Resumen

Este trabajo se ha realizado en la empresa Cafosa Gum S.A.U, líder mundial en la producción de goma base, el ingrediente principal del chicle y de la preparación de chicle en polvo para la producción de chicles comprimidos para aplicaciones funcionales y farmacéuticas (Health in Gum®).

Los compuestos polifenólicos tienen la reputación de ser los principales responsables de la actividad antioxidante de los extractos vegetales, ya que son los que se encuentran en mayor proporción.

El objetivo de este proyecto es estudiar el efecto de la cantidad de resina de colofonia/PVAc y del peso molecular del PVAc presente en la goma base en la velocidad de liberación *in vitro* del contenido de polifenoles totales presente en una matriz de chicle comprimido y en las propiedades sensoriales de dichos chicles comprimidos.

Se fabricaron ocho gomas base con diferentes porcentajes de resina de colofonia/PVAc de bajo peso molecular y una novena goma con un sistema de resina/PVAc de alto peso molecular. Con estas gomas se fabricó chicle en polvo que se aromatizo y al que se añadieron 100 mg de extracto de uva roja de la variedad *Vitis Vinífera* y finalmente se comprimió. Los comprimidos fueron masticados en un masticador artificial (Eur. Ph. 2.9.25). Se extrajeron muestras a diferentes tiempos de masticación y se determinó el contenido de polifenoles totales por UV-VIS mediante el método de Folin-Ciocalteu. El máximo de liberación para todos los comprimidos fue a los 30 min de masticación. Los comprimidos que presentaron mayor liberación de polifenoles fueron aquellos que contenían mayor cantidad de resina y menor cantidad de PVAc en la formulación de goma base. Se vio que el peso molecular del PVAc incrementaba la liberación de polifenoles, de valores de liberación media del 50% para los comprimidos con PVAc de bajo peso molecular a 63% en los de PVAc de alto peso molecular. Los polifenoles totales restantes parecen quedar atrapados en la matriz de chicle comprimido. Por último, se vio que el perfil sensorial de los comprimidos de chicle en polvo variaba en función del peso molecular del PVAc y de la cantidad de PVAc presente en la goma base.

Índice

RESUMEN 1

ÍNDICE 2

ABREVIATURAS 5

1. INTRODUCCIÓN 7

1.1. Cafosa Gum S.A.U. 7

1.2. Goma base y tipos de chicles 7

1.2.1. La goma base. Definición e ingredientes 7

1.2.2. El chicle. Tipos y diferencias entre ellos 10

1.3. Los polifenoles como antioxidantes naturales 11

1.3.1. Estructura y clasificación de los polifenoles 13

1.4. Objetivo del proyecto 19

1.5. Alcance del proyecto 20

2. MATERIALES Y MÉTODOS 21

2.1. Reactivos 21

2.1.1. Extracto polifenólico 21

2.1.2. Saliva artificial para la extracción de los polifenoles 21

2.1.3. Cuantificación contenido de polifenoles totales 21

2.2. Producción de goma base y chicle comprimido 22

2.3. Métodos de caracterización del PVAc y de la goma base 23

2.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) 23

2.3.2. Viscosidad rotacional 23

2.4. Métodos de extracción y cuantificación de los polifenoles 24

2.4.1. Extracción de los polifenoles de la matriz de chicle comprimido 24

2.4.2. Contenido de polifenoles totales 25

2.4.3. Uniformidad de contenido 26

2.4.4. Uniformidad de masa 27

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 29

3.1. Caracterización del PVAc, goma base y chicle en polvo 29

3.1.1. Calorimetría Diferencial de barrido 29

3.1.2. Viscosidad rotacional de la goma base 29

3.1.3. Rendimiento de chicle en polvo 31

3.2. Cuantificación de polifenoles 32

3.2.1. Contenido de polifenoles totales extraídos de la matriz de chicle comprimido 32
3.2.2. Uniformidad de contenido 38
3.2.3. Uniformidad de masa 39
3.3. Propiedades sensoriales 40

CONCLUSIONES **43**

AGRADECIMIENTOS **45**

BIBLIOGRAFIA **47**

Abreviaturas

CV: Coeficiente de variación

DSC: Calorimetría Diferencial de Barrido

EAG: Equivalentes de ácido gálico

FCC: Food Chemicals Codex

FDA: Food and Drug Administration

HDL: High density lipoprotein

LDL: Low density lipoprotein

N_2: Nitrógeno

PVAc: Polivinil acetato homopolímero

ROS: Especies reactivas de oxígeno

Tg: Temperatura de transición vítrea

UCR: Unidad constitucional repetitiva

UV-VIS: Espectrofotometría Ultravioleta-Visible

η: Viscosidad rotacional

φ: Rendimiento

1. Introducción

1.1. Cafosa Gum S.A.U.

Este proyecto se ha realizado en la empresa Cafosa Gum S.A.U. que se encuentra situada en el polígono industrial Santiga de Barberá del Vallés, Barcelona.

Cafosa se fundó en Barcelona en 1979 y está integrada en el grupo de empresas Mars/Wrigley, una de las mayores empresas alimentarias del mundo fabricantes de marcas líderes.

Cafosa es líder mundial en la producción de goma base, el ingrediente principal del chicle y de la preparación de chicle en polvo para la producción de chicles comprimidos para aplicaciones funcionales y farmacéuticas (Health in Gum®). Cafosa es proveedor de gomas base innovadoras tanto para confitería como para la industria farmacéutica. Suministra productos desde Barcelona y Shanghai a más de 80 países de todo el mundo.

Cafosa está certificada en los estándares más importantes en materia de calidad (ISO9001), seguridad alimentaria (FSSC22000) y medioambiental (ISO14001).

El departamento de R&D consta de varias áreas: *Quality Assurance, Laboratory Service, Gum Technology & Advisor Service* y *Base Formulation & Science*. Este proyecto se ha llevado a cabo en el departamento de *Base Formulation & Science* en colaboración con el departamento *de Gum Technology & Advisor Service* que se ocupa del desarrollo de preparaciones de chicle en polvo.

1.2. Goma base y tipos de chicles

1.2.1. La goma base. Definición e ingredientes

Según el Real Decreto 1601/2010, “se entiende por goma base o base masticable de la goma de mascar o chicle, el producto semielaborado con finalidad no nutritiva que imprime el carácter propio y distintivo de masticabilidad y/o hinchable al chicle” [1]. Esta puede ser natural o sintética.

La goma base es el ingrediente que distingue el chicle del resto de productos de confitería ya que hace que sea el único que no se traga. Es una substancia insoluble en agua y no nutritiva. Esta substancia elástica tiene la propiedad de ser masticada durante horas sin experimentar ningún cambio substancial.

Existen diferentes legislaciones que contemplan los ingredientes que se pueden incluir en la goma base. La base de todas ellas está en la sección 172.615 del capítulo 21 de la US FDA, *Food and Drug Administration*.

A partir de ella, existen diferentes legislaciones dependiendo del país. En España está el Real Decreto 1601/2010, por el que se aprueban las materias básicas para la elaboración de la goma base del chicle o goma de mascar [1].

Existen muchos tipos de goma base, según el producto que se quiera hacer: que haga globos o no, que permita la adición de sabores ácidos, o que tenga diferentes formas (bolas, grageas o chicle relleno). Es el ingrediente que juega el papel más importante tanto en la producción del chicle como en la liberación del aroma.

La goma base es una mezcla de ingredientes compatibles entre sí y que no reaccionan químicamente entre ellos. Es una matriz polimérica (elastómeros purificados) dispersada en un plastificante (resina) en la que se adiciona agentes reblandecedores (grasas y ceras) obteniendo un material masticable a la temperatura de la boca, 37ºC. Se hidrata fácilmente debido a la presencia de emulsificantes. A menudo, la textura se puede modificar a través de los agentes reblandecedores y los plastificantes internos y se protege de la oxidación con antioxidantes naturales o sintéticos [2].

En este proyecto, se va a trabajar con dos de los ingredientes presentes en la goma base: el PVAc, polivinil acetato homopolímero y una resina de colofonia.

El PVAc es el polímero más hidrofílico y utilizado en la goma base.

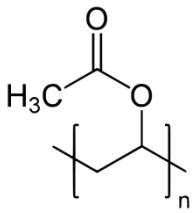


Fig. 1.1. UCR del PVAc

Fue descubierto en Alemania en 1912 por Fritz Klatte y se obtiene por polimerización del vinil acetato. La reacción de polimerización puede tener lugar en masa, en solución, en suspensión o por emulsión. Como iniciador de la reacción se puede utilizar un peróxido orgánico o inorgánico, un compuesto azo, un sistema redox, luz o altas dosis de radiación [3].

Se fabrican en una gran variedad de pesos moleculares, teniendo un peso medio de entre 2.000-80.000 g/mol [2]. El PVAc es un polímero amorfo con un punto de fusión que depende del peso molecular. Tiene una temperatura de transición vítrea, Tg, alrededor de 30ºC [3], lo cual significa que por debajo de 30ºC es un sólido quebradizo, y por encima de 30ºC es un sólido elástico que puede convertirse en un líquido muy viscoso.

El PVAc es un polímero termoplástico, transparente, incoloro, insípido y químicamente neutro. Es termoestable hasta temperaturas de 150ºC y es soluble en disolventes orgánicos, pero insoluble en alcoholes inferiores, agua y líquidos apolares [3].

La colofonia, también conocida como resina de colofonia, es un producto natural que se obtiene a partir de varias especies de plantas pináceas y que se presenta en forma de masa resinosa transparente de color ámbar.

Las resinas u oleorresinas (miera) son secreciones externas del metabolismo de los vegetales, excretadas, sobre todo en las plantas coníferas cuando se practican incisiones en su corteza.

