

APLICACIÓN DE LA INGENIERÍA DE MATRICES EN LA FORTIFICACIÓN DE MANGO (VAR. *TOMMY ATKINS*) CON CALCIO

APPLICATION OF MATRIX ENGINEERING IN THE FORTIFICATION OF MANGO (VAR. *TOMMY ATKINS*) WITH CALCIUM

MISAEEL CORTÉS RODRÍGUEZ

Ingeniería de Alimentos, Ph.D. Universidad Nacional de Colombia- Medellín, mcortesro@unalmed.edu.co

LUÍS FERNANDO GUARDIOLA

Ingeniero Químico, Facultad de Ingenierías. Universidad del Atlántico - Barranquilla

ROGER PACHECO

Ingeniero Químico, Facultad de Ingenierías. Universidad del Atlántico- Barranquilla

Recibido para revisar febrero 12 de 2007, aceptado abril 25 de 2007, versión final mayo 17 del 2007

RESUMEN: La presente investigación analiza la respuesta a la impregnación a vacío en la estructura del mango var. *Tommy Atkin* y cuantifica los niveles de Ca^{+2} alcanzados en el producto enriquecido. Se diseñó una disolución de impregnación a partir de Sacarosa y Ca^{+2} con las cantidades adecuadas de CaCl_2 que permitieran teóricamente incorporar un 20% de la ingesta diaria recomendada (IDR)/200 g de mango fresco. Los parámetros de impregnación obtenidos estuvieron afectados por las interacciones del Ca^{+2} con el material péctico del mango, mientras que los niveles de Ca^{+2} en el producto impregnado fueron superiores (44 %IDR/200 g de mango fresco) al criterio de enriquecimiento teórico. Este fenómeno podría ser atribuido a que la valoración teórica del Ca^{+2} se realizó por diferencia de pesos antes y después del proceso de impregnación, además el vacío aplicado al sistema contribuyó a la salida de líquido nativo del interior de la matriz de la fruta.

PALABRAS CLAVE: Mango, Calcio, Alimentos funcionales, Ingeniería de matrices, Impregnación a vacío

ABSTRACT: The present investigation analyzes the vacuum impregnation response of mango (var. *Tommy Atkins*) structure, and shows the Ca^{+2} concentration reached at the enrichment product. In order to allow an adequate Ca^{+2} incorporation, according to the 20 % Daily Recommended Intake (IDR)/200 g of fresh mango, an impregnation solution was designed with the appropriate amounts of sucrose and CaCl_2 . The impregnation parameters are affected by the interaction between Ca^{+2} and mango pectic material, whereas, Ca^{+2} levels are remarkable higher than the expected enrichment criterion (44% IDR /200 g fresh mango). This phenomenon could be due to Ca^{+2} theoretical quantification obtained after and before weights differences in vacuum impregnation process, furthermore the native liquid flows from the fruit structural matrix to the dissolution as a vacuum pulse effect.

KEYWORDS: Mango, Calcium, Functional foods, Matrix engineering, Vacuum impregnation.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, cada vez se hace más importante para el consumidor ingerir alimentos

que además de los beneficios originales que este le pueda aportar le ayude en el mantenimiento de su salud y en la prevención de enfermedades.

Por tal motivo, cada vez más, un buen porcentaje de la producción mundial de frutas está siendo utilizada en procesos de producción de alimentos funcionales (Milacatl, 2003). El concepto de Alimentos Funcional esta muy expandido,

la Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos los ha definido como “cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado, que pueda proporcionar un beneficio a la salud superior al de los nutrientes tradicionales que contiene” (Cortés y Chiralt, 2005). En la actualidad, encontramos diferentes metodologías de obtención de alimentos funcionales: Ingeniería genética (Burkhardt et al., 1997, Xudong et al., 2000; Banks et al., 1990; Prescha et al., 2003), técnicas de crío y cultivo (Mayo et al., 1995; Oh et al., 1991; Ogasashara et al., 1991, Dhirman et al., 1999), incorporación a granel (tecnología de mayor uso en los programas de fortificación y enriquecimiento a nivel industrial: azúcar, harinas, productos lácteos, aceites vegetales, margarina, bebidas y alimentos líquidos) y la Ingeniería de matrices (Cortés, 2004, Betoret et al., 2003; Grass et al., 2003; Grass et al., 2002; Fito et al., 2001a; Fito et al., 2001b).

