



*Artículo científico / Research paper*

## Cinética de fermentación láctica natural de col blanca (*Brassica oleracea L. capitata*)

### Kinetic of the natural lactic fermentation of white cabbage (*Brassica oleracea L. capitata*)

Daniela Zúñiga-García<sup>1,2</sup> , María Montaleza-Auquilla<sup>2</sup> , Diana Andrade<sup>1,2</sup>, Jéssica León-Vizñay<sup>1,2</sup> , Patricia Ramírez<sup>1,2</sup> , Alexandra Criollo-Ayala<sup>2</sup> , Sonia Astudillo<sup>1,2</sup>, María Loja<sup>3</sup>, Susana Andrade<sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup> Proyecto Alimentación, Nutrición y Salud, Departamento de Biociencias, Universidad de Cuenca, Av. 12 de Abril, Cuenca, Ecuador.

<sup>2</sup> Docente, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca, Av. 12 de Abril, Cuenca, Ecuador.

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca, Av. 12 de Abril, Cuenca, Ecuador.

Autor para la correspondencia. jessica.leonv@ucuenca.edu.ec

Fecha de recepción: 21 de marzo de 2020 - Fecha de aceptación: 23 de abril de 2020

#### RESUMEN

Este estudio examinó la cinética química de la fermentación láctica natural de col blanca (*Brassica oleracea L.-var. capitata*). Primero, se desarrolló un diseño experimental y se definieron las condiciones óptimas de fermentación (temperatura, tiempo de fermentación y concentración de sal marina) para el crecimiento de bacterias lácticas. El óptimo corresponde a una temperatura de 25°C, una duración de 14 días y un contenido de sal marina del 3%. El experimento se replicó en once frascos y se determinó el pH, la concentración de glucosa, fructosa y bacterias ácido lácticas. En segundo lugar, se utilizó el método integral para definir la cinética química de la reacción. Para la glucosa, la cinética se ajustó a una de orden cero y constante cinética  $2 \times 10^{-6}$  g/ml.min (coeficiente de correlación = 0.98), y mostró que la velocidad de reacción era independiente de la concentración de la glucosa. Con respecto a la fructosa, la cinética de segundo orden estableció una constante cinética  $1.45 \times 10^{-2}$  ml/g.min (coeficiente de correlación = 0.98). Así la ecuación  $-r_{C_6H_{12}O_6} = [0.0145 (C_{C_6H_{12}O_6})^2]$  g/ml.min representa la velocidad de consumo de azúcar en una reacción de fermentación láctica natural de col blanca. El enfoque de modelado ayudará al fermentador a mejorar el diseño y el proceso de producción.

**Palabras clave:** Fermentación láctica, modelo cinético, orden de reacción, col blanca, vida útil.

#### ABSTRACT

This study examined the chemical kinetics of natural lactic fermentation of white cabbage (*Brassica oleracea L.- capitata var.*). First, the experimental design was developed and the optimal conditions (temperature, fermentation time and sea salt concentration) for the growth of lactic bacteria were defined. The optimal corresponds to a temperature of 25°C, a duration of 14 days and a sea salt content of 3%. The experiment was replicated in eleven bottles and the pH, the concentration of glucose, fructose, and lactic acid bacteria were determined. Second, the integral method was used to define the kinetics of the chemical reaction. For glucose, zero-order kinetics was set with a kinetic constant of  $2 \times 10^{-6}$  g/ml.min (correlation coefficient = 0.98), and showed that the reaction rate was independent of the glucose concentration. Regarding the fructose, the second-order kinetics was set with a constant of  $1.45 \times 10^{-2}$  ml/g.min (correlation coefficient = 0.98). The equation  $-r_{C_6H_{12}O_6} = [0.0145 (C_{C_6H_{12}O_6})^2]$  g/ml.min represents the speed of sugar consumption in a natural lactic fermentation reaction of white cabbage. The modeling approach will help the fermenter to improve the fermenting design and enhance the production process.

**Keywords:** Lactic fermentation, kinetic reaction, kinetic order, white cabbage, shelf life.

#### 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una tendencia hacia una mayor demanda y consumo de verduras y frutas por su contenido de fibra dietaria, vitaminas y minerales (Salinas-Hernández, González-Aguilar, Pirovani, & Ulin-Montejo, 2007; Septiembre-Malaterre Remize, & Poucheret, 2018).

Existe evidencia científica que indica que el consumo de vegetales previene patologías como hipertensión (Dauchet *et al.*, 2007), enfermedades coronarias e infarto cardiaco (He, Nowson, Lucas, & MacGregor, 2007). La mayor parte de las verduras y frutas son consumidas frescas o mínimamente procesadas, estos alimentos mínimamente procesados y especialmente los vegetales frescos tienen



una corta duración ya que son rápidamente susceptibles al deterioro por acción de microorganismos patógenos. La cocción, pasteurización y adición de preservantes químicos son las principales tecnologías utilizadas para garantizar la seguridad de los vegetales, pero su aplicación conlleva al cambio de las características físicas y químicas de los alimentos. La fermentación de ácido láctico se considera como una biotecnología simple y valiosa para mantener y/o mejorar las propiedades de seguridad, nutricionales, sensoriales y de vida útil de las verduras y frutas (Pardali, Paramithiotis, Papadelli, Mataragas, & Drosinos, 2017). Es por ello, que la industria alimentaria se ha preocupado por estudiar y optimizar este tipo de tecnología para la obtención de diversos productos de origen vegetal como la col fermentada.

