

Cambios de las propiedades bromatológicas durante el almacenamiento de la harina artesanal de coco.

Changes in bromatologic properties during the storage of handmade coconut flour.

Autores: MSc. Angel Rafael Ramirez-Ramirez, Lic. Yurelkys Fernandez-Maura, MV. Yanixi Acosta-Acosta, Lic. Flora Zabala-Duchesne, Lic. Yordanska Vicente-Sevillano.

Organismo: Facultad Agroforestal (FAF), Universidad Guantánamo, Cuba.

E-mail: aramirez@cuq.co.cu

Resumen.

La harina artesanal de coco (HAC) es un subproducto agroindustrial de fácil descomposición cuando se almacena. Con el objetivo de profundizar en las causas y los efectos de este proceso se caracterizó preliminarmente el crecimiento microbiano durante el almacenamiento de la HAC bajo condiciones anaeróbicas y se determinaron las principales variables bromatológicas al inicio y al final de este almacenamiento (Materia Seca (MS), Proteína Bruta (PB), Fibra Bruta (FB), Grasa y Cenizas, así como las cantidades de calcio y magnesio). Los experimentos se realizaron en la Facultad Agroforestal de Universidad de Guantánamo, en el periodo marzo-mayo de 2014. La cantidad y diversidad de microorganismos detectados apuntan al desarrollo de una sucesión microbiana durante el almacenamiento de la HAC fresca. El crecimiento microbiano detectado durante el almacenamiento de la HAC incrementa el % Grasa, disminuye el % FB y no afecta los % PB, % cenizas, % Mg y % Ca.

Palabras clave: harina artesanal de coco; crecimiento microbiano; propiedades bromatológicas.

Abstract.

Handmade coconut flour (HAC) is an agricultural byproduct prone to decomposition when is stored under anaerobic conditions. In order to deepen into the causes and effects of this process a preliminary characterization of the microbial growth during the short-term storage of fresh HAC under anaerobic conditions was conducted, as well as the determination of certain bromatological properties at the beginning and at the end of this storage. It was determined: Dry Weight, Gross Protein, Gross Fiber, Fat, Ashes, as well as Calcium and Magnesium. The experiments were performed at the Agroforestry Faculty, University of Guantnamo during the months March-May/2014. The quantity and diversity of the microorganisms detected indicate the development of a microbial succession during the storage of fresh HAC under anaerobic conditions. The microbial growth detected increases the % Fat, decreases the % Gross Fiber and produces no changes in the % Gross Protein, % Ashes, % Ca and % Mg.

Keywords: microbial growth; handmade coconut flour; bromatological properties.

Introducción.

La harina de coco es el subproducto más importante del coco después del aceite de coco. Uno de los usos más comunes de la misma es su empleo como alimento animal donde ha sido utilizado en la alimentación de aves y cerdos. La producción de harina de coco ocurre mediante un proceso industrial que implica primero la obtención de la copra de coco mediante el secado artificial y molinado de la fruta y luego la separación del aceite de coco a presión. El residuo que se obtiene se nombra harina de coco y se caracteriza por contener bajos niveles de humedad. Esta harina de coco puede ser almacenada por ciertos periodos de tiempo sin que se modifiquen significativamente sus propiedades (Cornelius, 1973; Ly *et al.*, 2005). Tal y como sucede en la fábrica que para estos efectos existe en Baracoa, zona donde existen las mayores plantaciones de coco del país.

Alternativo al procesamiento industrial del coco, existe otro artesanal que realizan campesinos de la región de Baracoa con el objetivo de extraer el aceite de coco. Este procedimiento incluye lavados sucesivos con agua caliente del coco rallado para lograr la extracción de la mayor cantidad posible de aceite. En este proceder también se genera harina como subproducto denominada Harina Artesanal de Coco (HAC) que a diferencia de la industrial se descompone con facilidad lo que dificulta su almacenamiento.

La HAC también se emplea en la alimentación animal de forma totalmente empírica en tanto se desconocen sus propiedades bromatológicas; igualmente no existe información acerca de la presencia de microorganismos en la HAC que contribuyan a su rápida descomposición. De ahí, que el objetivo de este trabajo fue caracterizar el crecimiento preliminar microbiano durante el almacenamiento de la HAC en condiciones anaeróbicas, así como de los cambios que sufren las principales variables bromatológicas durante proceso.

Desarrollo.

Materiales y métodos

La Investigación se desarrolló durante el período marzo a mayo de 2014 en la Facultad, Universidad Guantánamo. El material utilizado fue la harina de coco artesanal (HAC) obtenida de la extracción del aceite de coco por el método artesanal, procedente del Municipio de Baracoa, Provincia Guantánamo. Los experimentos se realizaron por triplicado para lo cual se tomaron 5 Kg de HAC y se almacenaron en una bolsa cerrada de manera similar a como ocurre en la práctica.