El mango como producto fresco goza de gran popularidad entre los consumidores debido a su sabor, olor, color y valor nutritivo, además de contar con una amplia variedad de nutrientes, dentro de los que se encuentran vitaminas, minerales, fibras dietéticas y otros componentes biológicos activos. A esta fruta también se le conoce como excelente para los problemas de piel y convalecencias debido a que es una buena fuente de antioxidantes (Giraldo, 2003).

El enriquecimiento de mango con componentes fisiológicamente activo (CFA), como el Ca^{+2} , podría jugar un papel muy importante en el bienestar físico del ser humano contribuyendo en la formación y el mantenimiento de una masa ósea y dientes fuertes y sanos, en la prevención de enfermedades como la osteoporosis, problemas nerviosos, la contracción de músculos y la coagulación de la sangre, entre otros (FAO, 2001). El riesgo de cáncer de colon es una enfermedad crónica que se ha relacionado con un consumo inadecuado de calcio, sin embargo la evidencia es inconsistente, algunos estudios han reportado dependencia entre falta de Ca^{+2} y

proliferación de mucosa en pacientes (Bostick, et al., 1993), otros han reportado resultados opuestos (Kleibeuker et al., 1993). Otra enfermedad relacionada con la falta de Ca^{+2} en el organismo es la hipertensión o presión arterial alta, esta puede aparecer tanto en niños como adultos. Una buena absorción de calcio requiere la presencia de vitamina D y es por ello que la deficiencia de calcio puede estar relacionada con el raquitismo infantil y en los adultos puede producir ablandamiento de los huesos (osteomalacia) (García, 2003).

La Ingeniería de matrices es una herramienta de la ingeniería de Alimentos que utiliza los conocimientos sobre composición, estructura y propiedades de la matriz estructural de un alimento para producir y controlar cambios que mejoren sus propiedades funcionales y/o sensoriales (Chiralt et al., 1999).

La Ingeniería de matrices utiliza la impregnación a vacío (IV) como mecanismo de incorporación de los CFA. El proceso de IV ha sido descrito a través de la acción del mecanismo hidrodinámico (HDM), como un proceso de transporte de materia en un sistema sólido poroso-líquido a presiones subatmosféricas (Fito et al., 1994; Fito y Pastor, 1994). El sistema durante la acción del HDM experimenta cambios estructurales ocasionados por los cambios de presión, lo que indica que conjuntamente se pueden presentar fenómenos de deformación –relajación (DRP) en la matriz sólida del sistema. Este acoplamiento HDM-DRP en la matriz del producto ha sido modelizado, reflejando cambios en el volumen del producto al final de las etapas a vacío y a presión atmosférica (Fito, 1996; Martínez-Monzó, 1998).

De esta forma los CFA son incorporado dentro de la estructura del alimento a partir de una disolución en la cual pueden ser disueltos, emulsificados y dispersados. La IV permite la incorporación de los solutos deseados en los alimentos de una forma rápida y controlada y no destruye la matriz inicial del producto, sino que únicamente ocupa una parte de su fracción porosa inicial con la disolución, emulsión o dispersión de impregnación (Fito et al., 2001a; Fito et al., 2001b; Fito y Chiralt, 2000).

Una función muy importante del Ca^{+2} en la estructura de los algunos alimentos es favorecer la textura del producto (Imeson, 1997; Sham et al., 2001). Por este motivo, en el proceso de enriquecimiento de frutas o vegetales con calcio se debe tener presente el hecho de que la solución de impregnación de calcio puede interactuar con la matriz celular de la planta, modificando sus propiedades estructurales y mecánicas, e incluso su respuesta a la IV (fracción volumétrica (X) y másica de impregnación (X_{HDM})) (Grass et al., 2003; Grass et al., 2002).