En la optimización del proceso de fermentación láctica se lleva a cabo la selección de controles específicos, mediciones, establecimiento de ecuaciones de ajuste de datos experimentales, velocidades de degradación (Quintero, Acosta, Mejía, Ríos, & Torres, 2013), todo ello para la contribución del diseño de los equipos fermentadores, mejoras en la línea de producción y aseguramiento de la calidad del producto final. En este contexto, entender la cinética de las fermentaciones resulta una herramienta útil e importante en el control de los procesos, ya que su estudio se basa en las velocidades y mecanismos de la reacción a través de ecuaciones que relacionan las concentraciones con el tiempo, o el análisis de otros factores como conversiones de sustrato, concentración de biomasa, concentración de productos formados, etc. (Quintero *et al.*, 2013). Así mismo, aplicar un diseño experimental permitirá manejar los procesos de producción de mejor forma, ya que se involucran diversas variables de entrada (presión, temperatura, tiempo, concentración, etc.) que interactúan para generar el mejor resultado (variable de salida); además, los profesionales del área se benefician de esta herramienta al conocer la combinación de dichas variables que favorecen el resultado y conllevan a la toma de mejores decisiones en los procesos productivos (Varela & Lopez, 2011).

Ecuador tiene una gran diversidad de producción de cultivos, debido a sus variadas características de suelo, clima y ubicación geográfica, siendo la Costa y la Sierra las de mayor producción. Entre los principales productos que se cultivan se encuentra el repollo o col blanca, según el Tercer Censo Nacional Agropecuario 2000, realizado por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, en el país existe un 15% de territorio nacional sembrado y, de este, un 14% corresponde a esta verdura (INEC, n.d.). Al ser un producto fresco y perecedero, la fermentación láctica se convierte en una alternativa que permitiría alargar su tiempo de vida útil y mejorar sus propiedades organolépticas como el sabor. Esta fermentación se caracteriza por bajos requerimientos de energía para su procesamiento, por lo que se presenta como una alternativa importante desde el punto de vista económico (Piagentini, Pirovani, & Güemes, 2004; Ling, Tang, Kong, Mitcham, & Wang, 2015).

En la actualidad, no se han encontrado estudios sobre los parámetros cinéticos o las ecuaciones matemáticas que describen los procesos que ocurren en la fermentación láctica en verduras como el repollo o col blanca, información que es importante para optimizar diferentes parámetros de producción como velocidades de degradación de los azúcares y el tiempo de fermentación (Quintero *et al.*, 2013). En la literatura se reportan curvas

y datos cinéticos de algunos productos, microorganismos y sustratos fermentados en diferentes procesos como yogurt (Pauletti *et al.*, 2004), ácido láctico a partir de lactosuero (Jakymec *et al.*, 2001; Burgos-Rubio, Okos, & Wankat, 2000; Acevedo, Guzmán, & Rodríguez, 2013), degradación de betacianinas, betaxantinas y vitamina C en bebida a base de remolacha (Sánchez-Chávez, Cortez-Arredondo, Solano-Cornejo, & Vidaurre-Ruiz, 2015) entre otros.

El objetivo de esta investigación fue determinar la cinética química de la fermentación láctica natural de repollo o col blanca empleando el método integral, para la obtención de la constante cinética ( $k$ ) y el orden de reacción ( $n$ ) con la optimización previa de las condiciones de fermentación (temperatura, tiempo y concentración de sal marina).

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Materiales

Se utilizó repollo o col blanca (*Brassica oleracea L. - var. capitata*), con características organolépticas apropiadas de color, textura y estado de madurez adecuado para el consumo, provenientes de los cultivos de la parroquia rural San Joaquín de la provincia del Azuay. La preparación de la materia prima se llevó a cabo en el Laboratorio de Alimentos del Tecnológico, Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca. A partir de ella, se separaron las hojas externas deterioradas, el tronco central y se eliminaron los contaminantes físicos y microbiológicos a través de un lavado a chorro con agua potable y una solución desinfectante comercial. A continuación, se cortaron las hojas en tiras finas de aproximadamente 0.5 cm de ancho, se adicionó sal marina y se prensó manualmente durante 10 minutos para obtener el jugo del vegetal (líquido de gobierno) que contiene los azúcares y nutrientes necesarios para el proceso fermentativo. Posteriormente, se almacenaron las hojas inmersas en el jugo en frascos de vidrio previamente esterilizados, sin dejar espacio de cabeza. Las tapas de los frascos contaron con un acople manual que permitía la salida de  $\text{CO}_2$  generado y evitaba la disrupción del ambiente anaerobio durante la fermentación. Los parámetros, para dar inicio a la fermentación láctica, como la temperatura, tiempo y concentración de sal marina se determinaron a partir de un diseño experimental factorial que se explica en la sección 2.2.

### 2.2. Pretratamiento

Para determinar las condiciones óptimas del proceso de fermentación láctica se realizó un diseño factorial  $2^k$ , donde  $k$  representa el número de factores a analizar: temperatura, tiempo de fermentación y concentración de sal marina, cada uno de los cuales se establecieron a dos niveles, uno mínimo (-1) y otro máximo (+1) (Tabla 1). En el caso de la temperatura se recomienda rangos de 18 a 35°C, tiempos de fermentación comprendidos entre 14 a 21 días y concentración de sal marina entre un 2 a 3% (p/p) (Montano, Castro, & Rejano, 1992), estos parámetros permitirán no retardar el desarrollo de las bacterias ácido-lácticas (BAL) y con ello la calidad y estabilidad del producto fermentado.