La resina de colofonia es la fracción sólida que se obtiene de la destilación por vapor de la oleorresina natural de diversas especies coníferas y está constituida de una mezcla de ácidos resínicos, mayoritariamente de ácido abiético. De la fracción volátil se obtiene la trementina, conocida comúnmente como aguarrás. Debido a la composición de la resina de colofonia, es necesario esterificarla con glicerina de grado alimentario, metanol o pentaeritritol para poder usarse en la goma base. Es una sustancia orgánica, amorfa, sólida o semifluida, insoluble en agua y alcoholes, y soluble en acetona y tolueno [4].

El PVAc y la resina de colofonia están aprobados por el FCC, Food Chemicals Codex [4] y por la FDA (21 CFR 172.615), por lo que se consideran seguros sus usos en goma base.

1.2.2. El chicle. Tipos y diferencias entre ellos

Según el Real Decreto 348/2011, se entiende por chicle a un "producto alimenticio elaborado con una base masticable, elástica o plástica e insoluble en agua, natural o sintética, con azúcar o aditivos edulcorantes, al que se añaden o no otros ingredientes". Según sea la base masticable, este tipo de productos podrán completarse con las denominaciones de hinchables (*bubble*) o masticables (*chewing*) [5].

Dentro de esta definición existen dos tipos de chicle, según la forma de producción:

- El chicle extruido (chicle estándar): es un producto a base de una combinación de goma base, edulcorantes de volumen, aromas y otros ingredientes, que se produce por extrusión y formado.

- El chicle comprimido: es un producto en polvo a base de una combinación de goma base, edulcorantes de volumen y otros aditivos, para dar fluidez, para su uso en compresión directa.

Las principales diferencias entre los dos tipos de chicle son:

1. Diferencias en su formulación: La diferencia principal está en el porcentaje reducido de humedad de los chicles comprimidos respecto a los chicles extruidos. En el chicle en polvo, no hay ningún ingrediente que dé un porcentaje de humedad importante al chicle, como la glucosa o el jarabe de maltitol, en el caso de un chicle extruido. Por otra parte, al ser un producto que tiene que mantener su fluidez, se añade un cierto porcentaje de un agente antiapelmazante.

2. Diferencias sensoriales: La ausencia de agua provoca que toda la hidratación del chicle tenga que venir de la saliva del consumidor, lo que provoca que se dé una masticación inicial más seca. Dependiendo de los parámetros de compresión utilizados, es posible que se encuentre una sensación de desmenuzabilidad más acusada. Por otra parte, el impacto de los aromas es mayor que en un chicle extruido ya que estos ingredientes están más libres y tienen una mayor interacción con la saliva.

3. Diferencias en la producción: El chicle en polvo se utiliza en procesos de compresión directa, que quiere decir que el producto se mezcla en seco y se lleva, sin ayuda de procesos indirectos, a la compresora, donde se conseguirá el producto final. No hay proceso de extrusión, que es la característica que define al chicle actual.

El chicle en polvo es una idea desarrollada en los últimos 50 años (la primera patente data de 1942 [6]), y ha tomado más fuerza en la última década, para la fabricación de chicle farmacéutico y funcional o nutracéutico al que pueden añadirse principios activos.

La tecnología del chicle comprimido permite la utilización de procesos comúnmente utilizados por la industria farmacéutica y nutracéutica.

El término nutracéutico fue acuñado uniendo “nutrición” y “farmacéutico” en 1989 por el Dr. Stephen DeFelice, presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina, en los Estados Unidos. El Dr. DeFelice lo definió como un alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades [7][8]. Esta definición incluye componentes nutricionales como vitaminas, minerales, extractos de hierbas, antioxidantes, aminoácidos y proteínas. Estos productos nutracéuticos se adaptan a la reciente categoría de “suplementos dietéticos” establecidos por la FDA en el *Dietary Supplement Act* de 1994 [8][9] y han provocado un interés considerable debido a su supuesta inocuidad y valor nutricional.

1.3. Los polifenoles como antioxidantes naturales

En las dos últimas décadas ha aumentado el interés por los antioxidantes dietéticos. Este interés se debe fundamentalmente a su posible relación con la salud y la prevención de enfermedades. Los antioxidantes son beneficiosos y necesarios para evitar el estrés oxidativo, causado por el exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS), que pueden desencadenar diferentes alteraciones fisiológicas o fisiopatológicas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, disfunciones cerebrales, declive del sistema inmune, cataratas, envejecimiento, etc [10][11]. Los antioxidantes principales y mayoritarios contenidos en los alimentos se pueden agrupar en vitaminas (C y E) [12], carotenoides (incluyendo la vitamina A), compuestos polifenólicos y compuestos de Maillard [11].

Los polifenoles se encuentran en alimentos vegetales (vegetales, cereales, cacao, legumbres, frutas, frutos secos, etc.) y bebidas (vino, sidra, cerveza, té, etc.) [12-14].

Los polifenoles son un gran grupo de compuestos presentes en la naturaleza que poseen anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos. Oscilan desde moléculas fenólicas simples hasta compuestos poliméricos con pesos moleculares superiores a 30.000Da, como los taninos [14]. Son un producto secundario del metabolismo de las plantas.

Entre todas las fuentes de polifenoles, se ha tomado una de ellas, el vino, ya que es parte de la cultura humana desde hace unos 6000 años y los antecedentes históricos relacionan el vino con la salud y la longevidad, sobre todo en la cultura mediterránea. Efectivamente, en varios países del área mediterránea (Francia, España, Portugal, Italia y Grecia) el vino está integrado en el comportamiento habitual de los pueblos que lo consumen con las comidas y en las celebraciones [15].

El vino es un producto natural obtenido por fermentación directa de la uva o de su mosto; contienen alcohol y múltiples productos secundarios de su fermentación alcohólica, pero contiene además otras muchas sustancias procedentes de la uva, en las que radica especialmente su valor desde el punto de vista de la salud (antioxidante).

En los últimos años han surgido una serie de estudios científicos que muestran que beber moderadamente es beneficioso para la salud, en especial para la prevención de las enfermedades coronarias. En general, se encuentra una disminución del riesgo de mortalidad por enfermedad coronaria de aproximadamente 30-40% y de 10-20% para mortalidad general, en bebedores hombres o mujeres [16]. Este efecto beneficioso sería debido a que en la elaboración del vino tinto se incorporan las semillas y la piel de la uva, ambas con altas concentraciones de flavonoides, principalmente catequina, ácido gálico y epicatequina. Experiencias *in vitro* han demostrado que dichos flavonoides poseen una capacidad antioxidante varias veces superior a la de las vitaminas C y E. *In vivo*, la situación varía debido a que la absorción intestinal modifica la constitución y la velocidad de acción de estos compuestos [17].

En 1992 dos médicos franceses, Renaud y De Lorgeril, mostraron en un estudio epidemiológico que la tasa de mortalidad por enfermedades cardiovasculares era mucho más baja en Francia que en otros países industrializados, tales como Inglaterra o Estados Unidos, con ingestas similares de grasas saturadas y tabaco. Esta diferencia, a primera vista inexplicable, se denominó “paradoja francesa” y se ha atribuido al consumo moderado de vino [18][19].

Los datos disponibles indican que el efecto protector del vino sería superior al de otras bebidas alcohólicas, porque reúne los efectos del propio etanol y los compuestos no alcohólicos (polifenólicos) que contiene. Se han propuesto, básicamente, tres mecanismos para explicar la menor enfermedad de los consumidores regulares y moderados de vino. Dos de ellos se deben principalmente al alcohol: uno debido a la acción del alcohol sobre los niveles de lipoproteínas presentes en la sangre, y el otro debido a su influencia sobre la coagulación sanguínea. El tercer mecanismo sería debido a la capacidad de los componentes antioxidantes del vino (polifenoles) a aumentan los niveles del colesterol HDL, *high density lipoprotein*, y reducir las concentraciones del colesterol LDL, *low density lipoprotein*, protegiéndolo de la oxidación, disminuyendo la absorción intestinal de colesterol y aumentando la excreción del ácido bílico [14][16][20-22].

La eficiencia de los polifenoles como antioxidante depende mayoritariamente de su estructura química [14]. Su carácter antioxidante se reconoce porque pueden funcionar como: (1) quelantes de metales y agentes reductores, (2) neutralizadores de radicales hidroxilo y superóxido, peróxidos de hidrógeno, radicales óxido nítrico y peroxinitrilo y (3) inhibidores de la formación de radicales derivados del oxígeno [10][11]. Es en el vino y en el cacao donde se han notado un mayor nivel de estas substancias [13-14][23].

1.3.1. Estructura y clasificación de los polifenoles

La biosíntesis de compuestos fenólicos es consecuencia de la formación y acumulación de azúcares en el grano de uva. Los compuestos fenólicos están caracterizados por un núcleo bencénico que lleva uno o varios grupos hidroxilos. Se pueden agrupar según su estructura química en dos grandes grupos: Flavonoides y no Flavonoides.

Los polifenoles incluyen también a los derivados (ésteres, metil éteres, glicósidos, etc.) que resultan de las sustituciones de la estructura básica. La reactividad de este tipo de molécula es debida tanto a la presencia de la función fenol que tiene carácter ácido, como el anillo benceno que puede sufrir substituciones electrófilas [24].

Compuestos Flavonoides

Representan el grupo fenólico más común y extendido. Todos ellos están caracterizados por un esqueleto base de 15 átomos de carbono (C6-C3-C6), formado por dos anillos aromáticos unidos a través de un anillo pirano y con varios grupos hidroxilo y/o cetonas.

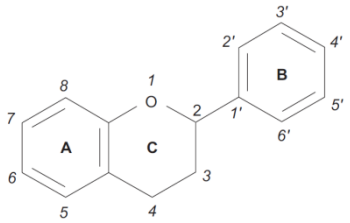


Fig. 1.2. Estructura básica y sistema de numeración de los flavonoides [14]

Muchos flavonoides son solubles en medio acuoso pero su grado de solubilidad depende de la polaridad y de la estructura química [25].