El objetivo de la presente investigación ha sido estudiar la respuesta a la impregnación a vacío del mango a partir de una disolución de impregnación con Ca^{+2} , que permitiera obtener un producto de mango mínimamente procesado enriquecido.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materias Primas

Se emplearon mangos de la variedad *Tommy Atkins* adquiridos en un supermercado de la ciudad de Barranquilla, seleccionados con un grado de madurez similar y almacenados a 4 °C. Las formas utilizadas fueron rectangulares (1.67 x 1.67 x 2.00 cm³ y 1.67 x 1.67 x 3.00 cm³) y cilíndricas (diámetro: 1.67 cm, longitud: 2.00 y 3.00 cm). Se utilizó Ca^{+2} en la forma química $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

2.2 Caracterización Físicoquímica

Las determinaciones del contenido de humedad y acidez se realizaron según los métodos 934.06 y 942.15 (AOAC, 1996) respectivamente. Los sólidos solubles se determinaron usando un refractómetro portátil marca Atago, modelo VBR0032. La actividad de agua (a_w) se determinó con un higrómetro de punto de rocío a 25 °C (Aqualab Decagon). La densidad aparente del mango (ρ_{apm}) se determinó a partir de la masa de diferentes figuras de volumen definido. El cálculo de la porosidad eficaz (ϵ_c) de la fruta disponible al proceso IV se determinó a partir de la ecuación 5 ($r = P_{\text{atm}}/P_{\text{vacío}}$), bajo la

La densidad real del mango (ρ_r) se determinó a partir del contenido de humedad (x_w) (ecuación 1), (Lewis, 1996), donde se asumió que la muestra estaba compuesta únicamente por carbohidratos y agua (Giraldo, 2003). La porosidad real del mango (ϵ) se determinó a partir de la ecuación 2. El pH se determinó usando un potenciómetro marca Titrimo modelo 7025. El índice de madurez se calculó empleando la relación de sólidos solubles / acidez.

$$\rho_r = \frac{1}{\frac{x_w}{1000} + \frac{1-x_w}{1500}} \quad [1]$$

$$\epsilon = \frac{\rho_r - \rho_{\text{apm}}}{\rho_r} \quad [2]$$

2.3 Impregnación a Vacío

Los ensayos de IV se realizaron en una cámara hermética de acero inoxidable acoplada a una bomba de vacío. La evolución de la masa se registró al inicio y final del proceso. Las muestras inicialmente se sumergieron en una solución isotónica de sacarosa de 16 °Brix con igual a_w que el mango y se colocaron dentro de la cámara de vacío. Posterior se aplicó una presión de vacío de 82 mbar durante 10 minutos, seguido por otros 10 minutos a presión atmosférica. A cada muestra impregnada se le determinaron los parámetros de impregnación X ($\text{m}^3_{\text{dis}}/\text{m}^3_{\text{mango fresco}}$) y X_{HDM} ($\text{kg}_{\text{Ca}}/\text{kg}_{\text{mango impregnado}}$) mediante las ecuaciones 3 y 4 respectivamente, para lo cual se determinó la densidad de la disolución de impregnación (ρ_{dis}) por el método del picnómetro a 20°C, método oficial 945.06 (AOAC, 1990).

$$X = \frac{M_f - M_i}{\rho_{\text{dis}} \left(\frac{M_i}{\rho_{\text{apm}}} \right)} \quad [3]$$

$$X_{\text{HDM}} = \frac{M_f - M_i}{M_f} \quad [4]$$

consideración de que en el proceso de impregnación, la deformación en la etapa de vacío es despreciable y que no hay deformación

en la etapa de presión atmosférica (Fito, 1994; Fito y Pastor, 1994).

$$\varepsilon_e = \frac{X}{(1 - 1/r)} \quad [5]$$

La determinación del contenido de Ca (Y^{Ca}) (kg Ca^{+2} / kg dis.) en la disolución de impregnación se calculó a partir de la ecuación 6, partiendo de un balance de materia en el sistema de impregnación disolución – fruta (Cortés, 2004). Esta ecuación requiere del conocimiento de un valor preliminar de X, tomado a partir de los ensayos preliminares de impregnación solo con la disolución isotónica de sacarosa 16 °Brix y del valor de x_{Ca}^{IV} . Este último se determinó a partir de la ecuación 7 con base en el criterio de enriquecimiento (160 mg de Ca^{+2} / 200 g mango fresco \approx 20 %IDR para adultos). El contenido de Ca^{+2} a en el mango fresco (x_{Ca}^0) se determinó del análisis cuantitativo por Espectrofotometría de absorción atómica (7.45 mg Ca^{+2} / 100 g mango fresco)

$$Y^{Ca} = \frac{X_{Ca}^{IV} (\rho_{apm} + X\rho_{dis}) - x_{Ca}^0 \rho_{apm}}{X\rho_{dis}} \quad [6]$$

$$x_{CFA}^{IV} = \frac{0.160}{(200 + 200 X \frac{\rho_{dis}}{\rho_{apm}})} \quad [7]$$