**Tabla 1.** Diseño experimental  $2^k$ .

Factor	Variable	Niveles	
		Mínimo (-1)	Máximo (+1)
Temperatura (°C)	$x_1$	18	25
Tiempo (días)	$x_2$	14	21
Sal marina (% p/p)	$x_3$	2	3

(% p/p): porcentaje peso-peso

**Tabla 2.** Matriz del modelo para dos niveles y 3 factores (Lundstedt *et al.*, 1998).

Experimento	$b_0$	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_1 x_2$	$x_1 x_3$	$x_2 x_3$	$x_1 x_2 x_3$	$y$
1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	$y_1$
2	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	$y_2$
3	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	$y_3$
4	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	$y_4$
5	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	$y_5$
6	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	$y_6$
7	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	$y_7$
8	1	1	1	1	1	1	1	1	$y_8$

Se llevó a cabo ocho experimentos en diferentes condiciones (Tabla 2) ajustados a un modelo polinomial, según la Ec. (1).

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3 \quad (1)$$

De la Tabla 2, la variable de respuesta ( $y$ ) que hace referencia al valor de pH, será el parámetro que permitirá escoger el experimento de interés o mejor experimento, es decir un pH cercano al valor adecuado para el desarrollo de bacterias ácido lácticas (pH entre 3.6 y 4). Las condiciones del mejor experimento posteriormente se replicaron con igual técnica en once frascos de 500 ml y durante el proceso de fermentación se tomaron alícuotas del líquido de gobierno (aproximadamente 55 ml.), cada doce horas para realizar análisis de pH, azúcares y análisis de bacterias ácido lácticas (ver Secciones 2.3, 2.4, y 2.5).

### 2.3. Análisis de pH y determinación de glucosa y fructosa

La determinación del pH se realizó en las muestras del mejor experimento, se ejecutó cada 12 horas durante 7 días y se empleó un potenciómetro fijo marca HANNA en alícuotas de 25 ml de líquido de gobierno. El análisis de pH se efectuó en el Laboratorio de Alimentos del Tecnológico, Facultad de Ciencias Químicas. La valoración de glucosa y fructosa se realizó en un cromatógrafo para líquidos de alta resolución marca JASCO, modelo CO-4061, con "loop" de inyección de 10  $\mu$ l, valorándose dos veces al día durante 7 días. Además, se realizó un pretratamiento del líquido de gobierno de cada muestra, que consistió en diluir en agua ultra pura en una proporción (1:1), y una posterior filtración mediante una membrana grado HPLC de 0.45 $\mu$ m, técnica adaptada de Macherey-Nagel (MACHEREY-NAGEL, n.d.), análisis llevado a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de Reactores y Catálisis de la Facultad de Ciencias Químicas.

### 2.4. Análisis de BAL

En las muestras del mejor experimento fueron analizadas las bacterias ácido lácticas los días 1, 3 y 6 de

fermentación. Se recolectaron 25 ml de líquido de gobierno en frascos estériles, en condiciones asépticas y fueron enviadas a un laboratorio externo basándose en el método Mossel para la determinación de las BAL.

### 2.5. Modelo cinético de la fermentación láctica

Para poder predecir la rapidez de desaparición o consumo de reactante, es decir el grado de influencia de los azúcares en la fermentación láctica se determinó la cinética química de la reacción a través del método integral (Levenspiel, 1979). Para un sistema discontinuo de volumen constante, la medida de la velocidad de reacción del reactivo A corresponden a las Ecs. (2 y 3).

$$-r_A = \frac{dC_A}{dt} = k f(C_A) \quad (2)$$

$$-r_A = k C_A^n \quad (3)$$

Donde:  $-r_A$  es la velocidad de desaparición de la reacción fermentativa (g/ml.min),  $k$  la constante cinética,  $C_A$  la concentración de reactante A (g/ml), y  $n$  el orden de reacción (puede tomar valores de 0, 1, 2).

A partir de la Ec. (4),

$$-\frac{dC_A}{f(C_A)} = k dt \quad (4)$$

se obtiene, la integral que representa la sumatoria del consumo del reactante A, Ec. (5).

$$-\int_{C_{A0}}^{C_A} \frac{dC_A}{f(C_A)} = k \int_0^t dt = kt \quad (5)$$

La Tabla 3 muestra la Ec. (3) y Ec. (5) desarrolladas, que corresponden a los órdenes 0, 1 y 2, de velocidad de reacción.

Luego, se grafica la integral de la ecuación cinética en el eje de las ordenadas vs el tiempo de reacción en el eje de las abscisas. Para la gráfica de cada orden de reacción se obtiene el coeficiente de correlación de Pearson ( $R^2$ ) y la pendiente de la recta por medio del método de mínimos cuadrados, si los datos no se distribuyen sobre una recta ha de rechazarse la ecuación cinética. Finalmente, se escoge el orden de reacción cuyo coeficiente de correlación tenga un valor lo más próximo a uno que significa un ajuste lineal más fuerte. La pendiente representará la constante cinética de la reacción ( $k$ ).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Pretratamiento

Con respecto a los ocho experimentos llevados a cabo, los ensayos seis y ocho mostraron un medio con un pH apropiado, pero se seleccionó el ensayo seis, por ser el mejor experimento y llevarse a cabo en menor tiempo de fermentación de 14 días, a una temperatura de 25°C y una concentración del 3% de sal marina (Tabla 4). Esta concentración de sal facilitó la penetración a los tejidos vegetales y salida de los carbohidratos, compuestos nitrogenados, minerales y otras sustancias que son utilizadas durante la fermentación (Montano *et al.*, 1992). Se verifica estudios realizados por Garrido (Garrido, Alarcón, Medina, Ordoñez, & Pérez, 2016) que muestran una relación directa entre la sal añadida y las propiedades físico químicas del alimento, un mayor porcentaje de sal provoca que los alimentos pierdan agua por presión osmótica y generen una microbiota-mixta en la que predominan las bacterias lácticas, las que acidifican el medio y bajan el pH (Prescott, Harley, & Klein, 2004).

