DBO<sub>5</sub> o como DQO) se puede atribuir a dos hechos. El primero es la retención de sólidos en suspensión de naturaleza orgánica tanto en el filtro de anillas como en el lecho de grava de las diferentes fases de tratamiento; el segundo es debido a la degradación de la materia orgánica por la acción de los microorganismos aerobios presentes, tanto en la propia agua residual como

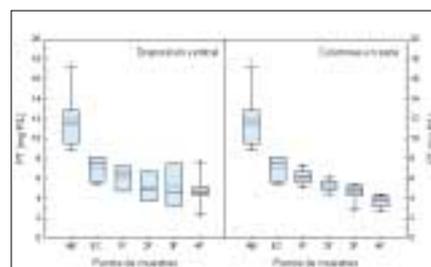


Figura 10.- Evolución del contenido de fósforo total a lo largo del tratamiento

en el lecho de grava. Sobre la superficie de la grava que constituye el lecho de cada una de las fases de tratamiento, se forma una biopelícula que es la principal responsable de la eliminación de materia orgánica biodegradable soluble.

### Fósforo Total (PT)

El fósforo total experimenta una disminución gradual a lo largo de todas las fases de tratamiento (figura 10). Para la disposición vertical el contenido de fósforo a la salida de la cuarta fase de tratamiento (4F) osciló entre 2,2 y 7,8 mg P/l y para las columnas en serie entre 2,7 y 4,3 mg P/l. Los rendimientos globales de eliminación se encuentran entre 51,7% y 60,5% para la disposición vertical y entre 54,7% y 76,1% para las columnas en serie. El rendimiento de la etapa de filtración es muy variable, oscilando entre el 7,9% y el 56,2%.

La reducción del fósforo total se debe, por un lado, a la retención del fósforo particulado en el filtro de anillas y en el lecho, y por otro, al consumo del fosfato disuelto en el agua por los microorganismos responsables del proceso de depuración.

### Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK)

El contenido en nitrógeno total Kjeldahl disminuye de manera gradual a lo largo de las fases de tratamiento (figura 11). Los valores de NTK a la salida de la planta con disposición vertical oscilaron entre 0,8 y 12,5 mg N/l y a la salida de las columnas en serie entre 0,4 y 3,9 mg N/l. La eliminación de nitrógeno total Kjeldahl osciló entre 66,8% y 98,5% en la disposición vertical y entre 89,2% y 99,3% en las columnas en serie. El rendimiento del filtro de anillas es muy variable, encontrándose en algunas ocasiones rendimientos negativos, posiblemente debido a la transformación de parte del nitrógeno orgánico en amoniacal a lo largo del recorrido del agua desde la salida de los tamices (AB) hasta la entrada a las columnas (EC).

Esta importante reducción de NTK se debe a la retención de sólidos en suspensión de naturaleza orgánica en el lecho y

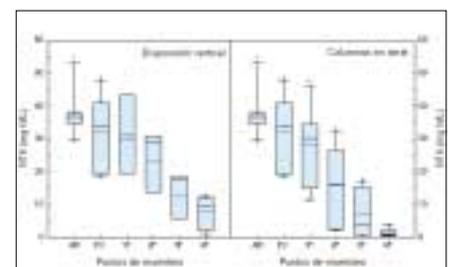


Figura 11.- Evolución del contenido de Nitrógeno Total Kjeldahl a lo largo del tratamiento

a la transformación por metabolismo microbiano del nitrógeno orgánico en nitrógeno amoniacal en el proceso de descomposición de la materia orgánica. Este nitrógeno amoniacal es susceptible de oxidación a nitratos (nitrificación) y de consumo por parte de los microorganismos responsables del proceso de depuración. Esta nitrificación es especialmente importante en la cuarta columna (4F), tal y como se puede observar en la figura 11, donde se produce fuerte descenso del NTK.

### Conclusiones

A la vista de los resultados obtenidos de la aplicación de esta nueva tecnología de depuración al tratamiento de aguas residuales, se pueden destacar las siguientes conclusiones:

- El efluente obtenido tras el tratamiento del agua residual del Campus de Espinardo, reúne los requisitos establecidos por la Directiva 91/271/CEE sobre tratamiento de aguas residuales urbanas. Con algunas excepciones puntuales en el caso de la disposición vertical en cuanto a SST y DBO<sub>5</sub>.
- En todos los muestreos se observa

claramente un aumento progresivo del contenido en oxígeno a lo largo del tratamiento, de forma que la degradación de la materia orgánica se produce en condiciones aerobias.

- Los rendimientos globales de eliminación de los parámetros estudiados (SST, DBO<sub>5</sub>, DQO, PT y NTK) son muy elevados, y siempre mayores en las columnas en serie, a pesar de que la carga volumétrica (m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·h) que reciben es superior a la disposición vertical. Sin embargo, el tiempo de retención hidráulico del agua a tratar es superior en las columnas en serie debido a que la zona de depuración tiene una profundidad tres veces superior.

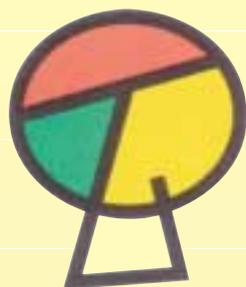
- La calidad del efluente de la planta de depuración con disposición vertical de las fases de tratamiento podría mejorarse instalando un decantador a la salida de ésta.

- A la vista de los resultados obtenidos, esta tecnología de depuración es apta para el tratamiento del agua residual del Campus de Espinardo para las condiciones de funcionamiento actuales. Entre las dos configuraciones, la que mejores resulta-

dos proporciona es la disposición horizontal de las fases de tratamiento.

### Bibliografía

- Alamancos, J.M.; Lloréns, M. y Sáez, J. (1999). Diseño de sistemas de depuración de aguas residuales por lagunaje. Edita Diego Marín. Murcia. Spain.
- APHA (1995). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19<sup>th</sup> edition. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Crites, R. y Tchobanoglous, G. (2000). Sistemas de Manejo de Aguas Residuales para Núcleos Pequeños y Descentralizados. Capítulos 9-11. McGraw-Hill Interamericana, S.A.
- Díaz, F. (2004). Depuración simbiótica de aguas residuales urbanas. Proyecto Fin de Carrera Licenciatura en Ciencias Ambientales. Facultad de Química. Universidad de Murcia.
- Lloréns, M.; Portero, S.; Sáez, J.; Aguilar, M.I.; Ortuño, J.F. y Meseguer, V.F. (2004). Una alternativa para el tratamiento de aguas residuales urbanas de pequeños núcleos de población: la depuración simbiótica. Tecnología del Agua, 246, 38-44.
- Plazas, D. (2006). Aplicación de la depuración simbiótica al tratamiento del agua residual generada en una gasolinera. Trabajo Fin de Carrera Ingeniero Químico. Facultad de Química. Universidad de Murcia.
- Portero, S. (2004). Aplicación de la depuración simbiótica al tratamiento de aguas residuales. Trabajo Fin de Carrera Ingeniero Químico. Facultad de Química. Universidad de Murcia.
- Reed, S.C.; Crites, R. y Middlebrooks, E.J. (1995). Natural Systems for Waste Management and Treatment. 2<sup>nd</sup> edition. Capítulos 6 y 7. McGraw-Hill, Inc.