2.4 Determinación Analítica del Contenido de Calcio.

El contenido de Ca^{+2} en las muestras frescas y fortificadas se determinó por absorción atómica en un espectrofotómetro Perkin Meyer modelo 3300. Para ello se empleó una lámpara de cátodo hueco de calcio y se trabajó a una longitud de onda de 422.7 nm con una flama de aire-acetileno. La cuantificación de Ca^{+2} en el mango fresco y en el mango fortificado se realizó por triplicado. El procedimiento aplicado fue el siguiente:

Se tomaron aproximadamente 20 g de muestra de mango homogenizado (puré) y se disolvieron en 35 mL de HCl concentrado y 6 mL de HNO_3 concentrado. Esta solución se calentó bajo

agitación continua y la solución resultante se filtró para asegurar que la materia orgánica que no se digirió se encontrara presente en la solución.

Se realizaron las diluciones necesarias para que las muestras se encontraran en el rango de la curva estándar del equipo. Para ello se tomó una alícuota de 20 mL de la solución final y se traspaso a un matraz aforado de 50 mL, se le adicionaron 20 mL de $LaCl_3$ al 2% p/p y se completó a volumen con agua.

Se prepararon 3 estándares de Ca^{+2} (1, 3 y 5 ppm) a partir de una solución estándar de 1000 ppm de Ca^{+2} (Merck).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización Físicoquímica

Tabla 1. Caracterización físicoquímica del mango fresco

Table 1. Physicochemical Characterization of fresh mango.

| Característica | Valor |
|---|-------------------|
| Actividad de agua | 0.983 ± 0.002 |
| Humedad (%) | 83.6 ± 0.5 |
| pH | 3.2 |
| Acidez (g ácido cítrico/100 g muestra) | 1.4 ± 0.2 |
| Sólidos solubles (°Brix) | 10.0 ± 0.1 |
| Índice de madurez | 7.3 ± 0.9 |
| Densidad aparente fruta (kg/m ³) | 987.3 ± 0.1 |
| Densidad real fruta (kg/m ³) | 1057.8 ± 1.9 |
| Porosidad real del mango (ε) | 0.066 ± 0.001 |

La tabla 1 presenta los valores promedios y desviaciones estándar de la caracterización físicoquímica del mango fresco. Los resultados en la mayoría de los parámetros se consideran aceptables en comparación con investigaciones de variedades similares y diferentes (Mujica-Paz et al., 2003; Salvatori, 1997) y para el caso de los °Brix, estos presentan valores inferiores,

debido al mismo criterio de selección en cuanto al estado de madurez.

3.2 Proceso de Impregnación a Vacío

La tabla 2 presenta los valores promedios y las desviaciones estándar de los parámetros de impregnación obtenidos a partir de la disolución isotónica de sacarosa 16 °Brix correspondiente a cada tipo de muestra.

A partir de los valores promedios obtenidos de X , en cada caso se determinó el contenido teórico de Ca^{+2} en la disolución de impregnación (Y^{Ca}) de acuerdo al criterio de fortificación.

Los resultados del ANOVA no presentaron diferencias estadísticamente significativas debido al tipo de muestra y por ello se consideró trabajar con un único valor de Y^{Ca} para todas las muestras (10.7×10^{-3} kg de Ca^{+2} / kg dis.).

Tabla 2. Parámetros de impregnación teóricos considerados en el diseño de la disolución de impregnación.

Table 2. Impregnation theoretical parameters for the design of the impregnation dissolution.

| Muestra | X | $X_{\text{Ca}}^{\text{IV}} \times 10^4$ | $Y^{\text{Ca}} \times 10^3$ | ϵ_e |
|--|---------------|---|-----------------------------|---------------|
| Rectangular (1.67 x 1.67 x 2.00 cm ³) | 0.067 ± 0.008 | 7.45 ± 0.00 | 9.9 ± 1.1 | 0.073 ± 0.008 |
| Rectangular (1.67 x 1.67 x 3.00 cm ³) | 0.059 ± 0.009 | 7.51 ± 0.00 | 11.4 ± 1.9 | 0.057 ± 0.007 |
| Cilíndrico (altura = 2.00 cm.) | 0.063 ± 0.012 | 7.48 ± 0.00 | 10.7 ± 2.2 | 0.064 ± 0.001 |
| Cilíndrico (altura = 3.00 cm.) | 0.053 ± 0.006 | 7.56 ± 0.00 | 12.5 ± 1.5 | 0.069 ± 0.013 |