En este estudio se determinó que el pH óptimo fue de 3.67 a una temperatura de 25°C, al revisar la literatura llevada a cabo en otras investigaciones de col fermentada se observa valores de pH por debajo de 4 en la primera semana de fermentación (Garrido *et al.*, 2016), en aceitunas el rango estipulado fue entre 3.8 y 4.2 (Leiva Fernández, Arancibia Araya, & Tapia Contreras, 2015)

para que exista el desarrollo de las BAL y evite el crecimiento superficial de mohos y levaduras, en otro estudio realizado en el mosto de Agave cocui se determinó que las condiciones óptimas se dan a una temperatura de 33°C y un valor de pH óptimo de 4 (Granadillo & Rodríguez, 2014). Así mismo en tallos de espárragos (Palomino & Meza, 2017) muestra valores de pH entre 3.8 a 3.95.

#### 3.2. Análisis de pH, glucosa, fructosa y BAL

Al replicar el mejor experimento, se observó que en los primeros siete días (10080 minutos) de la fermentación, el pH desciende de 5.72 a 3.60 (Tabla 5), manteniéndose este último valor constante hasta el día 14, estudios realizados por Garrido *et al.* (2016) corroboran que un descenso importante de pH se realiza en la primera semana de fermentación, razón por la cual los análisis se llevaron a cabo en los primeros siete días de la fermentación como se detallan en la Sección 2.3 y 2.4.

En la Tabla 5, se presentan los resultados de los análisis de glucosa y fructosa. La primera observación que se puede realizar es que la concentración de glucosa y fructosa en el tiempo de fermentación presentan variaciones (Fig. 1). A partir del minuto 4320 (84 horas) comienza el descenso de glucosa y fructosa, desde este momento se analizó la velocidad de reacción. Estas variaciones se deben a que el repollo, dentro de sus carbohidratos, también contiene fibra (celulosa), la cual se transforma en azúcares y esto hace que aumente la concentración de las mismas en el producto (Holland *et al.*, 2014), el repollo contiene 3.4 g de carbohidratos y 2 g de fibra por cada 100 g de porción comestible, pero no se detalla la cantidad existente por tipo de azúcar.

Todos los vegetales proporcionan glucosa y fructosa como los principales carbohidratos fermentables que se podrían metabolizar en ácido láctico (Wouters, Grosu-Tudor, Zamfir, & De Vuyst, 2013). En el presente estudio se corrobora lo mencionado ya que entre los dos carbohidratos la fructosa fue el principal carbohidrato que influye en la velocidad de reacción, luego de realizar los análisis respectivos.

**Tabla 3.** Ecuaciones cinéticas para los diferentes órdenes de reacción (Levenspiel, 1979).

Orden de reacción	Velocidad de reacción	Ecuación cinética integrada
0	$-r_A = \frac{dC_A}{dt} = k$	$C_{A0} - C_A = kt$
1	$-r_A = \frac{dC_A}{dt} = kC_A$	$\ln\left(\frac{C_{A0}}{C_A}\right) = kt$
2	$-r_A = \frac{dC_A}{dt} = k(C_A)^2$	$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{A0}} = kt$

**Tabla 4.** Matriz del diseño factorial.

Experimento	Temp. (°C)	Tiempo (días)	Sal marina (% p/p)	pH
1	18	14	2	3.55
2	25	14	2	3.42
3	18	21	2	3.25
4	25	21	2	3.42
5	18	14	3	3.29
6	25	14	3	3.67
7	18	21	3	3.2
8	25	21	3	3.67

**Tabla 5.** Variaciones de azúcares, pH y BAL durante la primera semana de fermentación.

## (a) Glucosa

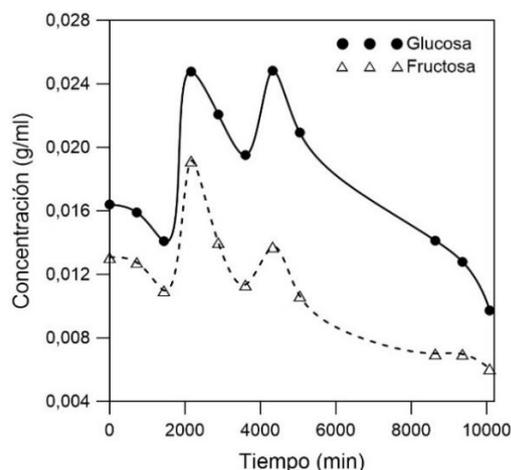
Tiempo (min.)	Concentración glucosa (g/ml)	Ecuación cinética para glucosa			pH	BAL (UFC/ml)
		Orden 0	Orden 1	Orden 2		
		$C_{AO} - C_A$	$\ln\left(\frac{C_{AO}}{C_A}\right)$	$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{AO}}$		
0	0.016405	-	-	-	5.72	-
720	0.015906	-	-	-	5.60	-
1440	0.014090	-	-	-	5.51	0.43x10 <sup>8</sup>
2160	0.024767	-	-	-	5.42	-
2880	0.022078	-	-	-	5.30	-
3600	0.019500	-	-	-	5.10	-
4320	0.024814	0	0	0	4.04	2.1x10 <sup>8</sup>
5040	0.020926	0.003888	0.170416	7.487611	3.94	-
8640	0.014125	0.010689	0.563462	30.496629	3.82	8.8x10 <sup>8</sup>
9360	0.012786	0.012028	0.663057	37.910712	3.62	-
10080	0.009723	0.015091	0.936914	62.549084	3.60	-

Leyenda:  $C_{AO}$  Concentración inicial de azúcar;  $C_A$  Concentración final de azúcar; g/ml gramos de azúcar por mililitro; BAL Bacterias ácido lácticas; UFC Unidades formadoras de colonias.