**“SU EMPRESA DE INSTRUMENTACIÓN”**

**TECNOQUIM, S.L.**

Pol. Ind. Oeste. Avda. Principal, P. 29/28 – 30169 San Ginés-MURCIA

Tel. 968 880 298 - Fax 968 880 417

E-mail: [ventas@tecnoquim.es](mailto:ventas@tecnoquim.es)

Web: <http://www.tecnoquim.es>



**Gomensoro**  
instrumentación científica

**Distribuidor Autorizado para Murcia y Albacete:**

METROHM	ATAGO	BAC-TRAC	MILESTONE
VALORADORES AUTOMATICOS CROMATOGRAFÍA IONICA	REFRACTOMETROS POLARIMETROS	EQUIPOS MICROBIOLÓGICOS DE IMPEDANCIA	EQUIPOS DIGESTIÓN Y EXTRACCIÓN POR MICROONDAS



### SOLICITEN INFORMACIÓN Y PRESUPUESTO DE:

Autoclaves / Agitadores magnéticos / Balanzas / Baños termostáticos / Calibraciones / Cámaras climáticas  
Conductímetros / Cromatógrafos de gases y líquido / Espectrofotómetros VIS-UV y A.A. / Estufas / Fibra  
Grasa / IRTF / Lupas / Microscopios / Mobiliario / Molinos / Patrones certificados / PH-metros...

Delegación: Polígono Industrial. Campollano. Calle D, Parc. 57, Nave 9. 02007 ALBACETE

Tlf.: 967609860 / Fax: 967609861 / E-Mail: [albacete@tecnoquim.es](mailto:albacete@tecnoquim.es) WEB: <http://www.tecnoquim.es>

# Eurocaviar S.A. “Líder en el segmento de mercado de los sucedáneos”



*La empresa situada en Ceutí (Murcia) cuenta con una superficie de 10.000 m<sup>2</sup> y con una capacidad de producción de 4.000 kilos al día, todo ello con un grado óptimo de calidad, como acreditan las certificaciones según normativas BRC e IFS, presentando un producto resistente a las altas temperaturas sin sufrir daños, por lo que se puede cocinar. Todo esto les posibilita mantener una posición de liderazgo en el mercado nacional y dedicar hasta el 40% de su producción al mercado exterior, donde han llevado a cabo misiones comerciales satisfactorias en lugares tan remotos como China y Japón.*



**E**urocaviar S.A. es una firma española fundada en 1983 y dedicada a la fabricación de sucedáneos de caviar de alta calidad. Las modalidades de sus productos son: Mujjol Shikran a base de arenque y huevas de mújol micronizadas; Bonfish, a base de arenque micronizado; y el Salmón Shikran a base de salmón ahumado micronizado, siendo su producto más emblemático el Mujjol Shikran y sus principales líneas de trabajo la elaboración de estos productos y el desarrollo de otros nuevos que el mercado pueda demandar.

La historia de Eurocaviar nos habla de una empresa del sector que empezó haciendo unos cien Kg/día en unas instalaciones acondicionadas para la alimentación en Aljucer (Murcia), hasta que en el año 2004 ya se había hecho evidente que la fábrica se había quedado pequeña y que era necesario el traslado a una nueva fábrica, que finalmente fue la actual de Ceutí, capaz de producir hasta 4.000 Kg./día.

Sin duda, Eurocaviar es la empresa líder en España en facturación y volumen de producción en el segmento de mercado de los sucedáneos del caviar. Y en esto ha tenido mucho que ver la construcción

y puesta en marcha de la nueva planta en Ceutí, que ha permitido la incorporación de nueva maquinaria para la modernización y optimización de todos los procesos de producción.

Como objetivos, la firma murciana se ha fijado la exigencia de elaborar productos que lleguen al consumidor con un grado de calidad óptimo y que lo satisfagan plenamente, sin más recetas que conseguir establecer un sistema de calidad adecuado y eficaz. En consecuencia, la eficacia del sistema de calidad se basa en la entrega al consumidor de materiales que cumplan con la calidad y seguridad alimentaria que establece la legislación vigente. Así, el sistema de calidad permitirá el control y la trazabilidad del producto en todas y cada una de las fases de su ciclo de fabricación y vida. Para este cometido, Eurocaviar se ha dotado de las certificaciones de calidad según normativas BRC, que son normas alimentarias aplicadas en Inglaterra, e IFS, normas alimentarias aplicadas en Francia, Alemania e Italia.

### Funcionamiento y mercados

Eurocaviar documenta su organización, definiendo responsabilidades, rela-

ciones jerárquicas y funcionales, potenciando la coordinación y posibilitando el conocimiento de la misma a todo su personal y, cuando corresponda, a las entidades o personas ajenas a ella. Existe un organigrama donde se detallan los distintos niveles de dirección, describiéndose las funciones y responsabilidades de cada uno de los responsables de cada nivel.

Respecto a los mercados, la producción de Eurocaviar se distribuye del siguiente modo: 40% en los mercados exteriores, como países europeos, USA, Canadá, México y países sudamericanos; y el 60% en el mercado nacional, teniendo en cuenta que la empresa también elabora marcas propias de varias grandes cadenas.

En España se consumen anualmente unas 350 toneladas aproximadamente de este tipo de productos, de las que unas 170 toneladas corresponden a caviar Mujjol, lo que ya habla de por sí de las grandes cuotas de mercado para esta empresa.

De esta forma, su presencia en el mercado nacional se presenta como suministradores de grandes superficies tipo El Corte Inglés, Carrefour, Makro, Alcampo, Consum, Caprabo, Hiper Usera, Sánchez Romero y, en general, en todas las cade-



nas de alimentación; suministrando también al sector de la Hostelería, como hoteles y restaurantes.

### Medio Ambiente y formación

Durante el proceso productivo de esta fábrica, se generan residuos de materia orgánica, envases de plástico, cartón y madera, así como aguas residuales. No produciéndose, por el contrario, emisiones de gases contaminantes. Pero todos los residuos que se generan son retirados por gestores de residuos autorizados por la Administración. Y las aguas residuales, antes de ser vertidas a la red de alcantarillado, son sometidas a un proceso de filtración, decantación y aireación. Además, están haciendo un estudio para constatar la viabilidad de montar una planta de energía solar que contaminará menos y ahorrará tiempo y consumo energético.