Tabla 3. Respuesta a la IV con la disolución de impregnación de fortificación

Table 3. Answer of the IV with the impregnation dissolution of fortification

| Muestra | X | X_{HDM} | ϵ_e |
|--|---------------|------------------|---------------|
| Rectangular (1.67 x 1.67 x 2.00 cm ³) | 0.010 ± 0.003 | 0.011 ± 0.003 | 0.011 ± 0.003 |
| Rectangular (1.67 x 1.67 x 3.00 cm ³) | 0.014 ± 0.007 | 0.016 ± 0.008 | 0.015 ± 0.008 |
| Cilíndrico (altura = 2.00 cm.) | 0.012 ± 0.002 | 0.013 ± 0.002 | 0.013 ± 0.002 |
| Cilíndrico (altura = 3.00 cm.) | 0.012 ± 0.005 | 0.013 ± 0.008 | 0.013 ± 0.006 |

Los valores de ϵ_e obtenidos con la disolución teórica (tabla 2) nos muestra una gran disponibilidad de los espacios intercelulares para la incorporación de la disolución, siendo en términos generales del mismo orden de la porosidad real (ϵ) (6.6%); en cambio los valores de ϵ_e obtenidos con la disolución de impregnación de fortificación (tabla 3), en todos los casos fueron menores que ϵ . Este resultado

nos indica, que en términos reales toda la porosidad de la fruta no está disponible para el proceso de impregnación, debido a muchos factores como:

- El efecto de capilaridad.
- Las modificaciones estructurales ocasionadas por los cambios de presión en el sistema; ya que este volumen libre no es completamente llenado (Mujica–Paz, 2003).

- La viscosidad de la disolución que determina la pérdida de carga durante la entrada del líquido en los poros del tejido (Fito y pastor, 1994).

Valores menores de ε_c han sido reportados igualmente por otros investigadores en las variedades de mango *Manila* y *Tommy Atkins* (Mujica-Paz, 2003; Salvatori, 1997). Esto resulta coherente por la influencia misma que la forma, tamaño y disolución de impregnación tienen en la respuesta a la IV.

En la tabla 3 se presenta los valores promedios y las desviaciones estándar de todos los parámetros de impregnación obtenidos a partir de la disolución de impregnación con sacarosa y Ca^{+2} , correspondiente a cada tipo de muestra. Se observa que la respuesta a la impregnación está siendo afectada por la presencia de los iones de Ca^{+2} , siendo estadísticamente muy significativo con respecto a las muestras impregnadas con disolución isotónica. Este resultado es atribuible principalmente a las interacciones de las pectinas del mango con los iones Ca^{+2} presentes en la disolución, las cuales inducen a un sistema gelificado en el interior de la estructura incrementando la caída de presión del líquido a la entrada del poro.

El proceso de impregnación con la disolución de fortificación, produce una reducción mucho mayor en la porosidad eficaz que con la disolución isotónica, indicando una mayor contracción del volumen de poros durante el proceso, debido al mismo acoplamiento del HDM y DRP.

3.3 Fortificación de Mango con Ca^{+2}

La tabla 4, presenta los niveles de Ca^{+2} obtenidos para el mango fresco y para el mango fortificado. Los resultados obtenidos (aproximadamente 44% IDR) muestran lo efectivo del proceso de IV como metodología de enriquecimiento. El mayor nivel de Ca^{+2} obtenido en la estructura del mango fortificado, se atribuye a que la cantidad teórica se cuantificó a partir de la diferencia de peso de la muestra antes y después del proceso de impregnación, sin tener en cuenta la posible salida de líquido intracelular por efecto del vacío; el cual, es también sustituido por disolución externa portadora de Ca^{+2} . Esta situación permite un ingreso mayor de disolución de impregnación y el error depende de la cantidad de líquido nativo presente en los espacios intercelulares en cada muestra.

Tabla 4. Niveles de Ca^{+2} en el mango fresco y fortificado.