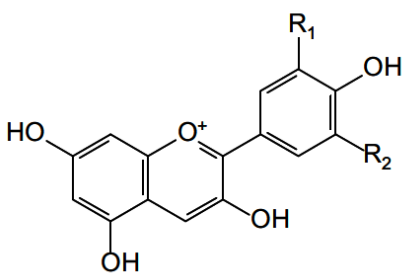
Estos compuestos están divididos en varias subclases que se distinguen por el grado de oxidación de su núcleo pirano. Entre ellos se encuentran los polifenoles más interesantes de la composición de los vinos, por concentración y por propiedades específicas. Se clasifican en antocianos, flavanoles (taninos) y flavonoles.

- **Antocianos**

Son pigmentos solubles en agua, metanol y etanol e insolubles en disolventes apolares. Son los responsables de los colores rojos, azules y púrpuras de frutas, flores y hojas, dependiendo del pH (rojo en pH ácido y azul en pH básico) [17].

Estos compuestos se encuentran localizados en el hollejo y en las tres o cuatro primeras capas celulares de la hipodermis de la uva.

Los antocianos son glicósidos de antocianidinas. Las antocianidinas son derivados polihidroxi y polimetoxi del fenil-2-benzopirilio o sal de flavilio.



Pelargonidina :	$R_1 = R_2 = H$
Cianidina :	$R_1 = OH$; $R_2 = H$
Peonidina :	$R_1 = OCH_3$; $R_2 = H$
Delfinidina :	$R_1 = R_2 = OH$
Petunidina :	$R_1 = OCH_3$; $R_2 = OH$
Malvidina :	$R_1 = R_2 = OCH_3$

Fig. 1.3. Estructura de las antocianidinas (forma de catión flavilio) más comunes [24]

Los distintos antocianos se diferencian en sus niveles de hidroxilación y de metilación, por la naturaleza y el número y la posición de las “osas” unidas a la molécula, y también por la naturaleza y el número de los ácidos que esterifican los azúcares. La glucosa es el azúcar mayoritario unido a las antocianidinas de la uva.

- **Flavanoles**

Son flavanoides que presentan estructuras derivadas de tres esqueletos básicos: flavan-3-ol, flavan-4-ol y flavan-3,4-diol. En la naturaleza se pueden encontrar como monómeros o condensados entre sí, formando compuestos con diversos grados de polimerización. Los flavanoles en medio ácido y en caliente pueden liberar antocianidinas, lo que es el origen del término proantocianidinas, con el que también se les denomina.

Estas sustancias se localizan principalmente en las semillas y en los hollejos, aunque se han detectado trazas de monómeros y dímeros en la pulpa de la uva.

Los flavan-3-ol monómeros se les suele designar genéricamente como “catequinas” [26]. La hidroxilación en C3 hace que los flavanoles tengan en su estructura dos centros quirales (en C2 y C3), por consiguiente cuatro posibles diastereoisómeros. La catequina es el isómero con configuración *trans* y epicatequina con configuración *cis*. (+)-catequina y (-)-epicatequina son los dos isómeros con mayor presencia en la uva y constituyen la base de las proantocianidinas.

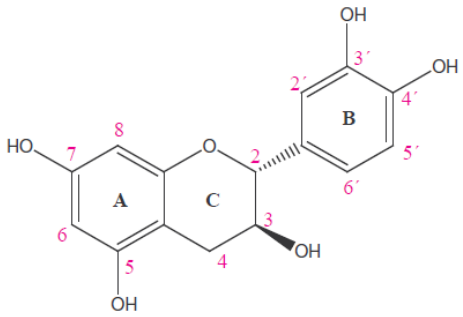


Fig. 1.4. Estructura (+)-catequina (2R, 3S) [27]

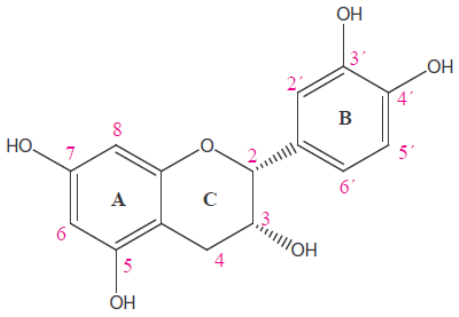


Fig. 1.5. Estructura (-)-epicatequina (2R,3R) [27]

La condensación de los flavan-3-oles presentes en la uva y mosto ((+)-catequina y (-)-epicatequina) son los constituyentes monoméricos de los taninos de condensación. Los taninos son moléculas altamente hidroxiladas y con capacidad de formar complejos con las proteínas y los hidratos de carbono. Esta capacidad es la responsable de la sensación de astringencia percibida en la boca debido a la precipitación de las proteínas salivares.

Los dímeros obtenidos de la condensación directa de la catequina y de la epicatequina, procianidinas diméricas, se clasifican en función de la posición de los carbonos que intervienen en la unión:

1. Tipo A: si la unión interflavano además de C4-C8 o C4-C6, también posee un enlace éter entre los carbonos C5 o C7 de la unión terminal y el carbono C2 de la otra unidad.

2. Tipo B: si la unión es por un enlace C4-C8 o C4-C6.

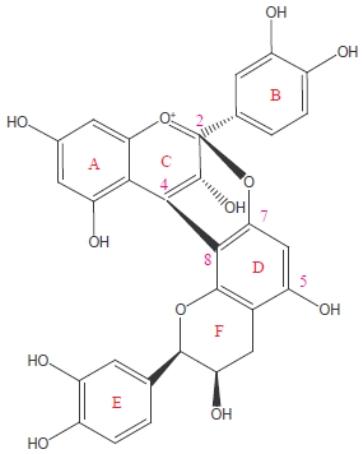


Fig. 1.6. Estructura de las procianidinas dímeras tipo A [27]

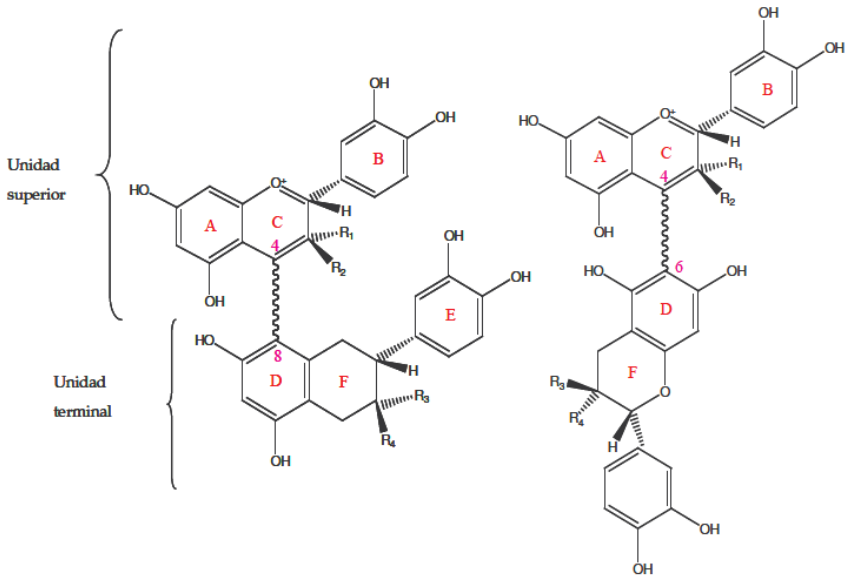
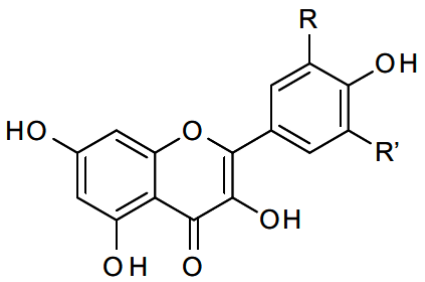


Fig. 1.7. Estructuras de las procianidinas dímeras tipo B [27]

- **Flavonoles**

Son pigmentos amarillos que contribuyen directamente en el color de los vinos blancos, pero en vinos tintos los flavonoles son enmascarados por los pigmentos rojos (antocianos). Están únicamente presentes en los hollejos de las uvas.

Los flavonoles se encuentran bajo la forma de glucósido en posición 3.



Kaempferol :	R = R' = H
Quercetina :	R = OH; R' = H
Isoramnetina :	R = OCH_3; R' = H
Miricetina :	R = R' = OH
Laricitrina :	R = OCH_3; R' = OH
Siringetina :	R = R' = OCH_3

Fig. 1.8. Estructura de los flavonoles hallados en la uva [24]

Los flavonoles han sido identificados como uno de los mejores compuestos fenólicos con actividad antioxidante del vino, especialmente en vinos blancos, sin embargo sus efectos antioxidantes en vinos tintos son superados normalmente por otros compuestos fenólicos más abundantes, tales como flavanoles y antocianos.

Compuestos No Flavonoides

Esta denominación abarca a los ácidos fenólicos, divididos en ácidos benzóicos y ácidos cinámicos, pero también a otros fenólicos como los estilbenos.

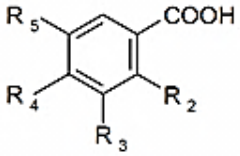
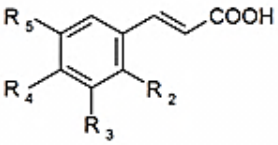
- **Ácidos Fenólicos**

La uva y el vino contienen ácidos benzoicos (C6-C1) y ácidos cinámicos (C6-C3); su concentración en el vino tinto es de 100-200mg/L y de 10-20mg/L en el vino blanco.

Se caracterizan por la presencia de un solo anillo bencénico en su molécula.

Los ácidos fenólicos son incoloros, inodoros e insípidos, aunque con el tiempo la oxidación pueden volverse de color amarillo, así como también, bajo la acción de algunos microorganismos, pueden transformarse en fenoles volátiles, que presentan olores muy característicos.