Por otra parte, Eurocaviar determina la competencia necesaria para el personal que realiza trabajos que afectan a la calidad del producto. Así mismo, ha establecido un sistema para determinar las necesidades de formación, proporcionar la formación necesaria para satisfacer las necesidades detectadas, registrar y archivar los documentos acreditativos de for-

mación y experiencia del personal y evaluar la efectividad de la acción formativa.

Con objeto de garantizar la aptitud de las personas a los puestos que ocupan, Eurocaviar posee una organización estructurada de personal responsable en los distintos ámbitos de la empresa, una política de selección de personal, planes de formación que aseguren la actualización de conocimientos del personal, acciones de comunicación interna a fin de asegurarse que el personal es consciente de la pertinencia e importancia de sus actividades y de cómo contribuyen al logro de los objetivos de la calidad y, también, la empresa establece los perfiles necesarios para el personal que desempeña actividades que afectan a la Calidad.

Respecto a los planes de futuro, los comerciales de la empresa están abriendo mercado en China y Japón, con muy buenos resultados y perspectivas hasta ahora, planes que se complementarán con la fase de estudio y desarrollo de nuevos productos, manteniendo la misma línea de fabricación pero incorporando nuevos sabores y texturas.

En todo su crecimiento también ha participado el Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación (CTC),

ya que Eurocaviar es una empresa asociada al CTC, constituyendo el laboratorio de referencia para el control físico-químico y microbiológico de sus productos. Eso, al margen de que tienen un concierto para el asesoramiento técnico y documental materializado en estudios y pruebas experimentales con equipos y personal del propio CTC. No obstante, la empresa dispone de un laboratorio para realizar controles internos de la calidad de los productos en su fase de producción, como pueden ser controles microbiológicos ambientales, de superficie, determinaciones de pH del producto, etc.

Y, por último, cabe destacar que sus productos presentan características que otros productos similares no llegan a alcanzar, como por ejemplo, la resistencia a las altas temperaturas sin sufrir daños, por lo que se pueden cocinar; la ausencia de colorantes artificiales, por lo que no destiñen; que el caviar se puede consumir solo, en ensalada o cocinado, incorporándolo en la elaboración de platos fríos o calientes, incluso horneados, realzando así su aspecto, sabor y presencia; y que constituye un ingrediente para la elaboración de otros productos como pueden ser ensaladas tipo MacSalad o Mizanor.

# Instituto de estudios avanzados de la OTAN

Entre el 16 y 27 de Septiembre de 2007 se celebró en Vichy (Francia) el curso "Sensors for Environment, Health and Security: Advanced Materials and Technologies" dirigido por Marie-Isabelle Baraton de la Universidad de Limoges y CNRS (Francia) y por Pavel K. Kashkarov de la Moscow State Lomonosov University (Rusia).

Este curso se enmarca dentro de las actividades del **Comité para la Paz y la Seguridad** de la OTAN. Este es el primer Comité de esta organización que apoya la cooperación en ciencia civil e innovación contribuyendo al objetivo de la OTAN de aproximar la ciencia a la sociedad a través de proyectos y actividades centrados en la seguridad, sostenibilidad medioambiental y otras prioridades definidas por las naciones que la integran.

El CTC fue invitado a participar en este curso impartiendo la ponencia "Basic development of flow immunosensors for organic pollutants" en la que se expusieron los resultados de investigación obtenidos en distintos proyectos de este centro realizados en colaboración con la Universidad Politécnica de Valencia.



## Soluciones de principio a fin

En Electromain somos expertos en la automatización de la industria. Contamos con un equipo humano compuesto por profesionales altamente cualificados. Ofrecemos a nuestros clientes un servicio integral: venta de material para la automatización industrial, asesoramiento técnico y formación. Todo ello con la garantía de la mejor calidad, como lo asegura nuestra certificación ISO 9001. Electromain, soluciones de principio a fin.

## electromain

electrónica industrial

MOLINA DE SEGURA • MURCIA  
 Tel. 968 389005 • Fax 968 611100  
 e-mail: [electromain@electromain.com](mailto:electromain@electromain.com)  
[www.electromain.com](http://www.electromain.com)



## VALVULERÍA

ELEMENTOS DE VAPOR Y  
CONTROL DE FLUIDOS

BOMBAS DE PROCESOS ALIMENTARIOS

BOMBAS DE VACIO

BOMBAS DE ENGRANAJES

BOMBAS PARA PRODUCTOS QUÍMICOS

CIERRES MECÁNICOS

SERVICIO TÉCNICO



**Amplia Gama con la mejor Calidad al Servicio de la Industria**

**SOLICITE NUESTRO  
NUEVO CATÁLOGO  
O VISITE NUESTRA  
WEB**

[www.comercialgarcia.es](http://www.comercialgarcia.es)

En García Servicios y Suministros Industria, trabajamos para ofrecer un "Servicio de Calidad". Esta es la filosofía empresarial que implica a todos desde el personal técnico en los talleres y nuestros ingenieros, el equipo comercial de pre-venta y post-venta, y la atención al público en nuestro establecimiento; ágil y eficaz.

 **García**  
Servicios y Suministros Industriales

# Ofertas y demandas de tecnología

Selección de referencias de Ofertas y Demandas de Tecnología de la Red IRC-CENEMES (Centro de Enlace del Mediterráneo Español), cuyo principal objetivo es facilitar acuerdos internacionales de transferencia de tecnología.

Contacto: INFO (Instituto de Fomento de la Región de Murcia)  
División de Innovación:  
Victoria Díaz  
victoria.diaz@info.carm.es  
<http://www.ifrm-murcia.es/>

MARIAN PEDRERO TORRES. DEPARTAMENTO DE DOCUMENTACIÓN CTC

## Nuevas operaciones de conservación de vegetales (Inn-PROVE)

Búsqueda de socios  
**27090717**

Una universidad británica busca socios nacionales e internacionales para colaborar en programas KBBE en el área de procesamiento de alimentos y alternativas a sulfitos en alimentos. La universidad ha desarrollado alternativas para la conservación de alimentos por el uso de sulfitos y dióxido de azufre y ha probado sus métodos con alimentos en los que está permitida la utilización de sulfitos a altos niveles. Con este proyecto se pretende contribuir a la seguridad del consumidor reduciendo la ingesta de sulfitos y garantizando la seguridad microbiana.