Table 4. Levels of Ca^{+2} in the fresh and fortified mangoes.

| Producto | (mg. Ca / 200g mango fresco) | % IDR |
|-------------------|------------------------------|------------|
| Mango fresco | 14.9 ± 0.1 | 2.0 ± 0.2 |
| Mango fortificado | 351.3 ± 2.7 | 43.9 ± 0.3 |

4. CONCLUSIONES

La fortificación del tejido del mango con calcio por el proceso de IV se vio afectado por una reducción en X al utilizar la disolución de fortificación con sacarosa y Ca^{+2} , debido a la gelificación que se da a lugar al interior de la matriz, así como a la participación del acoplamiento HDM – DRP. El vacío aplicado en

el sistema de impregnación permitió la salida de líquido nativo del interior de la matriz de la fruta, lo que contribuyó a que se alcanzaran niveles mayores de Ca^{+2} (44 %IDR/200 g mango fresco) en comparación con el criterio de fortificación fijado teóricamente (20% IDR/200 g mango fresco).

REFERENCIAS

- [1] MILACATL, V. Cambios en atributos sensoriales y degradación de ácido ascórbico en función de la temperatura en puré y néctar de mango [Trabajo de grado]. Puebla, Mexico Universidad de las Américas, Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, 2003.
- [2] CORTÉS, M.; CHIRALT, A. Alimentos Funcionales: Una historia con mucho presente y futuro. VITAE, Volumen 12 (1), 5-14, 2004.
- [3] BURKHARDT, P.K.; BEYER, P.; WUENN, J.; KLOETY, A.; ARNSTROM, G.A.; SCHLEDZ, M.; VON LINTING, J.; POTRIKUS, I. Transgenic rice (*oryza sativa*) endosperm expressing daffodil (*Narcissus pseudo narcissus*) phytoene synthase accumulates phytoene a key intermediate of provitamin A biosynthesis. *Plant Journal*, 11(5), 1071-1078, 1997.
- [4] XUDONG, Y.; AL-BABILI, S.; KLOETI, A.; JING, Z.; LUCCA, P.; BEYER, P.; POTRIKUS, I. Engineering The provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science*, 287 (5451), 303-305, 2000.
- [5] BANKS, W.; CLAPPERTON, J.L.; KELLY, M.E.; WILSON, A.G.; CRAWFORD, R.J.M. The yield fatty acid composition and physical properties of milk fat obtained by feeding Soya oil to dairy cows. *Journal of the science of food and agriculture*, 31(4), 368-374, 1990.
- [6] PRESCHA, A.; BIERNAT, J.; WEBER, R.; ZUK, M.; SZOPA, J. The influence of modified 14-3-3 protein synthesis in potato plants on the nutritional value of the tubers. *Food Chemistry*, 82 (4), 611-617, 2003
- [7] MAYO, P.K.; ELSWYK, V.; KUBENA, K.S. Shell Eggs as A Vehicle for Dietary Omega-3 Fatty Acids: Influence on Serum Lipids and Platelet Aggregation in Humans. *Journal of the American Dietetic Association*, Volume 95, Issue 9, Supplement 1, A10, 1995
- [8] OH, I.Y.; RYUE, J.; HSIEH, C.H.; BELL, D.E. Eggs enriched in omega-3 fatty acids and alterations in lipids concentrations in plasma and lipoproteins and blood pressure. *American Journal of clinic Nutrition* 54(4), 689-695, 1991.
- [9] OGASASHARA, J.; HARIU, H.; TAKAHASHI, M. Process for producing liquid egg thus produced. European-Patent-Application; EP 0 426 425 A1, JP 89-282217, (19891030), 1991.
- [10] DHIRMAN, T.R.; ANAN, G.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *Journal of Dairy Science*, 82 (10), 2146-2156, 1999.
- [11] CORTÉS, M. Desarrollo de productos de manzana deshidratados enriquecidos con vitamina E. Tesis Doctoral. Valencia, España, Universidad Politécnica de Valencia, 2004.
- [12] BETORET, N.; PUENTES, L.; DÍAZ, M.J.; PAGÁN, M.J. GARCIA, M.J.; GRASS, M.L.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; FITO, P. Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of food Engineering*, 56, 273-277, 2003
- [13] GRASS, M.; VIDAL-BROTOS, D.; BETORET, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. Calcium Fortification of vegetables by vacuum impregnation Interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering*, 56, 279-284, 2003.
- [14] GRASS, M.; VIDAL-BROTOS, D.; BETORET, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. The response of some vegetables to vacuum impregnation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3, 263-269, 2002.
- [15] FITO, P.; CHIRALT, A.; BETORET, N.; GRASS, M.; CHÁFER, M.; MARTINEZ-MONZO, J.; ANDRÉS, A.; VIDAL, D. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49, 175-183, 2001.