La caracterización preliminar del crecimiento microbiano de la HAC, se realizó mediante un conteo total de bacterias y levaduras con el empleo de los medios de cultivo Agar nutriente y DYPA suplementado con cloranfenicol, respectivamente. Como muestras se tomaron 20 g de HAC almacenada cada 12 horas por 120 horas, los que se mezclaron con 180 mL de solución salina (NaCl 0,85%). A partir del sobrenadante de la suspensión obtenida, se realizaron 5 diluciones seriadas 1/10. 100 μ L de cada dilución fueron inoculados en placas conteniendo el medio de cultivo específico para bacterias o levaduras. Las placas se incubaron a temperatura ambiente y la cantidad de colonias por placa fueron cuantificadas entre 24 y 36 horas después de la inoculación (Jespersen *et al.*, 2005).

Para la caracterización bromatológica de la HAC se emplearon muestras del inicio (MI) y del final (MF) del almacenamiento las que fueron analizadas en el Laboratorio de Química de la Facultad Agroforestal, Universidad de Guantánamo. Se determinaron las siguientes variables: % Materia Seca (MS), % Grasa (Grasa), % Proteína Bruta (PB), % Cenizas (Cenizas), % de calcio (% Ca) y % Magnesio (% Mg) según la metodología descrita por la AOAC (1995) y teniendo en cuenta las modificaciones de las normas cubanas. El contenido de fibra bruta se realizó según Van Soest (1994) y siguiendo las modificaciones de Herrera (1986).

Se empleó un diseño completamente aleatorizado con dos tratamiento (MI y MF) y cuatro réplicas por tratamiento. Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el paquete *Statistic* 10.0, con una probabilidad de $p \leq 0.05$.

Resultados y discusión

Estudio preliminar del crecimiento microbiano durante el almacenamiento de la harina artesanal de coco

El crecimiento de microorganismos depende de un conjunto de factores entre los que se incluyen la presencia de nutrientes, agua, y valores adecuados de pH y temperatura. Como subproducto agrícola, la HAC fresca (MI) muestra algunas de ellas, en particular un alto contenido de agua como se deduce del 16,97 % de materia seca obtenido; lo que unido a otros factores propicia el crecimiento microbiano cuando el producto es conservado en condiciones anaeróbicas (Frioni, 1999; Carrillo, 2003).

El crecimiento microbiano en varios subproductos como la pulpa de café y de cacao y, los residuos industriales del procesamiento de frutas y vegetales ocurre en forma de una sucesión de diferentes actividades microbianas (Frioni, 1999; Ardhana y Fleet, 2003; Jespersen *et al.* 2005). Para obtener evidencias preliminares de la presencia de una sucesión microbiana durante la descomposición de la HAC almacenada se realizó un conteo de levaduras y bacterias a diferentes tiempos.

La Tabla 1 muestra los resultados del conteo de colonias de levaduras, como se observa se detectaron dos tipos de colonias en cuanto a su forma: Lisas (L) y estriadas (E). Reflejo de la diversidad de levaduras presentes, téngase en cuenta la gran cantidad de levaduras que muestran la misma forma de crecimiento. Otro aspecto que sugiere diversidad en las levaduras presentes en la fermentación de la HAC es la intermitencia en el crecimiento que muestran las colonias estriadas en comparación con las colonias lisas. Como se observa en la Tabla 1, las colonias lisas aparecen desde tiempo 0 y se detectaron hasta las diluciones -4 y/o -5 durante las primeras 72 horas. A partir de ahí comienzan a disminuir hasta que prácticamente desaparecen a las 96 horas. La presencia de estas colonias en diluciones elevadas como las -4 y -5 es indicativa del alto número de ellas. Por su parte, las colonias estriadas presentan un máximo a las 12-24 horas con presencia en las dilución -3 y -4, disminuyendo a las 36 horas hasta la dilución -1, para volver a incrementarse hasta alcanzar un pico a las 72 horas hasta la dilución -4 y desaparecer 24 horas después. La caída en el crecimiento de las levaduras después de las 84 horas debe ser el resultado del incremento de la temperatura en el producto en conservación, la cual resultaba evidente al tacto. En total fueron contabilizadas 4 838 colonias de levaduras.

Tabla 1. Conteo de Levaduras durante el proceso de fermentación de la harina artesanal de coco.