## Tecnología vanguardista de solubilización: encapsulación de sustancias a escala nanométrica

**Oferta 25090714**

Una PYME alemana ha desarrollado una tecnología de encapsulación para una amplia variedad de sustancias. La encapsulación sigue el principio natural de micelación, una forma de encapsulación a escala nanométrica realizada por el cuerpo humano para absorber sustancias solubles en grasa. Las sustancias hidrofílicas e hidrofóbicas se transforman en solubilizados líquidos (30 nm), solubles tanto en grasa como en agua. La empresa busca socios para desarrollar nuevas aplicaciones en nutrición, salud, cosmética y farmacia.



## Software de gestión con aplicación en industrias del sector alimenticio

**Oferta 27090706**

Una empresa portuguesa ha desarrollado un software para gestionar todos los aspectos asociados a la producción de alimentos, es decir, trazabilidad y HACCP, en cualquier empresa del sector alimenticio. Las ventajas frente a otras aplicaciones incluyen su arquitectura modular, que permite una configuración rápida del sistema para su aplicación en diferentes segmentos industriales, y la integración transparente con múltiples aparatos (sensores, PDAs, ordenadores, etc.). La empresa busca socios del sector alimenticio.



## Nuevos productos de plástico para envasar alimentos y bebidas

**Demanda 27090705**

Una empresa griega especializada en la fabricación de plásticos industriales especiales así como en el diseño y desarrollo de tecnologías de moldeado por inyección busca colaboración para diseñar o producir nuevos productos o para mejorar los productos actuales de plástico rígido. Los productos buscados incluyen envases para alimentos y bebidas que sustituyan a los envases de vidrio. La empresa está interesada en alcanzar acuerdos de licencia.

## Nuevos envases ecológicos para pescado

**Demanda 27090710**

Una empresa belga del sector de pescado está ampliando su actividad y busca tecnologías de envasado más versátiles y ecológicas para sus productos que sustituyan a sus tecnologías actuales. La empresa busca un socio que ofrezca una tecnología que ya esté en el mercado y que pueda adaptarse a sus necesidades específicas. La compañía está interesada en alcanzar acuerdos comerciales con asistencia técnica.

## Alimentos ricos en proteínas elaborados con clara de huevo

**Oferta 27090707**

Una PYME checa ha desarrollado alimentos ricos en proteínas producidos a partir de un ingrediente básico, una sustancia rica en proteínas elaborada con clara de huevo. Estos alimentos tienen un alto contenido en proteínas de huevo, muy poca grasa y un valor energético bajo. El proceso de producción de esta sustancia se basa en una tecnología única. La empresa está interesada en alcanzar acuerdos de licencia.



## Transformación de productos de repostería deteriorados en bioenergía

**Demanda 25090707**

Una empresa alemana de repostería busca una tecnología para transformar productos de repostería deteriorados en bioenergía. El valor calorífico de 1 kg de pan equivale a 0,5 litros de aceite. Esta cantidad equivale a un millón de litros de aceite al año. La empresa busca socios para alcanzar acuerdos de licencia o "joint venture".



## Transformación de capsaicina (chile picante) en vainillina

**Oferta 19090710**

Un grupo de investigación italiano ha desarrollado un proceso natural para transformar capsaicina en vainillina. El proyecto consiste en un proceso hidrolítico que transforma la capsaicina en vanillilamina y en un proceso enzimático de bajo coste para transformar la vanillilamina en vainillina. Actualmente el equipo de investigación está trabajando para mejorar un método de aislamiento de la vainillina producida a unos costes menores. El grupo de investigación busca cooperación técnica para continuar con el desarrollo.

## Kit para realizar análisis microbiológicos rápidos y sencillos en muestras de alimentos y agua

**Oferta 07090714**

Una spin-off de una universidad italiana ha desarrollado un kit analítico que utiliza viales de reacción desechables y fáciles de usar para realizar

análisis microbiológicos de forma rápida y sencilla en muestras de alimentos y agua. El análisis se basa en la alteración del color del contenido del vial, inducido por la presencia de bacterias. Este kit puede emplearse en cualquier lugar por personas sin experiencia. La empresa está interesada en alcanzar acuerdos de comercialización y licencia.

#### Desarrollo de una variedad de tomates sin semillas

**Oferta 11090703**

Un grupo de investigación ha desarrollado un programa para cruzar variedades de tomates que permite producir frutos sin semilla. Esta tecnología permite la coexistencia de cultivos genéticamente modificados (convencionales y biológicos) con flujo no transgénico. El grupo de investigación busca socios para



alcanzar acuerdos de colaboración técnica con recursos financieros.

#### Impresora con tintas comestibles destinada al sector agroalimentario para imprimir envases de helados

**Demanda 04090709**

Una empresa belga busca una impresora para imprimir imágenes en un nuevo envase de helado comestible. La máquina debe imprimir imágenes claras en tinta comestible a una distancia de 10 a 20 mm desde el cabezal de impresión, en 4 colores, con una resolución de 200 a 500 puntos por pulgada y debe tener válvulas solenoides. La empresa busca una máquina que ya esté en el mercado y está interesada en alcanzar acuerdos comerciales con asistencia técnica.

#### Nueva tecnología de producción de caramelos de frutas

**Oferta 05090715**

Una PYME rusa ha desarrolla-

do una nueva tecnología para producir caramelos de frutas. Las ventajas de la tecnología incluyen la alta calidad de producción, la variedad de sabores y formas y la posibilidad de obtener productos combinados. El equipo se caracteriza por su compactidad y fiabilidad. La empresa está interesada en alcanzar acuerdos de "joint venture", cooperación técnica e inversión.

#### Nuevo sistema de visión para inspección de moldes

**Oferta 03090713**

Una PYME alemana ha desarrollado un sistema de inspección de moldes. Estos moldes se rellenan en un proceso de producción secuencial y deben limpiarse completamente antes de pasar al paso siguiente. El sistema de procesamiento de imágenes con cámara es capaz de reconocer impurezas mayores de un 1 píxel (alrededor de 0,7 mm) y mostrar un

mensaje de error. Las áreas defectuosas pueden definirse por el usuario del sistema. La empresa busca socios para continuar con el desarrollo.

#### Envases biocidas para aumentar el período de conservación de alimentos perecederos

**Oferta 04090706**

Una PYME israelí ha desarrollado materiales ecológicamente seguros para eliminar bacterias, virus y hongos en superficies contaminadas. La nueva tecnología está indicada para envases alimenticios, permitiendo almacenar diferentes tipos de alimentos y bebidas (incluyendo productos lácteos) durante más tiempo a temperatura ambiente, sin que proliferen microbios y patógenos y sin que se produzcan otros deterioros sensoriales o físicos. La empresa busca socios para alcanzar acuerdos de licencia o "joint venture".