- [16] FITO P, CHIRALT A, BARAT, J. M., MARTINEZ-MONZO, J.; MARTÍNEZ – NAVARRETE, N. Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*, 49, 297-302, 2001
- [17] GIRALDO G. A. Deshidratación osmótica de mango (*Mangifera Indica*) Aplicación al escarchado [Tesis Doctoral]. Universidad Politécnica de Valencia, España, 2003.
- [18] FAO/WHO Expert consultation. Human Vitamin and Mineral Requirement. Report of a joint, 303 p, Bangkok, 2001.
- [19] BOSTICK, R. M.; POTTER, J. D.; FOSDICK, L.; GRAMBSCH, P. ; LAMPE, J. W. ; WOOD, J.R. ; LOUIS, T. A.; GANZ, R.; GRANDITS, G. Calcium and colorectal epithelial cell proliferation: A preliminary randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Journal of National Cancer Institute*, 85, 132–141, 1993.
- [20] KLEIBEUKER, J. H., WELBERG, J. W. ; MULDER, N. H.; VAN DER MEER, R.; CATS, A. ; LIMBURG, A. J.; KREUMER, W. M.; HARDONK, M. J.; DE VRIES, E. G.. Epithelial cell proliferation in the sigmoid colon of patients with adenomatous polyps increases during oral calcium supplementation. *Journal of Cancer*, 67, 500–503, 1993.
- [21] GARCÍA, R. Estudio de la estabilidad de un alimento funcional formulado con placas de manzana impregnadas a vacío con calcio y zinc [Trabajo de grado]. Universidad de las Américas, Puebla, Mexico, Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, 2003
- [22] CHIRALT, A.; FITO, P.; ANDRÉS, A.; BARAT, J. M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Vacuum impregnation: a tool in minimally processing of foods. En: *Processing of Foods: Quality Optimization and Process Assesment*. (Eds. F.A.R. Oliveira y J. C. Oliveira), CRC Press, Boca Ratón, 341-356, 1999.
- [23] FITO, P. Modelling of vacuum osmotic dehydration of foods. *Journal of Food Engineering*, 22, 313-328, 1994
- [24] FITO, P. PASTOR, R. On some diffusional mechanism occurring Vacuum Osmotic Dehydration (VOD). *Journal of Food Engineering*,; 21, 513 – 519, 1994.
- [25] FITO, P.; ANDRES A.; CHIRALT, A.; PARDO, P. Coupling of Hydrodynamic Mechanism and Deformation-Relaxion Phenomena During Vacuum Treatments in Solid Porous Food-Liquid Systems. *Journal of Food Engineering*, 27, 229-240, 1996.
- [26] MARTINEZ-MONZÓ, J. Cambios físico-químicos en manzanas Granny Smith asociados a la impregnación a vacío. Aplicaciones en congelación [Tesis Doctoral]. Valencia , España, Universidad Politécnica de Valencia, 1998.
- [27] FITO, P., CHIRALT, A.. Vacuum Impregnation of Plant Tissues. Design of Minimal processing technologies for Fruits and Vegetables. Alzamora S.M, Tapia M.S & Lopez-Malo A. Aspen Publisher, Inc, Maryland, 189–204, 2000.
- [28] IMESON, A. Thickening and Gelling Agents for Food. 2^a ed. Blackie Academic & Professional, London, Weinheim, New York, Melbourne, Madras, 24-44, 230-261, 1997.
- [29] SHAM, P. Y. H.; SCAMAN, T. D.; DURANCE, T. D. Texture of Vacuum Microwave Dehydrated Apple Chips as affected by Calcium Pretreatment, Vacuum Level, and Apple Variety. *Journal of Food Science*, 66 (9), 1341-1347, 2001.
- [30] MUJICA-PAZ, H.; VALDEZ, A.; LÓPEZ, A.; PALOU, E.; WELTY, J. Impregnation properties of some fruits at vacuum pressure. *Journal of Food Engineering*, 56, 307 – 314, 2003.
- [31] SALVATORI D. Deshidratación osmótica de frutas: Cambios composicionales y estructurales a temperaturas moderadas [Tesis Doctoral]. Valencia, Universidad Politécnica de Valencia, 1997.