Tiempo (h)	Diluciones					
	0	-1	-2	-3	-4	-5
0	+300 L 80 E	+ 300 L 70 E	+300 L 60 E	88 L 5 E	10 L	0
12	280 L 164 E	191 L 50 E	183 L 9 E	62 L 5 E	7 L 3 E	2 L
24	256 L 150 E	255 L 37 E	79 L 15 E	57 L 1 E	8 L	0
36	+300 L 30 E	250 L 13 E	150 L	10 L	1 L	0
48	145 L 150 E	99 L 42 E	82 L 23 E	74 L 5 E	11 L	2 L
60	100 L 48 E	62 L 20 E	48 L 5 E	15 L 2 E	8 L	1E
72	45 L 70 E	24 L 35 E	23 L 15 E	16 L 4 E	11L 1 E	1L
84	10 L 39 E	6 L 66 E	2 L 5 E	2 L 4 E	1 L 0	0
96	3 L 2E	2 L 0	0 0	0 0	0 0	0 0
108	0	0	0	0	0	0
120	0	0	0	0	0	0

Leyenda: L-lisa, E-estriada

Las levaduras juegan un rol clave en la sucesión microbiana. Ellas intervienen en el inicio del proceso. El crecimiento de las levaduras es inicialmente favorecido por una elevada concentración de azúcares fermentables. La hidrólisis y degradación de estos hidratos de carbono libera la energía que es utilizada por estos microorganismos para su desarrollo (Ardhana y Fleet, 2003; Jespersen *et al.*, 2005).

En el caso de las bacterias se observó la presencia de dos tipos de colonias (Tabla 2), distinguibles por su color: colonias blancas y colonias amarillas, siendo las colonias blancas las predominantes.

Tabla 2. Conteo de bacterias durante el proceso de fermentación de la harina de coco artesanal.

Tiempo (h)	Diluciones					
	0	-1	-2	-3	-4	-5
0	+300 B 100 A	+ 300 B 80 A	+300 B 44 A	+ 300 B	+ 300 B	+ 300 B
12	+300 B 100 A	+ 300 B 50 A	200 B 5 A	150 B	100 B	50 B
24	+300 B 100 A	+ 3 00 B 30 A	+300 B 1 A	+ 300 B	250 B	51 B
36	+ 300	+ 300 B	+300 B	+ 300 B	247 B	24 B

	B 5 A					
48	+300 B 3 A	+ 300 B 1 A	+300 B	225 B	100 B	29 B
60	+300 B 3 A	180 B	96 B	85 B	78 B	15 B
72	+300 B	+ 300 B	250 B	157 B	45 B	10 B
84	156 B 20 A	152 B 3 A	25 B	10 B	5 B	3 B
96	130 B 50 A	104 B 4 A	85 B 4 A	7 B 2 A	2 B 1 A	0
108	200 B 2 A	43 B	2 B	0	0	0
120	10 B	0	0	0	0	0

Leyenda: B-blancas, A-amarillas

En comparación con las levaduras, las bacterias se presentaron en mayor cantidad, en tanto fueron contabilizadas 8 898 colonias de bacterias un 84% más que levaduras. Reflejo de la mayor rapidez en el crecimiento que tienen las bacterias en comparación con las levaduras.

También se observaron diferencias entre los periodos de crecimiento de las colinas blancas y las amarillas. Las colonias blancas crecieron desde el inicio hasta las 120 horas cuando se detuvo el experimento. Es de destacar el elevado número de estas colonias, al detectarse en la dilución -5 durante las primeras 84 horas a partir de donde comenzaron disminuir hasta desaparecer.

Para el caso de las colonias amarillas, estas presentaron dos momentos durante todo el proceso fermentativo, el primer momento desde tiempo 0 hasta las 60 horas cuando desaparecieron (con presencia hasta la dilución -1), para luego volver a aparecer a las 84 horas y desaparecer después de las 108 horas pero esta vez se detectaron colonias hasta la dilución -4 indicativo del mayor número de bacterias cuyas colonias muestran este color durante su crecimiento. Tanto el color de las colonias como las variaciones en los periodos de crecimiento sugieren la presencia de varios tipos de bacterias durante la fermentación espontánea de la harina de coco.

El análisis general de la fermentación espontánea revela la presencia de varios tipos de bacterias y levaduras, así como la mayor persistencia en el tiempo de las bacterias con respecto a las levaduras, en tanto las bacterias crecieron hasta las 120 horas, mientras que las levaduras habían prácticamente desaparecido a las 84 horas. En este hecho influyen varios factores como por ejemplo la habilidad de las bacterias de proliferar en presencia de ácido cítrico, producido por las levaduras en su crecimiento (Jespersen *et al.*, 2005).