## "SU EMPRESA DE TRATAMIENTOS DE AGUA"

**Más de 25 años de experiencia**

Polígono Industrial Base 2000 - Apto. Correos 489 - Calle 16, Parcela B/3 Nave 25 - **LORQUÍ (Murcia)**  
Telfs.: Oficina: 968 676 883 - Fax: 968 676 885 - Dpto. Comercial: 637 543 298 - 617 357 641 - Dpto. Técnico: 617 357 940  
www: cobetsl@terra.es

**Distribuidor autorizado para Murcia y Almería de:**



**¡¡Solicite información y presupuestos!!**

- *Tratamientos anti-legionella* • *Tratamientos químicos y/o físicos del agua*
- *Calderas, cogeneraciones y circuitos de refrigeración* • *Equipos y proyectos*
- *Asesoramiento y formación* • *Medio ambiente industrial*
- **BOMBAS de USO ALIMENTARIO en 316 L**

*Lo importante, hacemos pensar  
en lo que somos y queremos*

  
grupoforo

 **FORO  
TECNOLÓGICO**

Planes Estratégicos.  
Cooperación empresarial.  
Estudios sectoriales y planes.

Planes de viabilidad.  
Diagnósticos Logísticos.  
Empresas en crisis.

**gf innovación**

Proyectos de Innovación Regionales,  
Nacionales y Europeos.  
Consultoría Tecnológica.

Desarrollos B2B.  
Comercio Electrónico.

**gf trazabilidad**

garantía de seguridad alimentaria

Soluciones E.R.P.  
Soluciones C.R.M.  
Soluciones de Gestión Integral de  
Procesos Industriales, Trazabilidad,  
Gestión de la Cadena de Suministro.

Soluciones para la Gestión avanzada  
de Almacenes y Expediciones.  
Software de Gestión de Almacenes.  
Soluciones e-Procurement.

 **movidata**

MOVILFLOTA. Solución ASP para  
Gestión de Flotas.  
LOCANET. Soluciones ASP para  
seguridad de vehículos y personas.  
Plataforma de monitorización de  
procesos agrarios y alimentarios

Control y gestión de consumo de aguas, gas,  
electricidad, ...  
Plataforma para la gestión de Flotas de  
Limpieza Urbana.  
Plataforma para monitorización de ruidos,  
mapas dinámicos de ruido en ciudades.  
Telemetría de distintos procesos y parámetros

**redform** 

Cursos de Formación    Manuales de acogida

Paseo fotógrafo verdú, 9. edif. minos - bajo. 30002  
Murcia.

Tif. 968 22 55 11 / Fax. 968 22 31 83

# Referencias bibliográficas

MARIAN PEDRERO TORRES. DEPARTAMENTO DE DOCUMENTACIÓN CTC



## Compendio de riesgos alimentarios

MOLL, M. *Docteur de l'université*

*Henri Poincaré-Nancy I Consultant international y MOLL, N. Docteur ès sciences physiques Expert chimiste.*

*Acribia 2006; 400 págs.*

*ISBN: 978-84-200-1068-7*

Prólogo - Agradecimientos - Lista abreviaturas - Índice de figuras - Índice de tablas - Parte I. Presentación de los peligros potenciales en la alimentación del hombre - Sección 1. Contaminantes microbiológicos y parasitarios - Capítulo 1. Contaminantes microbiológicos y parasitarios - Sección 2. Contaminantes químicos y su prevención - Capítulo 1. Riesgos ligados a la agricultura - Capítulo 2. Riesgos ligados al medio ambiente - Capítulo 3. Riesgos ligados a los hábitos alimentarios - Capítulo 4. Riesgos ligados a los tratamientos de conservación - Capítulo 5. Alergias e intolerancias alimentarias - Bibliografía - Parte II. Glosario.

## Biotecnología



SMITH, J. E. *Emeritus Professor of Applied Microbiology, University of Strathclyde, Glasgow and Chief Scientific Adviser to MycoBiotech Ltd, Singapore. Acribia 2006; 280 págs.*

*ISBN: 978-84-200-1065-6*

Prólogo - La naturaleza de la biotecnología - Sustratos para la biotecnología - Genética y biotecnología - Tecnología de la fermentación o bioproceso - Tecnología enzimática - Generación biológica de combustible - Proteína unicelular - Biotecnología y medicina - Biotecnología medioambiental - Biotecnología en las industrias agrícola y forestal - Biotecnología de los alimentos y bebidas - Protección de inventos biotecnológicos - Seguridad en la biotecnología - Percepción pública de la biotecnología: ingeniería genética, consideraciones éticas, morales, sociales y de seguridad - Mirando al futuro - Glosario - Lecturas complementarias - Índice alfabético.



## Alimentos, fermentación y microorganismos

BAMFORTH, CH. W.

*Acribia: 2007; 268 págs.*

*ISBN: 978-84-200-1088-5*

Contenido: Prefacio - Agradecimientos - Introducción - La ciencia que sostiene las fermentaciones de alimentos - La cerveza - El vino - Vinos fortificados - La sidra - Bebidas alcohólicas destiladas - Espirituosos aromatizados - El sake - El vinagre - El queso - Yogur y otros productos lácteos fermentados - El pan - La carne - Alimentos fermentados indígenas - Fermentaciones de vegetales - El cacao - Micoproteína - Miscelánea de productos de la fermentación - Índice alfabético.



## Food Materials Science Principles and Practice

Aguilera, Jose Miguel;

Lillford, Peter J. (Eds.)

*Series: Food Engineering Series*

*Springer 2007. 696 págs., Hardcover.*

*ISBN: 978-0-387-71946-7*

Food Materials Science: Principles and Practice describes the science and procedure behind the materials in foods that impart their desirable properties. The first part explains those physicochemical aspects that intervene in the organization of food components from the molecular level to actual products and the methods used to probe into foods at different length scales. The second part presents how food structures are assembled during processing in order to achieve desirable and recognizable properties. Processed foods are mostly meta-stable structures in which water, air, and lipids are immobilized as dispersed phases within a polymeric matrix of proteins, polysaccharides, or a fat crystal network. The last section shows specific examples of how structures of familiar products are obtained by processing and describe some new developments.



## Intelligent and Active Packaging for Fruits and Vegetables

Charles L. Wilson, (ed.)

*CRC Press: 2007; 360 págs.*

*ISBN: 9780849391668*

Drawing on the research of a diverse group of scientists and pioneers in the field, Intelligent and Active Packaging for Fruits and Vegetables explores the new technology and applications used to bring fresh, safe, nutritious produce to the consumer. It explains modified atmosphere packaging (MAP), and its use in the packaging of fruits and vegetables; discusses variations and advances on MAP such as high vapor-permeable films, and demonstrates modeling techniques to assist in the selection of packaging type. The book also includes a chapter on the use of RFID temperature monitoring in food packaging; considers the interaction between container and food product; covers the regulatory implications of nanotechnology in active and intelligent packaging; and more. From the Preface: "...Definitions for intelligent and active packaging are evolving as these two fields evolve. Most seem to agree that active packaging connotes a package that 'responds' to a suboptimal physiological or environmental condition in the package and improves it. Intelligent packaging, on the other hand, involves a package sensing conditions in a package and communicating this information to a human or an appliance..." Target Audience: Food packaging scientists, engineers, chemists, microbiologists, and quality and safety experts, as well as upper-level students in these disciplines.