Tabla 1.1 Ácidos fenólicos de la uva y el vino [27]

Ácido benzóicos 	R2	R3	R4	R5	**Ácidos cinámicos** 
Ácido p-hidroxibenzoico	H	H	OH	H	Ácido p-cumárico
Ácido protocatéquico	H	OH	OH	H	Ácido cafeico
Ácido vainílico	H	OCH_3	OH	H	Ácido ferúlico
Ácido gálico	H	OH	OH	OH	
Ácido siríngico	H	OCH_3	OH	OCH_3	Ácido sináptico
Ácido salicílico	OH	H	H	H	
Ácido gentísico	OH	H	H	OH	

La uva contiene principalmente ácido gálico bajo la forma de éster de flavanoles. Con un mayor contenido en los vinos tintos.

Estos ácidos se encuentran en las vacuolas de las células del hollejo y, en menor medida en la pulpa, en forma de combinaciones tipo éter o éster, que son en parte hidrolizadas durante la vinificación, de forma que en el vino se encuentran simultáneamente formas libres y combinadas.

- **Estilbenos**

El estilbeno es un hidrocarburo aromático, de fórmula $C_{14}H_{12,}$ del que existen dos formas isómeras: el trans-1,2-difeniletileno (E-estilbeno) y el cis-1,2-difeniletileno (Z-estilbeno).

En la uva cabe destacar la presencia de resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno), mayoritariamente en configuración *trans*, y de su derivado glucosilado, conocido con el nombre de piceido.

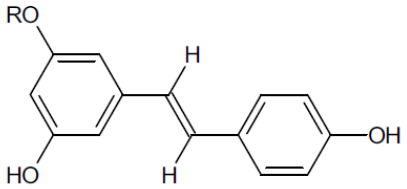


Fig. 1.9. Resveratol (R=H) y su 3-O-glucósido (R=glucosa) [24]

La presencia de resveratrol se observa en el hollejo y no en las semillas.

En este proyecto se trabajará con un extracto de uva roja que contiene los polifenoles presentes en las pieles y semillas de la variedad de uva *Vitis Vinífera* como principio activo del chicle comprimido.

1.4. Objetivo del proyecto

El principal objetivo del proyecto es combinar el estudio de los tres factores mencionados anteriormente, goma base, chicle comprimido y polifenoles, para conocer las oportunidades del chicle comprimido con propiedades antioxidantes en el sector nutracéutico.

Para lograr el objetivo principal del proyecto, se han establecido los siguientes objetivos específicos:

1. Estudiar el comportamiento de un extracto polifenólico en una matriz de chicle comprimido.

2. Desarrollar un método para determinar el contenido de polifenoles totales liberados durante la masticación *in vitro* de chicles comprimidos.

3. Estudiar cómo afecta el polímero PVAc y la resina de colofonia en la velocidad de liberación de los polifenoles añadidos a la matriz de chicle comprimido.

Se parte de la hipótesis de que a porcentajes bajos de PVAc y altos de resina de colofonia en la goma base, mayor será la liberación de polifenoles totales añadidos en la matriz de chicle comprimido.

4. Evaluar el efecto de la resina de colofonia/PVAc en otros parámetros físico-sensoriales del chicle comprimido.

1.5. Alcance del proyecto

Este proyecto de TFM se centra principalmente en estudiar el efecto de la resina de colofonia/PVAc en la liberación del contenido de polifenoles totales en una matriz de chicle comprimido.

No se darán detalles de los ingredientes, composición, procesos y tecnología de fabricación de la goma base y de chicle en polvo, debido a que es información confidencial de Cafosa. Sólo se facilitará aquella información necesaria para la comprensión del trabajo.

2. Materiales y Métodos

2.1. Reactivos

A continuación se citan los reactivos y extracto polifénólico utilizados en la parte experimental, así como la procedencia y alguna característica y/o especificación comercial que se han tenido en cuenta a la hora de realizar los cálculos.

2.1.1. Extracto polifenólico

El extracto de polifenólico utilizado es el NutriPhy Red Grape 100 de Chr. Hansen, con un contenido de polifenoles totales en polvo de 77% y un contenido de materia seca del 96,2% según el proveedor.

2.1.2. Saliva artificial para la extracción de los polifenoles

La saliva artificial se ha preparado según la fórmula de la Farmacopea Europea [28]. Los reactivos utilizados para dicha preparación fueron: potasio di-hidrógeno fosfato (98%, p.m: 136,09 g/mol, Panreac) e hidróxido de potasio (85%, p.m: 56,11 g/mol, Scharlau) y como disolvente agua destilada.

2.1.3. Cuantificación contenido de polifenoles totales

Para realizar la recta patrón y posterior cuantificación del contenido de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu se usaron los siguientes reactivos: ácido gálico monohidratado (99,5%, p.m: 188.14 g/mol, Scharlau), reactivo de fenol según Folin-Ciocalteu (Merck), carbonato sódico anhidro (99.5%, p.m: 105.99 g/mol, Scharlau o Panreac) y como disolvente agua destilada.

Todos los reactivos y disolventes se usaron como se recibieron, sin purificación adicional.

2.2. Producción de goma base y chicle comprimido

Para poder estudiar el efecto del PVAc y la resina de colofonia en la velocidad de liberación de los polifenoles añadidos en la matriz del chicle comprimido y en otros parámetros físico-sensoriales del chicle comprimido, se han formulado ocho gomas base en las que se ha modificado el porcentaje del sistema resina/PVAc y una novena goma base en la que se ha usado un PVAc de mayor peso molecular.

Tabla 2.1. Porcentajes del sistema resina/PVAc de las distintas gomas base

Goma Base	% Resina de colofonia	% PVAc (Mw: 12.000-18.000 g/mol)	% PVAc (Mw: 42.000-55.000 g/mol)
1	45,64	1	0
2	41,64	5	0
3	36,64	10	0
4	31,64	15	0
5	26,64	20	0
6	21,64	25	0
7	16,49	30,15	0
8	11,64	35	0
9	16,49	0	30,15

Con estas 9 gomas base se ha producido chicle en polvo, con un proceso propio de Cafosa, que consta de dos etapas:

- Fase “caliente”, donde se mezclan la goma base y los edulcorantes hasta que se obtiene una mezcla homogénea.
- Fase “fría”, donde se tritura la masa y se añade el resto de ingredientes, siguiendo un orden determinado.

El chicle en polvo obtenido se pasa por un tamiz de 2 mm y se calcula su rendimiento.

Para la producción de chicle en polvo se han usado los siguientes componentes.

Tabla 2.2. Componentes del chicle en polvo

Ingrediente
Goma Base
Poliol 1
Poliol 2
Poliol 3
Plastificante
Agente antiapelmazante

Una vez producidas las nueve fórmulas de chicle en polvo, estas se han aromatizado y añadido el extracto polifenólico, 100 mg de extracto de Nutriphy Red Grape 100 por comprimido de 1,8 g.

Las aromatizaciones de chicle en polvo se han realizado con una mezcladora de sólidos de pala de arado Lödige L5.

Finalmente, las mezclas de chicle en polvo aromatizadas y con el principio activo añadido, se han comprimido con una compresora, dándole forma final (comprimidos).

La dosis diaria recomendada de extracto polifenólico, según el proveedor, es de 400-670 mg/día. Con la masticación de 4 comprimidos de chicle en polvo por día se obtiene la dosis recomendada.

2.3. Métodos de caracterización del PVAc y de la goma base

2.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las propiedades térmicas del PVAc se han examinado por DSC con un DSC STAR^e System de Mettler Toledo, utilizando N_2 como gas de purga (20 mL/min). La rampa de calentamiento es de -20 – 120ºC a una velocidad de 5 ºC/min y la rampa de enfriamiento es de 120 - -20ºC a una velocidad de -10ºC/min. Se pesa una cantidad de muestra entre 6-12 mg, y se deposita en una capsula de aluminio de 40µl, la capsula se sella con una tapa previamente perforada.

2.3.2. Viscosidad rotacional

La determinación de la viscosidad rotacional de las nueve formulaciones de goma base a 100 ºC se han hecho según el método interno CAF-MET-658. Las mediciones se llevaron a cabo en un reómetro AR 1500ex de TA Instruments junto con la geometría cono (40 mm, 1º) con un *shear rate* de 15 s^{-1}.

2.4. Métodos de extracción y cuantificación de los polifenoles

2.4.1. Extracción de los polifenoles de la matriz de chicle comprimido

La extracción de los polifenoles se ha hecho según el método 2.9.25 *Apparatus B* de la Farmacopea Europea [29]. La extracción se ha llevado a cabo en un masticador artificial, modelo DRT-1 de AB FIA a una temperatura de 37.5ºC y 7-8 bar de presión.

Dado que los polifenoles presentes en el extracto de Red Grape son de naturaleza polar, se ha utilizado como saliva artificial una solución de tampón fosfato a pH 6.0, según la Farmacopea Europea [28].

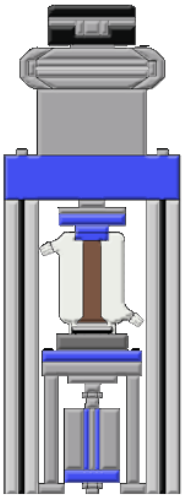


Fig. 2.1. Masticador artificial AB FIA modelo DRT-1

Se coloca un comprimido entre dos redes de nylon dentro de la celda termostática y se añaden 40 mL de saliva artificial. El comprimido se precalienta durante 20 min antes de ser masticado. La velocidad de masticación es de 58-60 golpes/min y un ángulo de giro de 20º. Se extraen alícuotas de 1 mL a los tiempos de 2, 5, 10, 15, 20 y 30 min de masticación con una pipeta. Se repone el volumen extraído con saliva artificial “fresca” después de cada extracción.

Se hacen seis replicados de cada formula de chicle en polvo.

2.4.2. Contenido de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales se ha determinado mediante espectrofotometría UV-VIS de acuerdo al método de cuantificación de fenoles, Folin-Ciocalteu [30][31].

Preparación de la recta patrón

Se preparan unas soluciones estándar de 0, 5, 100, 250 y 500 mg/L de ácido gálico.