Otro factor que contribuye a la persistencia de las bacterias, es la existencia de bacterias termo-resistentes que puede soportar las elevadas temperaturas que se registran al final de la fermentación, a diferencia de las levaduras que en su mayoría mueren a temperaturas superiores a los 50°C. Los datos presentados con relación al crecimiento microbiano sugieren fuertemente el desarrollo de una sucesión microbiana durante la fermentación espontánea de la harina de coco artesanal (Jespersen *et al.*, 2005; Camu *et al.*, 2007).

Para confirmar la presencia de levaduras y bacterias en las placas, se tomaron muestras de varias colonias para su observación al microscopio óptico. La figura 1 muestra fotografías ejemplos de las observaciones de levaduras (1A) y bacterias (1B). Las características morfológicas observadas al microscopio óptico son semejantes a las esperadas para este tipo de microorganismo (Frioni, 1999; Carrillo, 2003).

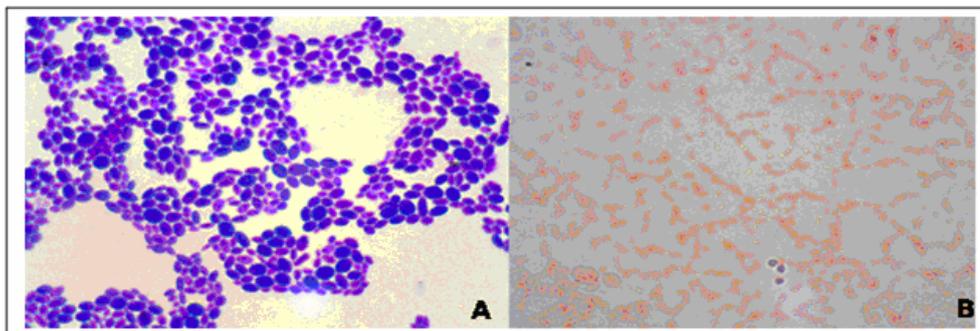


Figura 1. Fotografías al microscopio ópticos de colonias de levadura (A) y bacterias (B).

Efecto del crecimiento microbiano sobre las propiedades bromatológicas de la harina artesanal de coco

Los valores porcentuales de proteína bruta (PB) obtenidos para la HAC clasifican como bajos (4,1%, Tabla 3) e inferiores a los recopilados por Ly y colaboradores (2005), quienes encontraron que los valores de %PB para la harina de coco industrial son cercanos o superiores al 20%. De la misma forma los contenidos de cenizas obtenidos fueron bajos, menores al 1%, e inferiores a los reportados en la literatura cuyos valores oscilan entre 4 y 8% para el endospermo de coco desengrasado.

Tabla 3. Propiedades bromatológicas de la HAC al inicio y al final del almacenamiento.

M	% FB	%Grasa	% PB	% Cenizas	% Ca	% Mg
MI	5,41±0,45	5,60±0,28	10±0,18	628±0,025	95±0,019	150±0,018
MF	23,20±0,38	5,04±0,30	19±0,18	612±0,023	95±0,019	175±0,018
EE	232	112	0435	00075	00048	0004

Leyenda: M: Tipo de muestra (Tratamiento). MI: muestra inicial del almacenamiento de la HAC fresca. MF: muestra final del crecimiento microbiano de la HAC. EE: Error estándar. Cada variable fue analizada de forma independiente con una probabilidad de $p \leq 0,05$.

Por su parte, los % Grasa (35,6%) y % FB (35,41%) obtenidos en este trabajo son superiores a los informados para la harina de coco industrial cuyos valores oscilan entre 5-11% para la grasa y 10-16% para la FB. Las diferencias observadas pueden estar relacionadas con el procedimiento de extracción artesanal del aceite de coco. Es conocido que el procedimiento para la extracción del aceite de coco influye en las propiedades bromatológicas de la harina de coco obtenida (Samson, 1971; Thorne *et al.*, 1990; Ly *et al.*, 2005).

La extracción artesanal del aceite de coco incluye varios lavados con agua lo cual arrastrarían sustancias hidrosolubles como los minerales, proteínas y otros compuestos nitrogenados o de bajo peso molecular presentes en el coco y que aportan a las variables % Cenizas y % PB, de ahí los bajos valores para estas variables en la HAC. Estos lavados acuosos no remueven eficientemente compuestos con baja solubilidad en agua como los

lípidos y los polímeros de alto peso molecular lo que justificaría los mayores valores de % Grasa y % de FB de la HAC con respecto a la industrial (Deutscher, 1990; Ly *et al.*, 2005).