# Referencias legislativas

- **Real Decreto 1118/2007**, de 24 de agosto, por el que se modifica el Real Decreto 142/2002, de 1 de febrero, por el que se aprueba la **lista positiva de aditivos distintos de colorantes y edulcorantes** para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización.  
BOE 14/09/2007
- **Resolución, de 24 de septiembre de 2007, de la Subsecretaría**, por la que se efectúa la convocatoria de los Premios **Príncipe Felipe a la Excelencia Empresarial 2008**.  
BOE 27/09/2007
- **Real Decreto 1070/2007**, de 27 de julio, por el que se aprueba la **norma de calidad para la cuajada**.  
BOE 29/08/2007
- **Directiva 2007/45/CE del Parlamento Europeo y del Consejo**, de 5 de septiembre de 2007, por la que se establecen normas relativas a las **cantidades nominales para productos preenvasados**, se derogan las Directivas 75/106/CEE y 80/232/CEE del Consejo y se modifica la Directiva 76/211/CEE del Consejo.  
DOUE 21/09/2007
- **Directiva 2007/55/CE de la Comisión, de 17 de septiembre de 2007**, por la que se modifican los anexos de las Directivas 76/895/CEE, 86/362/CEE, 86/363/CEE y 90/642/CEE del Consejo en lo que respecta a los contenidos máximos del residuo de **azinfos metil**.  
DOUE 18/09/2007
- **Directiva 2007/56/CE de la Comisión, de 17 de septiembre de 2007**, por la que se modifican determinados anexos de las Directivas 86/362/CEE, 86/363/CEE y 90/642/CEE del Consejo en lo relativo a los contenidos máximos de residuos de **azoxistrobina, clorotalonil, deltametrin, hexaclorobenceno, ioxinil, oxamil y quinoxifeno**.  
DOUE 18/09/2007
- **Directiva 2007/57/CE de la Comisión, de 17 de septiembre de 2007**, por la que se modifican determinados anexos de las Directivas 76/895/CEE, 86/362/CEE, 86/363/CEE y 90/642/CEE del Consejo en lo que respecta a los contenidos máximos de **ditiocarbamatos**.  
DOUE 18/09/2007



# c o t e s

**Corredores Técnicos de Seguros S.A.**

**Confíe su seguridad  
a un profesional**



Glorieta de España 3, 30004 Murcia • Tfno.: 968 225 610 • Fax.: 968 225 574 • [www.cotes-sa.com](http://www.cotes-sa.com)



## La naturaleza nos ofrece una frescura y aroma perfectos. Y seguimos su ejemplo. Soluciones MAPAX® para mejorar el envasado.

La naturaleza es sabia y nos ofrece una frescura y un aroma perfectos. Pero nosotros, ¿qué podemos hacer para envasar el estado original y natural de frescura, forma y sabor? En Abelló Linde decidimos buscar una solución a este problema y hemos logrado un resultado extraordinario. Nuestras soluciones MAPAX® mantienen los alimentos frescos y prolongan considerablemente su tiempo de conservación, sin conservantes químicos. Las atmósferas protectoras especiales de Abelló Linde proporcionan una frescura natural. De modo que la naturaleza puede estar orgullosa de nosotros. Y los consumidores, también. Tratamos mejor los alimentos.

**Abelló Linde – ideas become solutions**

Abelló Linde, S.A.  
Tel.: 934 767 400 - Fax: 932 075 764  
E-mail: [info@abellolinde.com](mailto:info@abellolinde.com)  
[www.abello-linde-sa.es](http://www.abello-linde-sa.es)

Abelló Linde

*Linde*

# Actualización normas UNE: Sector agroalimentario

RESOLUCIONES del Ministerio de Ciencia y Tecnología, publicadas en el Boletín Oficial del Estado durante el Segundo Trimestre del 2007 por las que se hace pública la relación de Normas Aprobadas, Tramitadas como Proyectos y Anuladas por AENOR.

Las normas UNE que a continuación se relacionan son documentos técnicos de carácter voluntario elaboradas por

el organismo de normalización AENOR. Este organismo define las Normas UNE como una “especificación técnica de aplicación repetitiva o continuada cuya observancia no es obligatoria, establecida con participación de todas las partes interesadas, que aprueba AENOR, organismo reconocido a nivel nacional e internacional por su actividad normativa”.

MARIAN PEDRERO TORRES. DEPARTAMENTO DE DOCUMENTACIÓN CTC.

## NORMAS UNE APROBADAS POR AENOR

- → UNE-EN 15054:2007. Alimentos no grasos. Determinación de clormecuat y mepicuat. Método por LC-MS.
- → UNE-EN ISO 9936:2007. Aceites y grasas de origen animal y vegetal. Determinación del contenido de tocoferol y tocotrienol mediante cromatografía líquida de alta resolución (ISO 9936:2006). (Sustituye a EN ISO 9936:2006)
- → UNE-EN ISO 11052:2007. Harinas y sémolas de trigo duro. Determinación del contenido de pigmento amarillo (ISO11052:1994).
- → UNE-EN ISO 14637:2007. Leche. Determinación del contenido de urea. Método enzimático basado en la diferencia en pH (método de referencia) (ISO 14637:2004).
- → UNE-EN ISO 13366-2:2007. Leche. Recuento de células somáticas. Parte 2: Guía sobre la operación de contadores fluoropto-electrónicos (ISO 13366-2:2006). (Sustituye a UNE-EN ISO 13366-2:1997)
- → UNE-EN ISO 15302:2007. Aceites y grasas de origen animal y vegetal. Determinación del contenido de benzo[a]pireno. Método por cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (ISO 15302:1998). (Sustituye a UNE 34603:2002)
- → UNE-EN ISO 20838:2007. Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de patógenos en los alimentos. Requisitos para la amplificación y la detección para los métodos cualitativos (ISO 20838:2006). (Sustituye a EN ISO 20838:2006)
- → UNE-EN ISO 24276:2007. Productos alimenticios. Métodos de análisis para la detección de organismos genéticamente modificados y productos derivados. Requisitos generales y definiciones (ISO 24276:2006).
- → UNE-ENV 14164:2007 EX. Productos alimenticios. Determinación de vitamina B6 mediante HPLC.
- → UNE-ISO 16657:2007. Análisis sensorial. Utensilios. Copa para la cata de aceite de oliva (ISO 16657:2006). (Sustituye a UNE 87021:1992)

## PROYECTOS DE NORMAS EUROPEAS E INTERNACIONALES QUE HAN SIDO TRAMITADOS COMO PROYECTOS

- → PPNE-prEN 937. Productos químicos utilizados para el tratamiento de agua destinada al consumo humano. Cloro.
- → PNE-prEN 938. Productos químicos utilizados para el tratamiento del agua destinada al consumo humano. Clorito sódico.
- → PNE-prEN 939. Productos químicos utilizados para tratamiento del agua destinada al consumo humano. Ácido clorhídrico.