En un matraz aforado ámbar de 100 mL se añade 1 mL de la solución estándar de ácido gálico, 5 mL de reactivo de fenol según Folin-Ciocalteu y se agita, después de 1 min y antes de 8 min, se adicionan 10 mL de Na_2CO_3 al 20% (w/v) y se vuelve agitar. Se añade agua destilada hasta el volumen final de 100 mL. La disolución se deja reposar durante 2 horas.

La absorbancia se mide en una cubeta de cuarzo de 10 mm a una longitud de onda de 760 nm con un espectrofotómetro UV-VIS Lambda 25 de Perkin Elmer. El blanco se hace con agua destilada.

Tabla 2.3. Resultados de absorbancia de los patrones de ácido gálico a 760nm

Patrón	C_{AG} (mg/L)	Abs
1	0	0,105
2	50	0,199
3	100	0,287
4	250	0,445
5	500	0,828

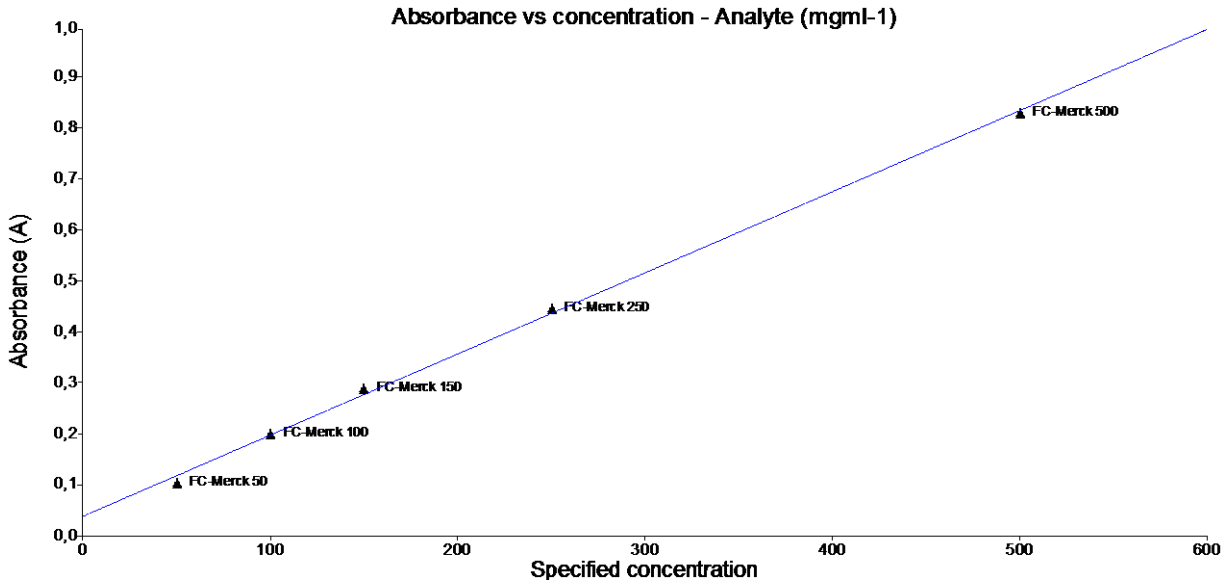


Fig. 2.1. Absorbancia vs concentración de ácido gálico (mg/L)

La recta patrón obtenida es:

$$y = 0{,}001591x + 0{,}038644$$

$$r^2 = 0{,}999384$$

Cuantificación del contenido de polifenoles totales extraídos durante la masticación

En un matraz aforado ámbar de 100 mL se añade 0,5 mL de muestra (se ha aplicado una dilución 1:2) y 5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu y se agita. Después de 1 min y antes de 8 min, se adicionan 10 mL de Na_2CO_3 al 20% (w/v) y se vuelve agitar. Se añade agua destilada hasta el volumen final de 100 mL. La disolución se deja reposar durante 2 horas. Pasado este tiempo, se mide la absorbancia a una longitud de onda de 760 nm. El blanco se hace con agua destilada.

Los resultados se expresan en mg equivalentes de ácido gálico por g de extracto (mg EAG/g extracto).

2.4.3. Uniformidad de contenido

Para determinar la uniformidad de contenido de los chicles comprimidos se ha seguido el siguiente procedimiento. Se pesa un comprimido y se pone en el congelador durante 30 min. Posteriormente, se pulveriza con un mortero, se pesa la cantidad de chicle pulverizado y se introduce en un matraz aforado de 100 mL. Se añade H_2O hasta cerca del enrase y se

somete a ultrasonidos durante 10 min. Se enrasa a volumen final de 100 mL. Se analiza por espectrofotometría UV-VIS por el método Folin-Ciocalteu.

Se ha determinado el contenido de polifenoles totales en 10 comprimidos de una única fórmula de chicle en polvo.

2.4.4. Uniformidad de masa

La uniformidad de masa se ha determinado según el método 2.9.5 de la Farmacopea Europea [32]. Se pesan 20 comprimidos aleatoriamente de forma individual y se hace la media. Se han aplicado los criterios establecidos por la monografía para comprimidos (*Tablets*).

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización del PVAc, goma base y chicle en polvo

3.1.1. Calorimetría Diferencial de barrido

El comportamiento térmico de ambos PVAc, alto y bajo peso molecular, se ha estudiado por DSC.

Las temperaturas de transición vítrea obtenidas de ambos PVAc se representan en la Fig. 3.1. El PVAc de bajo peso molecular tiene una Tg de 31ºC, inferior a la Tg del PVAc de mayor peso molecular que es de 39ºC.

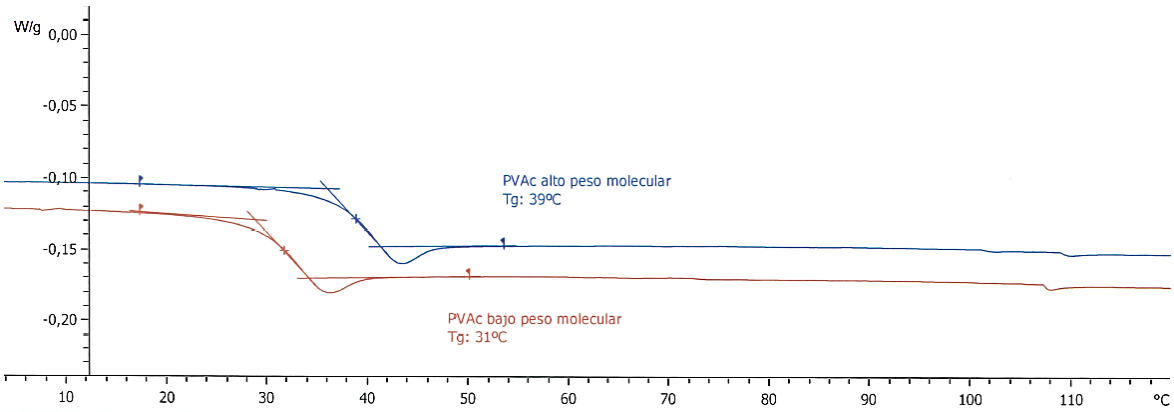


Fig. 3.1. Gráfico DSC de las Tg del PVAc de alto y bajo peso molecular

3.1.2. Viscosidad rotacional de la goma base

Como ya se ha comentado en el apartado 2, se han hecho a nivel de laboratorio ocho gomas base con diferentes porcentajes en el sistema resina de colofonia/PVAc y una novena goma base donde se ha cambiado únicamente el PVAc de bajo peso molecular por uno de mayor peso molecular.

Se ha estudiado el efecto que tiene el porcentaje y el peso molecular del PVAc en la viscosidad de la goma base a 100ºC.

De los ensayos de viscosidad rotacional, η, realizados en las nueve gomas bases, por duplicado, se han obtenido los siguientes resultados:

Tabla 3.1. Variación de la viscosidad media en función del % y tipo de PVAc

Goma Base	% PVAc	η media (Pa·s)
1	1	16
2	5	18
3	10	20
4	15	22
5	20	23
6	25	27
7	30,15	33
8	35	37
9	30,15	35

En la Tabla 3.1 y en la Fig. 3.2 se puede observar que para un mismo tipo de PVAc, la viscosidad de la goma base aumenta conforme aumenta el porcentaje de PVAc presente en la goma base.

Si se comparan los resultados de viscosidad de las gomas base con el mismo porcentaje de PVAc pero de diferente peso molecular (gomas base nº 7 y 9), se puede observar que la goma base con PVAc de alto peso molecular (nº 9) tiene una viscosidad ligeramente mayor con respecto a la goma base con PVAc de bajo peso molecular (nº 7). Obteniendo valores de viscosidad de 35 Pa·s y 33 Pa·s, respectivamente.

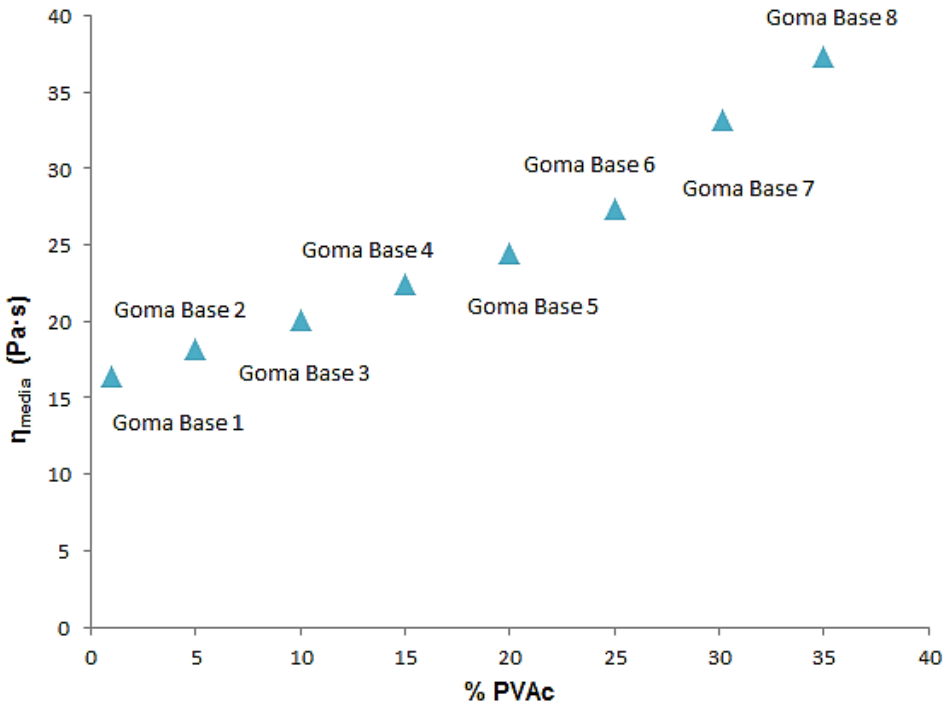


Fig. 3.2. Variación de la η_{media} en función del %PVAc de las gomas de la 1-8

3.1.3. Rendimiento de chicle en polvo

Los rendimientos, φ, de las producciones de chicle en polvo hechas con las diferentes gomas base se han calculado a través de la fracción obtenida después de tamizarlas a 2mm con la siguiente formula:

$$\varphi = \frac{m_f - m_0}{m_f}$$

(Ec. 3.1)

m_0: peso de chicle en polvo antes de ser tamizado, en g
m_f: peso de chicle en polvo después de ser tamizado, en g

Se han realizado tres producciones para cada tipo de chicle en polvo.