## (b) Fructosa

Tiempo (min.)	Concentración fructosa (g/ml)	Ecuación cinética para fructosa			pH	BAL (UFC/ml)
		Orden 0	Orden 1	Orden 2		
		$C_{AO} - C_A$	$\ln\left(\frac{C_{AO}}{C_A}\right)$	$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{AO}}$		
0	0.01307	-	-	-	5.72	-
720	0.012747	-	-	-	5.60	-
1440	0.010985	-	-	-	5.51	0.43x10 <sup>8</sup>
2160	0.019156	-	-	-	5.42	-
2880	0.014010	-	-	-	5.30	-
3600	0.011354	-	-	-	5.10	-
4320	0.013732	0	0	0	4.04	2.1x10 <sup>8</sup>
5040	0.010649	0.003083	0.254263	21.082927	3.94	-
8640	0.007015	0.006717	0.671678	69.729071	3.82	8.8x10 <sup>8</sup>
9360	0.006977	0.006755	0.677110	70.505474	3.62	-
10080	0.006043	0.007689	0.820828	92.658117	3.60	-

Leyenda:  $C_{AO}$  Concentración inicial de azúcar;  $C_A$  Concentración final de azúcar; g/ml gramos de azúcar por mililitro; BAL Bacterias ácido lácticas; UFC Unidades formadoras de colonias.



**Figura 1.** Consumo de glucosa (g/ml) y fructosa (g/ml) durante el tiempo de fermentación láctica en minutos.

Además, en la Tabla 5, se evidencia los recuentos microbianos de BAL realizados durante los días 1 (1440 minutos), 3 (4320 minutos) y 6 (8640 minutos) de fermentación láctica que muestran la presencia de los

microorganismos en concentraciones de  $8.8 \times 10^8$  UFC/ml al final de la primera semana de fermentación láctica. En estudios realizados a concentraciones celulares de  $10^6$  UFC/ml de bacterias ácido lácticas presentes en la col fermentada se evidencia mejora del sistema inmune en especies que los ingiere (Garrett *et al.*, 2003) (Garrido *et al.*, 2016)). Por otro lado, estos microorganismos impiden el crecimiento de otros perjudiciales y a la vez generan compuestos químicos con efecto conservante (Di Cagno, Coda, De Angelis, & Gobbetti, 2013). En pepinillos se ha podido comprobar mediante técnicas de microscopía electrónica que las bacterias ácido lácticas también se desarrollan en el interior de los frutos después de su colocación en salmuera (Sáenz, 1983).

Por otro lado, se han desarrollado combinaciones de tecnologías innovadoras que incluyen sistemas como las bacterias ácido lácticas (BAL) que ofrecen alternativas eficientes para alargar la vida útil y al mismo tiempo incrementar la seguridad de los alimentos, evitando alterar las cualidades nutricionales y sensorial es uno de los aspectos más importantes en la decisión de compra (Garrett *et al.*, 2003), haciendo que los productos fermentados como la col blanca, sean en general más apetitosos y digeribles (Di Cagno, Coda, De Angelis, & Gobbetti, 2013).

3.3. Modelo cinético de la fermentación láctica

Se realizaron regresiones lineales ajustadas a la relación del consumo de glucosa vs el tiempo de fermentación láctica, en donde se muestran las ecuaciones y sus respectivos coeficientes de correlación (Fig. 2). Los resultados se presentan en la Tabla 6.

Al comparar los coeficientes de correlación de la glucosa para cada orden de reacción, se eligió a 0.98 por tener el mejor ajuste lineal, y que corresponde a un orden de reacción cero y a una constante cinética  $2 \times 10^{-6}$  g/ml.min. Al reemplazar estos valores en la Ec. (3), se determina que la velocidad de reacción ( $-r_A$ ) es independiente de la concentración de la glucosa, Ec. (6).

$$-r_{C_6H_{12}O_6} = [2 \times 10^{-6} \text{ g/ml.min } (C_{C_6H_{12}O_6})^0] = 2 \times 10^{-6} \text{ g/ml.min} \quad (6)$$

Donde:  $-r_{C_6H_{12}O_6}$  en g/ml.min

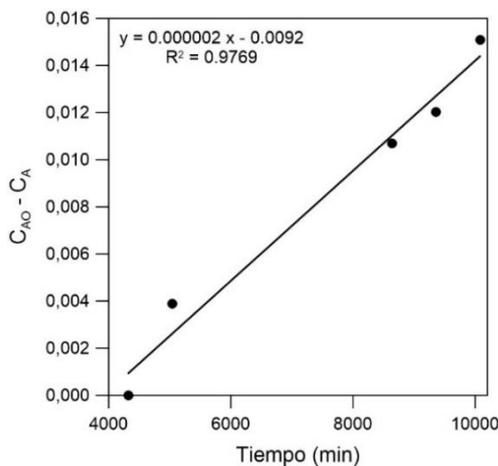
Para el caso de la fructosa (Fig. 3), se replica el mismo proceso de análisis que para la glucosa. Los resultados se encuentran en la Tabla 7.