Los valores de % PB y % Cenizas, así como % Mg y % Ca fueron bajos (Tabla 3) aunque las cantidades presentes fueron suficientes para propiciar el crecimiento microbiano como ya se demostró. La comparación de los contenidos de estas cuatro variables en MI y MF no arrojó diferencias significativas.

Por su parte el % FB mostró diferencias entre las muestras inicial y final del almacenamiento. El % FB registró una disminución del 34%; esta disminución debe ser el resultado de la presencia de microorganismos con capacidad para degradar material lignocelulósico y otros polímeros presentes en la HAC. Estos microorganismos secretan al medio enzimas como celulasas, hemicelulasas, etc, con capacidad de hidrolizar estos polímeros y convertirlos a sus respectivos monómeros entre los que se incluyen monosacáridos como la glucosa, manosa y galactosa (Frioni, 1999, Jespersen *et al.*, 2005).

Igualmente, se observó un aumento en el contenido de grasa del 26,5%. Nuevamente son los microorganismos los responsables de esta diferencia, los que como parte de su metabolismo pueden convertir los monosacáridos y demás azúcares presentes en el medio, o derivados de la hidrólisis de celulosa y hemicelulosa, en ácidos grasos que utilizan en la síntesis de lípidos complejos indispensables para el crecimiento microbiano (Carrillo, 2003, Voet y Voet, 2011). Esta conversión de carbohidratos en lípidos sería la principal responsable del incremento en el % Grasa asociado a la disminución en el % FB.

Conclusiones.

- ✓ Durante el almacenamiento a corto plazo de la harina de coco artesanal en condiciones anaeróbicas se desarrolla un fuerte crecimiento microbiano en forma de una sucesión microbiana donde participan bacterias y levaduras.
- ✓ Las propiedades bromatológicas de la HAC difieren de las propiedades de la harina de coco industrial posiblemente a consecuencias de las diferencias en los procedimientos de extracción del aceite de coco.
- ✓ El crecimiento microbiano detectado durante el almacenamiento a corto plazo de la HAC fresca bajo condiciones anaeróbicas, incrementa el % Grasa, disminuye el % FB mientras que no afecta los % PB, % cenizas, % Mg y % Ca.

Bibliografía.

- AOAC, Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, EUA. Ed: P A Cunnif. AOAC International Arlington. 1995. 2000p.
- Ardhana M, Fleet G. The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *Int. J. Food Microbiol.* 86: 87-99. 2003.
- Camu N, De Winter T, Verbrugghe K,. Dynamics and biodiversity of populations of bacteria in Cocoa bean fermentations. *Appl Environ Micob* 73: 1809–24. 2007.
- Carrillo, Leonor. Microbiología Agrícola. Argentina. Editora de la Universidad Nacional de Salta. 2003. 575p.
- Cornelius, J.A. Coconuts: a review. *Trop. Sci.* 15:15-37. 1973.

- Deutscher, Murray P. *Methods in Enzymology 182: Guide to protein purification*. California, EUA. Academic Press Inc. 1990. 890p.
- Frioni, Lillian. *Procesos Microbianos*. Argentina. Editorial de la Fundación Universidad Nacional Rio Cuarto. 1999. 575p.
- Herrera R.S. *Análisis químico del pasto. Los Pastos en Cuba*. Cuba. Ed. Ciencia y Técnica. 1986. Cap. XVI p.701-751.
- Jespersen L, DS, Honholt S & Jakobsen M. *Microbial growth during spontaneous fermentation of agricultural by-products*. *FEMS* **5**: 698-705. 2005.
- Ly, J. Sarmiento L., Santos, R. *Las palmas como fuente de alimentos en el trópico*. México. Editorial de UADY. 2005. 396p.
- Rios, C. Muñoz, P; Zaldibar, M; Rukis, T. *Metodología para realizar el análisis zootécnico de los alimentos*. La Habana, Cuba. Ed. CIDA. (1982). 450p.
- Samson. A.S. *Heat treatment of coconut meats and coconut meal*. *J..Scil. Food. Agric.* **22**:312-316. 1971.
- Thorne, P.J., Cole, D.J.A. y Wiserman, J. *Copra meal*. Butterworths. Boston. EUA. John Weley and Sons, Inc. 1990. 385p.
- Van Soest, P.J. *Nutritional Ecology of the ruminant*. Comstock Publishing Associates. London, UK. Cornell University Press. 1994. 476p.
- Voet, Donald, Voet, Judith. *Biochemistry*. EUA. John Wiley and Sons. 2011. 170p.

Fecha de recibido: 7 jul. 2015

Fecha de aprobado: 9 sep. 2015