## PROYECTOS DE NORMAS EUROPEAS E INTERNACIONALES UNE QUE AENOR TIENE EN TRAMITACIÓN

- → PNE-ISO 5496. Análisis sensorial. Metodología. Iniciación y entrenamiento de jueces en la detección y reconocimiento de olores.



**TALLERES MAXIMILIANO**



- **FABRICACIÓN DE APARATOS A PRESIÓN**
- **FABRICACIÓN SILOS PARA ÁRIDOS**
- **INSTALACIONES INDUSTRIALES Y AISLAMIENTO**
- **MAQUINARIA INDUSTRIAL**
- **MANTENIMIENTO**
- **DEPÓSITOS PARA ALMACENAMIENTOS PRODUCTOS PETROLÍFEROS Y QUÍMICOS**



Polígono Industrial "Los Torraos" - Avda. España MI-2  
Teléfono: 968 690 332 - Fax: 968 690 266  
30562 CEUTÍ (Murcia)

# Empresas asociadas al Centro Tecnológico

- ACEITUNAS CAZORLA, S.L.
- AGARCAM, S.L.
- AGRICONSA
- AGROMARK 96, S.A.
- AGRUCAPERS, S.A.
- AGRUMEXPORT, S.A.
- ALCAPARRAS ASENSIO SÁNCHEZ
- ALCURNIA ALIMENTACIÓN, S.L.
- ALIMENTARIA BARRANDA, S.L.
- ALIMENTOS PREPARADOS NATURALES, S.A.
- ALIMENTOS VEGETALES, S.L.
- ALIMINTER, S.A.  
www.aliminter.com
- ALIMER, S.A.
- AMC Grupo Alimentación Fresco y Zumos, S.A.
- ANTONIO RÓDENAS MESEGUER, S.A.
- AUFERSA
- AUXILIAR CONSERVERA, S.A.  
www.auxiliarconservera.es
- BERNAL MANUFACTURADOS DEL METAL, S.A. (BEMASA)
- BRADOKC CORPORACIÓN ALIMENTARIA, S.L.  
www.bradock.net
- C.R.D. ESPÁRRAGOS DE HUERTO-TAJAR
- CAMPILLO ALCOLEA HNOS., S.L.
- CÁRNICAS Y ELABORADOS EL MORENO, S.L.
- CASTILLO EXPORT, S.A.
- CENTRAMIRSA
- CHAMPIÑONES SORIANO, S.L.
- COÁGUILAS
- COATO, SDAD.COOP.LTDA.  
www.coato.com
- COFRUSA - www.cofrusa.com
- COFRUTOS, S.A.
- CONFITURAS LINARES, S.L.
- CONGELADOS ÉLITE, S.L.
- CONGELADOS PEDÁNEO, S.A.  
www.pedaneo.es
- CONSERVAS ALGUAZAS, S.L.
- CONSERVAS ALHAMBRA
- CONSERVAS EL RAAL, S.C.L.
- CONSERVAS ESTEBAN, S.A.
- CONSERVAS FERNÁNDEZ, S.A.  
www.ladiosa.com
- CONSERVAS HOLA, S.L.
- CONSERVAS HUERTAS, S.A.  
www.camerdata.es/huertas
- CONSERVAS LA GRANADINA, S.L.
- CONSERVAS LA ZARZUELA
- CONSERVAS MARTINETE
- CONSERVAS MARTÍNEZ GARCÍA, S.L. - www.cmgsi.com
- CONSERVAS MARTÍNEZ, S.A.
- CONSERVAS MIRA  
www.serconet.com/conservas
- CONSERVAS MORATALLA, S.A.  
www.conservasmoratalla.com
- CONSERVAS SAJARDO, SAU
- COOPERATIVA "CENTROSUR"
- COOPERATIVA "LA PLEGUERA"
- CINARA EU, S.L.
- CREMOFRUIT, S. COOP
- DREAM FRUITS, S.A.  
www.dreamfruits.com
- EL QUIJERO, S.L.
- ESTERILIZACIÓN DE ESPECIAS Y CONDIMENTOS, S.L.
- ESTRELLA DE LEVANTE, FÁBRICA DE CERVEZA, S.A.
- EUROCAVIAR, S.A.  
www.euro-caviar.com
- EXPOLORQUÍ, S.L.
- F.J. SÁNCHEZ SUCESORES, S.A.
- FAROLIVA, S.L. - www.faroliva.com
- FILIBERTO MARTÍNEZ, S.A.
- FRANCISCO CABALLERO GARRO Y OTROS, C.B.
- FRANCISCO JOSÉ SÁNCHEZ FERNÁNDEZ, S.A.
- FRANCISCO MARTÍNEZ LOZANO, S.A.
- FRANMOSAN, S.L.  
www.franmosan.es
- FRIPOZO, S.A.
- FRUTAS ESTHER, S.A
- FRUTAS FIESTA, S.L
- FRUGARVA, S.A.
- FRUVECO, S.A.
- FRUYPER, S.A.
- GLOBAL ENDS, S.A.
- GLOBAL SALADS, LTD.  
www.goldenfoods.es
- GOLDEN FOODS, S.A.
- GOLOSINAS VIDAL, S.A.
- GÓMEZ Y LORENTE, S.L.
- GONZÁLEZ GARCÍA HNOS, S.L.  
www.sanful.com
- GOURMET MEALS, S.L.
- HALCON FOODS, S.A.  
www.halconfoods.com
- HELIFRUSA - www.helifrusa.com
- HERO ESPAÑA, S.A. - www.hero.es
- HRS. ESPIRATUBE, S.L.
- HIJOS DE BIENVENIDO ALEGRÍA, C.B.
- HIJOS DE ISIDORO CALZADO, S.L.  
www.conservas-calzado.es
- HIJOS DE JOSÉ PARRA GIL, S.A.
- HIJOS DE PABLO GIL GUILLÉN, S.L.
- HISPANIA FOODS, S.L.
- HORTÍCOLA ALBACETE, S.A.
- HUEVOS MARYPER, S.A.
- IBERCOCKTEL
- INCOVEGA, S.L.
- INDUSTRIAS AGRÍCOLAS DEL ALMANZORA, S.L.  
www.industriasagricolas.net
- J. GARCÍA CARRIÓN, S.A.  
www.donsimon.com
- JABONES LINA, S.A.
- JAKE, S.A.
- JOAQUÍN FERNÁNDEZ E HIJOS, S.L.
- JOSÉ AGULLÓ DÍAZ E HIJOS, S.L.  
www.conservasagullo.com
- JOSÉ ANTONIO CARRATALÁ PARDO
- JOSÉ CARRILLO E HIJOS, S.L.
- JOSÉ MANUEL ABELLÁN LUCAS
- JOSÉ MARÍA FUSTER HERNÁNDEZ, S.A.
- JOSÉ SÁNCHEZ ARANDA, S.L.
- JOSÉ SANDOVAL GINER, S.L.
- JUAN GARCÍA LAX, GMBH
- JUAN PÉREZ MARÍN, S.A.  
www.jupema.com
- JUVER ALIMENTACIÓN, S.A.  
www.juver.com
- KERNEL EXPORT, S.L.  
www.kernelexport.es
- LANGMEAD ESPAÑA, S.L.
- LIGACAM, S.A. - www.ligacam.com
- MANUEL GARCÍA CAMPOY, S.A.  
www.milafruit.com
- MANUEL LÓPEZ FERNÁNDEZ
- MANUEL MATEO CANDEL  
www.mmcandel.com
- MARÍN GIMÉNEZ HNOS, S.A.  
www.maringimenez.com
- MARÍN MONTEJANO, S.A.
- MARTÍNEZ NIETO, S.A.  
www.marnys.com
- MATEO HIDALGO, S.A.
- MENSAJERO ALIMENTACIÓN, S.A.  
www.mensajeroalimentacion.com
- MIVISA ENVASES, S.A.  
www.mivisa.com
- MULEÑA FOODS, S.A.
- NANTA, S.A.
- NUBIA ALIMENTACIÓN, S.L.
- PATATAS FRITAS RUBIO, S.CL.
- PEDRO GUILLÉN GOMARIZ, S.L.  
www.soldearchena.com
- PENUMBRA, S.L.
- POLGRI, S.A.
- POSTRES Y DULCES REINA, S.L.
- PREMIUM INGREDIENTS, S.L.
- PRODUCTOS BIONATURALES CALASPARRA, S.A
- PRODUCTOS JAUJA, S.A.  
www.productosjauja.com
- PRODUCTOS QUÍMICOS J. ARQUES
- PRODUCTOS MEDITERRÁNEO BELCHÍ SALAS, S.L.
- PRODUCTOS SUR, S.L.
- PRODUCTOS VEGATORIO, S.LL.
- RAMÓN JARA LÓPEZ, S.A.
- ROSTOY, S.A.  
www.rostoy.es
- SAMAFRU, S.A.  
www.samafru.es
- SAT EL SALAR, Nº 7830  
www.variedad.com
- SAT 5209 COARA
- SAT LAS PRIMICIAS
- SOCIEDAD AGROALIMENTARIA PEDROÑERAS, S.A.
- SOGESOL, S.A.
- SUCESORES DE ARTURO CARBONELL, S.L.
- SUCESORES DE JUAN DÍAZ RUIZ, S.L. - www.fruyosol.es
- SUCESORES DE LORENZO ESTEPA AGUILAR, S.A.  
www.eti.co.uk/industry/food/san.lorenzo/san.lorenzo1.htm
- SURINVER, S.C.L.  
www.ediho.es/surinver
- TECNOLOGÍAS E INNOVACIONES DEL PAN  
www.jomipsa.es/tecnopan
- ULTRACONGELADOS AZARBE, S.A.
- VEGETALES CONGELADOS, S.A.
- ZUKAN, S.L.