Al comparar los coeficientes de correlación de la fructosa para cada orden de reacción, se eligió a 0.98 por tener el mejor ajuste lineal, y que corresponde a un orden de reacción dos y a una constante cinética  $1.45 \times 10^{-2}$  ml/g.min. Al reemplazar estos valores en la Ec. (3), se determina que la velocidad de reacción ( $-r_A$ ) de acuerdo a Ec. (7), es:

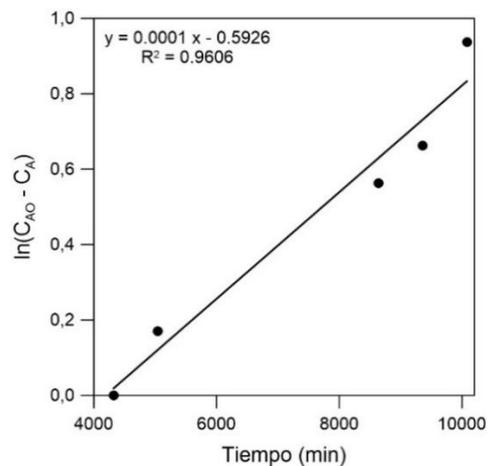
$$-r_{C_6H_{12}O_6} = [1.45 \times 10^{-2} \text{ ml/g.min } (C_{C_6H_{12}O_6})^2] \quad (7)$$

Donde:  $-r_{C_6H_{12}O_6}$  en g/ml.min

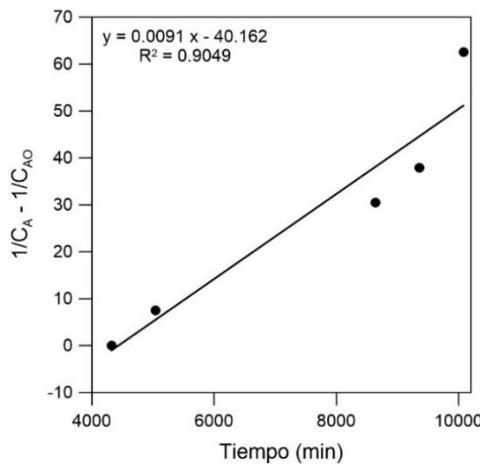
Así, la Ec. (7), se convierte en un modelo cinético cuando se quiere obtener la velocidad de consumo de azúcares en una reacción de fermentación láctica natural de repollo o col blanca.



a) Regresión lineal para reacción de orden cero



b) Regresión lineal para reacción de primer orden

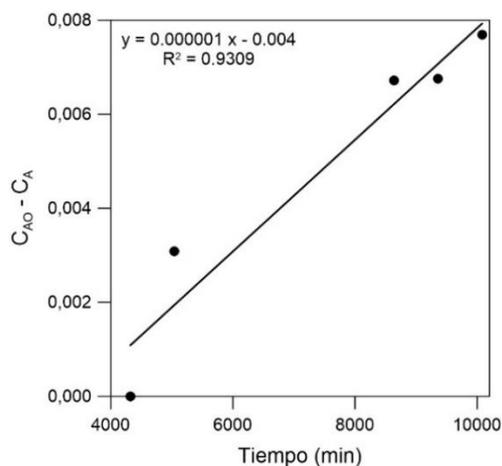


c) Regresión lineal para reacción de segundo orden

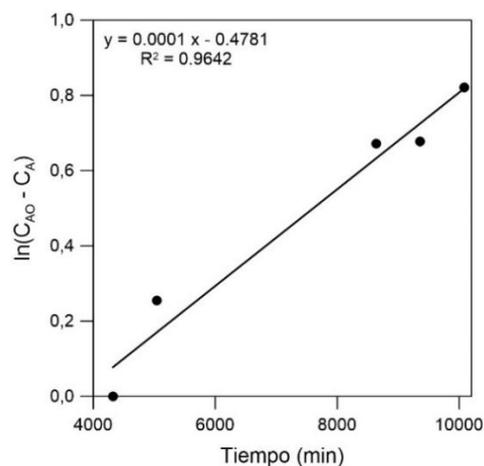
**Figura 2.** Ecuaciones de regresión lineal ajustadas a la relación del consumo de glucosa vs. el tiempo de fermentación: (a) Reacción de orden cero vs el tiempo de fermentación láctica, (b) Reacción de primer orden vs el tiempo de fermentación láctica, y (c) Reacción de segundo orden vs. el tiempo de fermentación láctica. Leyenda:  $C_{A0}$ : concentración inicial de glucosa;  $C_A$ : concentración final de glucosa;  $R^2$ : coeficiente de correlación.

**Tabla 6.** Comparación de los coeficientes de correlación para la selección del orden de reacción de glucosa y su correspondiente constante cinética.

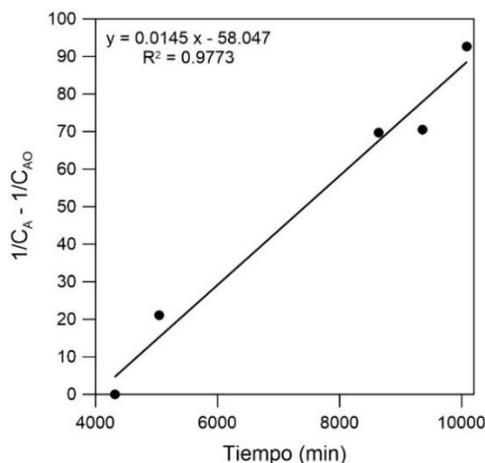
Orden de reacción (n)	Ecuación regresión lineal (y = mx + b)	Coefficiente de correlación (R <sup>2</sup> )	Constante cinética (k)
0	y = 0.000002x - 0.0092	0.98	2x10 <sup>-6</sup> g/ml.min
1	y = 0.0001x - 0.5926	0.96	1x10 <sup>-4</sup> /min
2	y = 0.0091x - 40.16	0.90	9.1x10 <sup>-3</sup> ml/g.min



a) Regresión lineal para reacción de orden cero



b) Regresión lineal para reacción de primer orden



c) Regresión lineal para reacción de segundo orden

**Figura 3.** Ecuaciones de regresión lineal ajustadas a la relación del consumo de fructosa vs. tiempo de fermentación láctica. (a) Reacción de orden cero vs. el tiempo de fermentación láctica, (b) Reacción de primer orden vs. el tiempo de fermentación láctica, y (c) Reacción de segundo orden vs. el tiempo de fermentación láctica. Leyenda: C<sub>A0</sub>: concentración inicial de fructosa; C<sub>A</sub>: concentración final de fructosa; R<sup>2</sup>: coeficiente de correlación.**Tabla 7.** Comparación de los coeficientes de correlación para la selección del orden de reacción de la fructosa y su correspondiente constante cinética.