Tabla 3.2. Rendimientos medios de las diferentes producciones de chicle en polvo

Chicle en polvo	Goma base	PVAc (%)	φ medio(%)	%CV
1	1	1	68	8
2	2	5	66	15
3	3	10	66	11
4	4	15	62	4
5	5	20	66	15
6	6	25	71	2
7	7	30,15	69	1
8	8	35	67	6
9	9	30,15	85	2

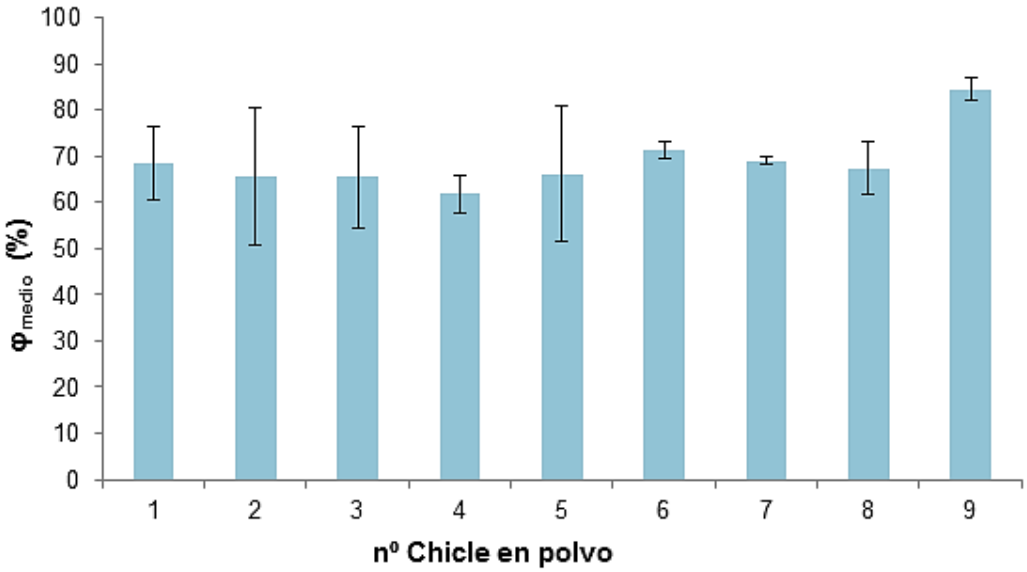


Fig. 3.3. Gráfico de φ_{medio} de las nueve producciones de chicle en polvo

Se ha realizado la prueba estadística de Kruskal-Wallis para un nivel de confianza del 95% y los resultados muestran que los rendimientos de las producciones de chicle en polvo del nº 1 al 8 son iguales. El porcentaje de PVAc de bajo peso molecular presente en la goma base no afecta al rendimiento del chicle en polvo.

En cambio, sí que se observa un incremento en el rendimiento en el chicle en polvo nº 9 que contiene PVAc en la goma base con respecto al chicle en polvo nº 7, que contiene el mismo porcentaje de PVAc pero de bajo peso molecular.

3.2. Cuantificación de polifenoles

3.2.1. Contenido de polifenoles totales extraídos de la matriz de chicle comprimido

Se ha determinado el contenido de polifenoles totales en los comprimidos hechos con las nueve fórmulas de chicle en polvo según el método descrito en el apartado 2.4.2.

Previamente, se ha determinado el contenido de polifenoles totales en el extracto NutriPhy Red Grape según el método de Folin-Ciocalteu. El ensayo se ha realizado por triplicado.

Tabla 3.3. Contenido de polifenoles totales del extracto NutriPhy Red Grape en mg EAG/g extracto

Replicado	g extracto	Abs	[EAG] (g/L)	C_{EAG} (mgEAG/g extr)
1	0,0717	0,3564	0,448	625
2	0,0785	0,3381	0,425	541
3	0,0754	0,3500	0,440	584

El extracto NutriPhy Red Grape tiene un contenido de polifenoles totales promedio, C_{EAG}, de (583±41) mg EAG/g extracto y un coeficiente de variación del 7%.

El contenido de polifenoles totales liberados en un comprimido de chicle en polvo expresado en g EAG/L, [EAG], se ha calculado de la siguiente manera:

$$[EAG] = \frac{Abs_{760nm} x FD}{a x 1000}$$

Abs: Absorbancia a 760 nm (Ec. 3.2)
a: Pendiente de la recta patrón
FD: Factor de dilución

El contenido de polifenoles totales por gramo de extracto presente en el comprimido de chicle en polvo, C_{EAG} (mg EAG/g de extracto), se ha calculado con la siguiente ecuación:

$$C_{EAG} = \frac{[EAG]xV}{PE}$$

V: Volumen de la disolución en mL (Ec. 3.3)
PE: peso del extracto polifenólico en g

Para poder estudiar la velocidad de liberación del extracto polifenólico de la matriz de chicle comprimido, se han masticado los comprimidos de chicle en polvo *in vitro* según el método descrito en el apartado 2.4.1.

Las alícuotas extraídas en los tiempos de masticación de 2, 5, 10, 15, 20, 30 min se analizaron de acuerdo al método de Folin-Ciocalteu. De cada tipo de chicle en polvo se han realizado seis replicados.

Para calcular el contenido de polifenoles totales liberados en función del tiempo de masticación se ha tenido en cuenta la disolución que se hace al extraer 1 mL de muestra y añadir 1 mL de saliva "fresca" para mantener el volumen en la celda del masticador artificial, el peso de cada comprimido de chicle en polvo y la cantidad de extracto polifenólico que contiene cada comprimido en función de su peso.

En la Tabla 3.4 se muestra el contenido de polifenoles totales liberados promedio de los seis replicados de cada tipo de chicle en polvo en función del tiempo de masticación, expresado en mg EAG/g extracto, para los comprimidos de chicle en polvo del nº 1 al 8.

Tabla 3.4. C_{EAG} liberados promedio en función del tiempo de masticación de los comprimidos de chicle en polvo del nº 1 al 8

	Comprimidos de Chicle en polvo del nº 1-8							
	1	2	3	4	5	6	7	8
t (min)	C_{EAG} (mg/g extr)	C_{EAG} (mg/g extr)	C_{EAG} (mg/g extr)	C_{EAG} (mg/g extr)	C_{EAG} (mg/g extr)	C_{EAG} (mg/g extr)	C_{EAG} (mg/g extr)	C_{EAG} (mg/g extr)
0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	210	245	225	104	223	110	166	218
5	253	270	241	160	239	134	197	226
10	279	291	265	177	247	152	223	264
15	303	308	290	201	260	168	266	284
20	320	339	311	221	269	184	278	299
30	352	343	328	222	294	188	304	312

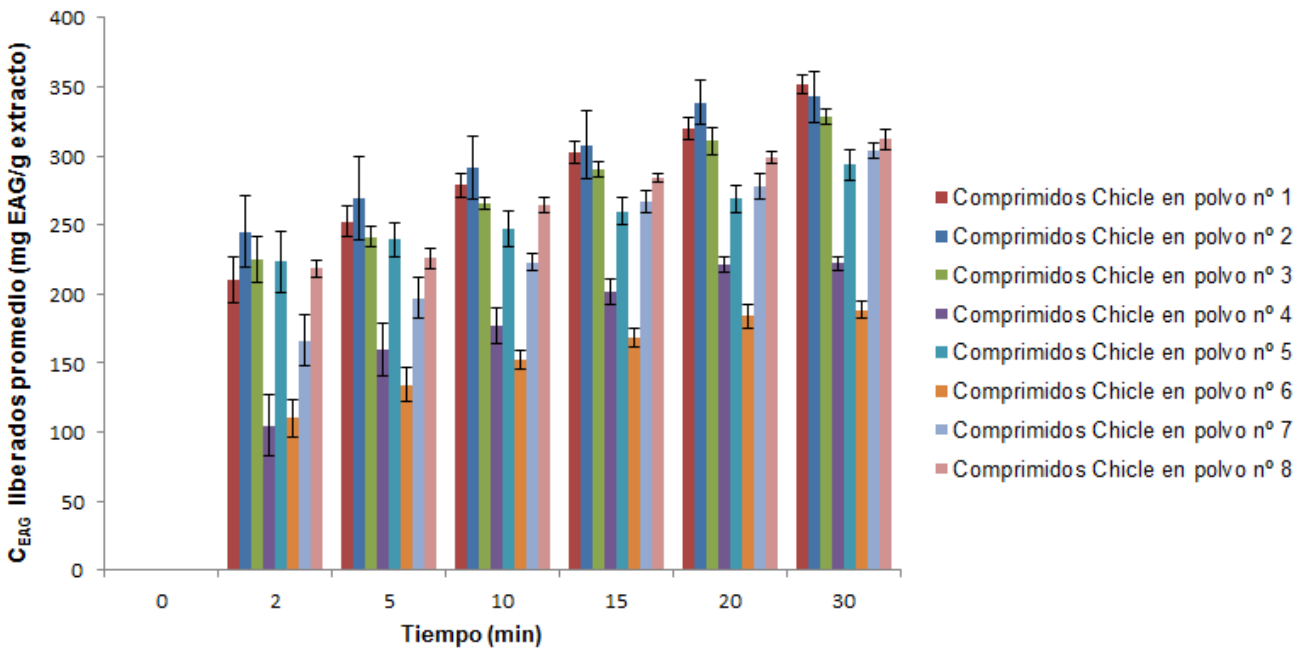


Fig. 3.4. Representación del C_{EAG} liberados promedio en función del tiempo de masticación de los comprimidos de chicle en polvo del nº 1 al 8