# Soluciones

a la medida de sus necesidades:  
Leasing-Renting

## Satisfaga las necesidades de su empresa con grandes ventajas fiscales

Cajamar le ofrece dos buenas alternativas para disfrutar de ciertos bienes y servicios como si fuesen propiedad de su empresa y desgravarlos como si fuesen un gasto. El **LEASING CAJAMAR** es un sistema de financiación a modo de alquiler que le ofrece la opción a compra al final del periodo. El **RENTING CAJAMAR** es un sistema de alquiler puro de vehículos y equipos informáticos con "todo incluido". Si quiere descubrir todas sus ventajas, venga a informarse a cualquier oficina de Cajamar.



# Equipamiento para INDUSTRIA DE LA ALIMENTACIÓN

## Medidores de humedad:

## XM 60 / 120

- ✓ Garantía: 3 años
- ✓ Capacidad: 124 g.
- ✓ Precisión: 0,001 g.
- ✓ 5 memorias de programa
- ✓ Temperatura: de 30°C a 120°C
- ✓ Tipo de radiador: infrarrojo

Medidores  
de humedad  
PRECISA



## Estufas de secado:

## Serie 7000

- ✓ Temperatura hasta 250 °C
- ✓ Disponibles varios volúmenes
- ✓ Equipo con regulador especial, con pasos de programas fijos memorizados
- ✓ Modelos con convección natural o circulación forzada de aire

Estufas de secado  
serie 7000  
Function Line



## Mobiliario técnico de laboratorio:

## Planet Laboratory

- ✓ Diseño de laboratorios de investigación, docentes, de plantas industriales, hospitales...
- ✓ Sistemas de ventilación centralizados
- ✓ Instalaciones de servicios: suministros de electricidad, agua, gases, voz y datos...
- ✓ Mobiliario: puestos de trabajo, armarios de seguridad, vitrinas de gases...
- ✓ Diseño y compartimentación modular de laboratorios

PLANET  
A Laboratory

Mobiliario a medida  
de sus necesidades



## Sistema de secado e incineración:

## prepASH

- ✓ Proceso totalmente automatizado de 29 muestras y una muestra de referencia, en un solo ciclo
- ✓ Reducción en los tiempos de trabajo hasta un 50%
- ✓ Permite la realización de ensayos de manera controlada en un amplio rango de temperaturas 50°C - 1.000°C

Sistema automático de  
secado e incineración



## Otros equipos relacionados



Liofilizadores



Balanzas  
precisión



Cabinas  
flujo laminar



Hornos de mufla



Centrifugas

**CONTROLTECNICA** instrumentación científica S.L.

C/ Artesanos 7 (Prado del Espino) 28660 Boadilla del Monte ( Madrid)

Tel. 91 728 08 10

Fax. 91 729 44 54

BARCELONA: 93 486 46 60

ANDALUCÍA: 679 21 02 33

VALENCIA: 679 20 85 37

MURCIA: 686 93 68 31

GALICIA: 616 42 70 94

www.controltecnica.com

SORVALL®  
Heræeus

**CONTROLTECNICA**  
instruments