Orden de reacción (n)	Ecuación regresión lineal (y = mx + b)	Coefficiente de correlación (R <sup>2</sup> )	Constante cinética (k)
0	y = 0.000001x - 0.004	0.93	1x10 <sup>-6</sup> g/ml.min
1	y = 0.0001x - 0.4781	0.96	1x10 <sup>-4</sup> /min
2	y = 0.0145x - 58.04	0.98	1.45 x10 <sup>-2</sup> ml/g.min

Desde el punto de vista cinético, se puede indicar que la velocidad de fermentación láctica natural desarrollada en col blanca es independiente de la concentración de glucosa, pero si es influenciada por la degradación de la fructosa como puede observarse con los órdenes de reacción obtenidos. En el presente estudio, el modelo

desarrollado se basa en la cinética de las reacciones químicas, sin embargo, hay que considerar que un alimento es un sistema complejo en el que ocurren diferentes tipos de reacciones, por ello, la modelación, no solo se puede aplicar a un reactante o componente

particular sino a una característica de calidad que refleje dichas reacciones (Salinas-Hernández *et al.*, 2007).

Finalmente, la aplicación de dichos modelos matemáticos descritos en este estudio predicen el comportamiento de la reacción química de la col blanca que conllevan a mejorar el diseño de fermentadores en el campo industrial para aumentar la productividad, y al estudiar la velocidad de reacción, éste nos permite conocer la degradación de nutrientes del alimento en el tiempo, sin dejar de lado que la materia prima empleada en esta investigación al ser un vegetal es percibido como un producto saludable, rico en vitaminas, minerales y antioxidantes (Gil, Aguayo, & Kader, 2006), convirtiéndolo en un alimento beneficioso para la salud, sin olvidar que el proceso además de preservar al producto crea enzimas necesarias para la digestión (Parra Huertas, 2010).

Es conveniente continuar con estudios de este tipo, para determinar el tiempo de vida útil (Carrillo Inungaray & Reyes Munguía, 2014) de la col blanca fermentada con el fin de garantizar sus cualidades físico químicas y microbiológicas de acuerdo a las condiciones obtenidas en este estudio. Así mismo, este producto se convertiría en un alimento probiótico (Ramírez, Rosas, Velázquez, Ulloa, & Arce, 2011) con propiedades funcionales muy importantes a analizar.

#### 4. CONCLUSIÓN

El diseño experimental permitió determinar las condiciones óptimas de la fermentación láctica del repollo o col blanca que mejoró la conservación de este vegetal fresco, que más allá de su sabor tan particular le convierte en un alimento probiótico con la proliferación de bacterias beneficiosas para la flora intestinal. Es importante señalar que la metodología aplicada en este estudio cinético se puede replicar en otros vegetales de la especie Brassica oleracea L. variedad coliflor, brócoli, col china, repollo morado, col de bruselas, etc., en los cuales no existen estudios previos y así conocer de mejor manera el comportamiento de la reacción química. Finalmente, los modelos cinéticos obtenidos de cero y segundo orden mostraron la velocidad de degradación de los azúcares en función del tiempo de fermentación láctica que resultó dependiente de la concentración de fructosa, de esta manera se convierte en un modelamiento para mejorar los procesos de producción.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo técnico de Raúl Peláez Samaniego (PhD), docente e investigador de la Facultad de Ciencias Químicas.

#### REFERENCIAS

Acevedo, D., Guzmán, L., & Rodríguez, A. (2013). Fermentation kinetics for the production of Suero Costeño. *Rev. U.D.C.A. Act & Div. Cient.*, 16(2), 427-433.

<http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v16n2/v16n2a17.pdf>

Burgos-Rubio, C. N., Okos, M. R., & Wankat, P. C. (2000). Kinetic study of the conversion of different substrates to lactic acid using *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnology Progress*, 16(3), 305-314. <https://doi.org/10.1021/bp000022p>

Carrillo Inungaray, M. L., & Reyes Munguía, A. (2014). Vida útil de los alimentos / Lifetime food. *CIBA Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 2(3), 32. <https://doi.org/10.23913/ciba.v2i3.20>

Dauchet, L., Kesse-Guyot, E., Czernichow, S., Bertrais, S., Estaquio, C., Péneau, S., Vergnaud, A. C., Chat-Yung, S., Castetbon, K., Deschamps, V., Brindel, P., & Hercberg, S. (2007). Dietary patterns and blood pressure change over 5-y follow-up in the SU.VI.MAX cohort. *American Journal of Clinical Nutrition*, 85(6), 1650-1656. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.6.1650>

Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2013). Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology*, 33(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.003>

Garrett, E. H., Gorny, J. R., Beuchat, L. R., Farber, J. N., Harris, L. J., Parish, M. E., Suslow, T. V., & Busta, F. F. (2003). Microbiological safety of fresh and fresh-cut produce: Description of the situation and economic impact. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(s1), 13-37. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00029.x>

Garrido, E. F., Alarcón, S. A., Medina, M. A. T., Ordoñez, J. M., & Pérez, A. J. (2016). Elaboración de col fermentada (Chucrut). <https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/servifapa/contenidoAlf?id=f228d8e8-8468-4864-a458-5907ba9421f2&sector=4d53d630-9a2d-11df-acbb-dd1840cb71c5&sectorf=4d53d630-9a2d-11df-acbb-dd1840cb71c5&l=informes>

Gil, M. I., Aguayo, E., & Kader, A. A. (2006). Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. *J. Agric. Food Chem.* 54, 12, 4284-4296. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf060303y>

Granadillo, I. L., & Rodríguez, G. T. (2014). Efecto de la temperatura y el pH en la fermentación del mosto de Agave cocui. *Multiciencias*, 14(4), 375-381.