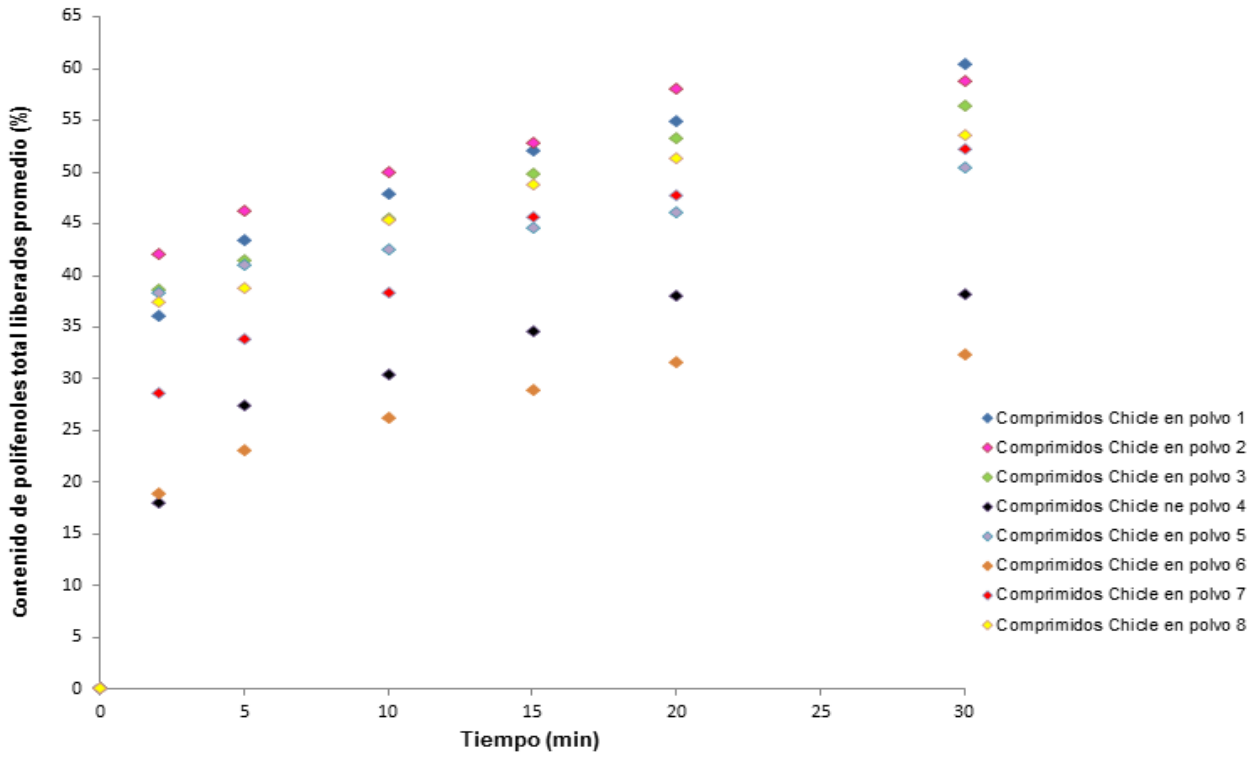


Fig. 3.5. % de polifenoles totales liberados promedio en función del tiempo de masticación de los comprimidos de chicle en polvo del nº 1 al 8

Se observa que el máximo de liberación se produce a los 30 min de masticación. En la Tabla 3.5 se muestra el C_{EAG} liberados presentes en la matriz de chicle comprimido a los 30 min de masticación y el porcentaje liberado respecto al contenido de polifenoles totales que contiene el extracto NutriPhy Red Grape, ordenados de mayor a menor.

Tabla 3.5. C_{EAG} y % de polifenoles totales liberados a los 30 minutos de masticación ordenados de mayor a menor

nº Comp. Chicle en polvo	1	2	3	8	7	5	4	6
% PVAc	1	5	10	35	30,15	20	15	25
% Resina	45,64	41,64	36,64	11,64	16,49	26,64	31,64	21,64
C_{EAG} (mg/g extr) a t=30 min	352	343	328	312	304	294	222	188
% CV	7	19	5	7	6	11	5	6
% Polifenoles Totales liberados	60	59	56	54	52	50	38	32

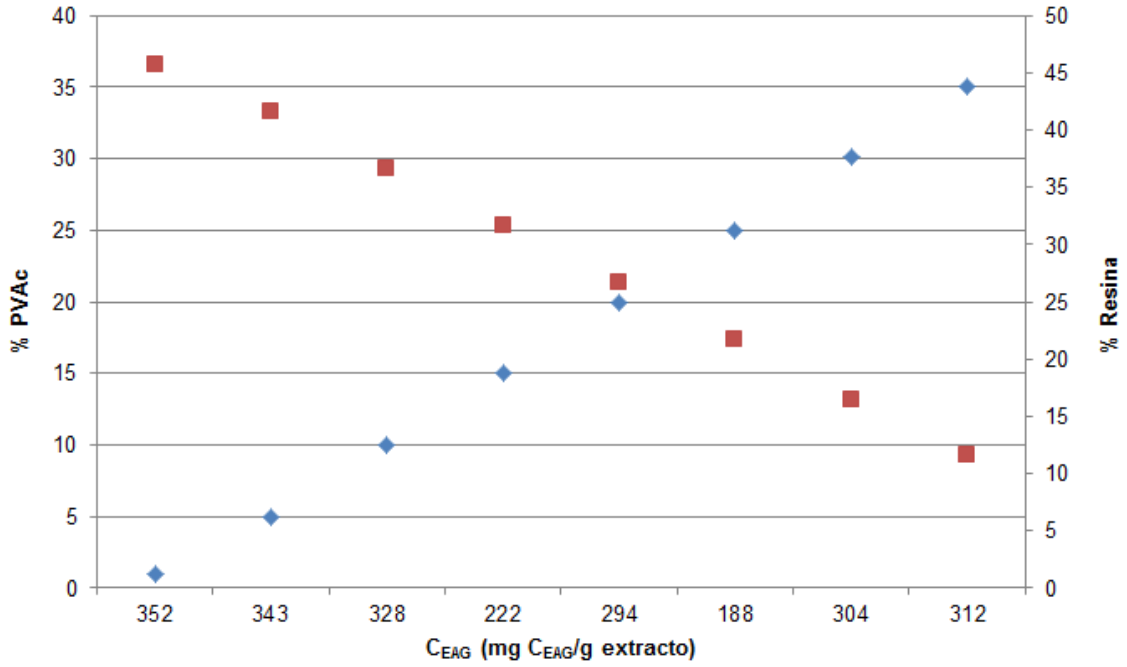


Fig. 3.6. Efecto del % PVAc y resina en la liberación de C_{EAG} a los 30 min de masticación de los comprimidos de chicle en polvo ordenados del nº 1 al 8

La Tabla 3.5 muestra que los comprimidos de chicle en polvo nº 1 son los que presentan mayor liberación de polifenoles totales después de 30 min de masticación. Esto resultados refuerzan la hipótesis inicial hecha en el trabajo. En la Fig. 3.6 se puede ver que el alto porcentaje de resina y bajo porcentaje de PVAc presente en la goma base favorece la liberación de los polifenoles totales presentes en la matriz de chicle comprimido. La resina al tener un carácter hidrofóbico favorece la liberación de los polifenoles que son solubles en

medio acuoso debido a su estructura química. Al aumentar el porcentaje de PVAc y disminuir el de resina, el carácter hidrofóbico de la goma base disminuye y por consecuencia la liberación de los polifenoles totales también disminuye.

Esta tendencia solo se observa en los comprimidos de chicle en polvo nº 1, 2 y 3 con un alto porcentaje de resina y bajo de PVAc; el resto de comprimidos no sigue ninguna tendencia lógica.

El C_{EAG} promedio liberados a los 30 min de masticación de las ocho formulaciones de chicle en polvo es de 293 mg EAG/g extracto. Se libera el 50 % de los polifenoles totales presentes en el extracto de NutriPhy Red Grape.

En la Tabla 3.6 se muestra el C_{EAG} liberados promedio en función del tiempo de masticación, expresado en mg EAG/g extracto, de los comprimido de chicle en polvo nº9 versus los comprimidos de chicle en polvo nº7. Ambos comprimidos contienen el mismo porcentaje de PVAc en la fórmula de goma base (30,15%), pero con la diferencia que la fórmula nº9 contiene PVAc de alto peso molecular y la nº7 PVAc de bajo peso molecular.