He, F. J., Nowson, C. A., Lucas, M., & MacGregor, G. A. (2007). Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: Meta-analysis of cohort studies. *Journal of Human Hypertension*, 21(9), 717-728. <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1002212>

Holland, B., Welch, A. A., Unwin, I. D., Buss, D. H., Paul, A. A., & Southgate, D. A. T. (2014). *McCance and Widdowson's the composition of foods*. Royal Society, pp. 282-337. <https://doi.org/https://doi.org/10.1039/9781849737562>

INEC. (n.d.). Censo Nacional Agropecuario. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-nacional-agropecuario/>

- Jakymec, M., Morán, H., Páez, G., Ferrer, J. R., Mármol, Z., & Ramones, E. (2001). Cinética de la producción de ácido láctico por fermentación sumergida con lactosuero como sustrato. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 11(1), 53-59.
- Leiva Fernández, D., Arancibia Araya, V., & Tapia Contreras, F. (2015). *Importancia del control de parámetros durante la fermentación de aceitunas, para asegurar su calidad*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias - Centro Regional de Investigación Intihuasi, 49. <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/informativos/NR40449.pdf>
- Levenspiel, O. (1979). *Método integral de análisis de datos*. In *Ingeniería de las reacciones químicas* (pp. 48-74). Reverté, S.A.
- Ling, B., Tang, J., Kong, F., Mitcham, E. J., & Wang, S. (2015). Kinetics of food quality changes during thermal processing: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 343-358. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1398-3>
- Liu, S., Han, Y., & Zhou, Z. (2011). Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. *Food Research International*, 44(3), 643-651. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.034>
- Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nystrom, A., Pettersen, J., & Bergman, R. (1998). *Experimental design and optimization*. Elsevier Science B.V, 3-40.
- MACHEREY-NAGEL. (n.d.). <https://www.mn-net.com/>
- Montano, A., De Castro, A., & Rejano, L. (1992). Transformaciones bioquímicas durante la fermentación de productos vegetales. *Grasas y Aceites*, 43(6), 352-360. <https://doi.org/10.3989/gya.1992.v43.i6.1132>
- Palomino, C., & Meza, L. (2017). *Formulación y evaluación de la influencia de la salmuera en la fermentación láctica de tallos de espárragos (Asparagus officinalis L.)*. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.
- Pardali, E., Paramithiotis, S., Papadelli, M., Mataragas, M., & Drosinos, E. H. (2017). Lactic acid bacteria population dynamics during spontaneous fermentation of radish (*Raphanus sativus* L.) roots in brine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(6), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2276-8>
- Parra Huertas, R. (2010). Review. Bacterias del ácido láctico: papel funcional en los alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105.
- Pauletti, M. S., Cruz, L. S., Mazza, G., Rozycki, S., Sabbag, N., & Costa, S. (2004). Fabricación de yogur con bacterias inmovilizadas. Yogurt manufacture with immobilized cells. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 4(3), 190-196. <https://doi.org/10.1080/11358120409487760>
- Piagentini, A. M., Pirovani, M. E., & Güemes, D. R. (2004). Cinética de deterioro de la calidad de repollo fresco cortado. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 4(3), 169-176. <https://doi.org/10.1080/11358120409487757>
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2004). *Microbiología* (5ª ed.). S.A. Editorial McGraw-Hill.
- Puerta Quintero, G. I. (2013). Cinética química de la fermentación del Mucílago de Café a temperatura ambiente. *Cenicafé*, 64(1), 42-59. <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/525/1/arc064%2801%2942-59.pdf>
- Quintero, J. E., Acosta, A., Mejía, C., Ríos, R., Torres, A. M. (2013). Lactic acid production via cassava-flour - Hydrolysate Fermentation. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 19(3), 287-293. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v19n3/v19n3a7.pdf>
- Ramírez, J. C., Rosas, P., Velázquez, M., Ulloa, J., & Arce, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en los alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, 2(7), 16 pp.
- Sáenz, M. C. (1983). Comunidad microbiana durante la fermentación del pepinillo elaborado en La Rioja. págs. 185-234. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=110160>
- Salcido, N. M. de la F., & Corona, J. E. B. (2010). Inocuidad y bioconservación de alimentos. *Acta Universitaria*, 20(1), 43-52. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41613084005>
- Salinas-Hernández, R. M., González-Aguilar, G. A., Pirovani, M. E., & Ulín-Montejo, F. (2007). Modelación del deterioro de productos vegetales frescos cortados. *Universidad y Ciencia*, 23(2), 183-196. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2936648>
- Sánchez-Chávez, W., Cortez-Arredondo, J., Solano-Cornejo, M., & Vidaurre-Ruiz, J. (2015). Kinetics of thermal degradation of betacyanins, betaxantins and vitamin C in a juice-based drink beet (*Beta vulgaris* L.) and honey. *Scientia Agropecuaria*, 6(2), 111-118. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.02.03>
- Septembre-Malaterre, A., Remize, F., & Poucheret, P. (2018). Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International*, 104, 86-99. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.031>
- Varela, P. D., & Lopez, A. M. (2011). Análisis crítico del diseño factorial 2k sobre casos aplicados. *Scientia Technica*, XVIII(47), 101-106.
- Wouters, D., Grosu-Tudor, S., Zamfir, M., & De Vuyst, L. (2013). Bacterial community dynamics, lactic acid bacteria species diversity and metabolite kinetics of traditional Romanian vegetable fermentations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 749-760. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5788>