Tabla 3.6. Efecto del peso molecular del PVAc en el C_{EAG} liberados promedio en función del tiempo

	Comprimidos de Chicle en polvo	
	7	**9**
t (min)	**C_{EAG} (mg/g extr)**	**C_{EAG} (mg/g extr)**
0	0	0
2	166	222
5	197	273
10	223	307
15	266	322
20	278	350
30	304	368

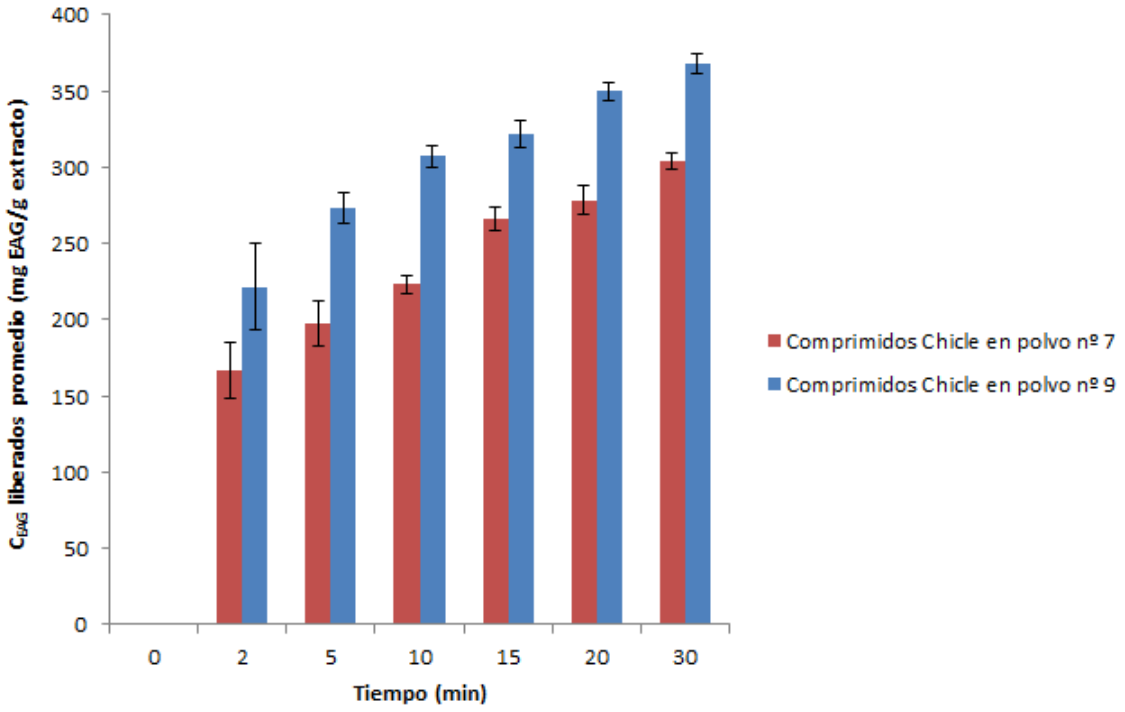


Fig. 3.7. Representación del efecto del peso molecular del PVAc en el C_{EAG} liberados promedio en función del tiempo de masticación

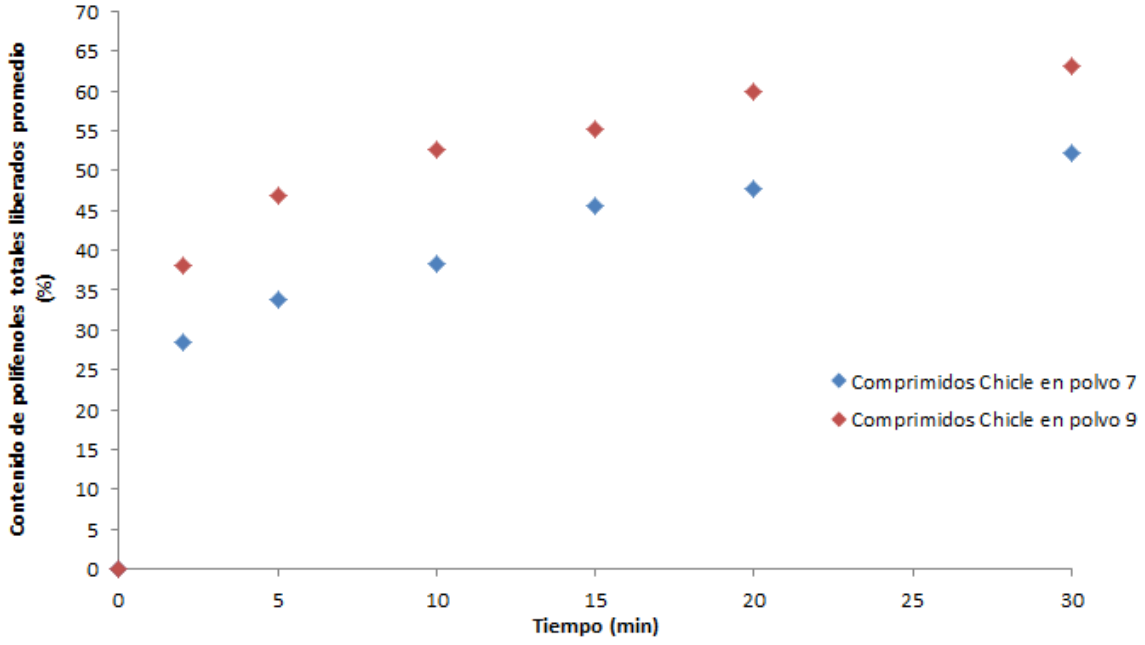


Fig. 3.8. Representación del efecto del peso molecular del PVAc en % de polifenoles totales liberados promedio en función del tiempo de masticación

En este caso, también se obtiene un máximo de liberación a los 30 min de masticación.

En la Tabla 3.7 se muestra el C_{EAG} liberados a los 30 min de masticación y el porcentaje liberado respecto al contenido de polifenoles totales que contiene el extracto NutriPhy Red Grape.

Tabla 3.7. C_{EAG} y % de polifenoles totales liberados promedio a los 30 min de masticación para los comprimidos de chicle en polvo nº 7 y 9

nº Comp. Chicle en polvo	7	9
Mw PVAc	Bajo	Alto
C_{EAG} (mg/g extr) a t=30 min	304	368
% CV	6	6
% Polifenoles Totales liberados	52	63

Los resultados muestran que con el PVAc de alto peso molecular se consigue una mayor liberación de polifenoles totales de la matriz de chicle comprimido.

El C_{EAG} promedio liberados a los 30 min de masticación de las ocho formulaciones de chicle en polvo con PVAc de bajo peso molecular es de 293 mg EAG/g extracto, liberándose un 50% de los polifenoles totales presentes en el extracto. En cambio, con la formulación de chicle en polvo con PVAc de alto peso molecular se obtiene un C_{EAG} promedio de 368 mg EAG/g extracto, liberándose un 63 % de los polifenoles presentes en el extracto polifenólico.

Estos resultados parecen indicar que el porcentaje de polifenoles totales restante queda atrapado en la matriz de chicle comprimido debido a la acción mecánica de masticar, impidiendo que estos se liberen.

3.2.2. Uniformidad de contenido

Para determinar la uniformidad del contenido de polifenoles totales presentes en los chicles comprimidos se ha aplicado el método descrito en el apartado 2.4.3 para cuantificar el principio activo presente en el chicle comprimido. El análisis se ha hecho sobre los comprimidos de chicle en polvo nº 7 (30,15% PVAc de bajo peso molecular en la goma base) de forma representativa, ya que todos los comprimidos de chicle en polvo están hechos con la misma fórmula de aromatización y con el mismo procedimiento de compresión. Se han hecho 10 replicados.

En la Tabla 3.8 se muestran los valores del contenido de polifenoles totales, C_{EAG}, expresado en mg EAG/g extracto y en %.

Tabla 3.8. C_{EAG} de 10 comprimidos de chicle en polvo nº 7

Replicado	g comprimido	g comp. triturado	g extracto/comp.	Abs	[EAG] (g/L)	C_{EAG} (mgEAG/g extr)	% Polifenoles Totales extraidos
1	1,8168	1,7920	0,100	0,2182	0,274	275	47
2	1,7429	1,7327	0,096	0,2168	0,272	283	48
3	1,8085	1,8040	0,100	0,2289	0,288	287	49
4	1,7398	1,7206	0,096	0,2115	0,266	278	48
5	1,7564	1,7415	0,097	0,194	0,244	252	43
6	1,7657	1,7588	0,098	0,2161	0,272	278	48
7	1,7574	1,7443	0,097	0,209	0,263	271	47
8	1,8262	1,8166	0,101	0,2307	0,290	287	49
9	1,7137	1,7049	0,095	0,2422	0,304	321	55
10	1,7160	1,7000	0,094	0,2076	0,261	276	47

Al ser el chicle en polvo insoluble en agua, las partículas de chicle en polvo triturado han dificultado mucho el enrase del matraz. Dichas partículas se han dejado por encima de la marca de enrase.

El C_{EAG} medio de los 10 comprimidos es de 281mg EAG/ g extracto y un coeficiente de variación del 6% respecto los 583 mg EAG/ g extracto que contiene el extracto NutriPhy Red Grape. El C_{EAG} medio liberado es del 48%.

Estos resultados sugieren que el porcentaje de polifenoles totales restante queda atrapado en la matriz de chicle comprimido debido a la acción mecánica hecha al triturar el chicle comprimido, impidiendo que estos se liberen.

3.2.3. Uniformidad de masa

Para cuantificar la uniformidad de la cantidad de masa que contienen los chicles comprimidos se han pesado 20 comprimidos de forma aleatoria. La cuantificación de la uniformidad de masa se ha hecho en los chicles comprimidos que están hechos con la goma base nº 7 de forma representativa.

Los pesos de los 20 comprimidos pesados de forma aleatoria se muestran en la Tabla 3.9. Todos ellos están dentro de los criterios establecidos por la monografía de la Farmacopea Europea [32]. Ningún comprimido se desvía del 5% de la media de la masa, todos están dentro del rango de 1.6935-1.8718 g.

Tabla 3.9: Peso en gramos de los 20 comprimidos escogidos aleatoriamente

Comprimido	g
1	1,8220
2	1,7501
3	1,8218
4	1,7551
5	1,7577
6	1,7437
7	1,8146
8	1,7856
9	1,7495
10	1,8273
11	1,7178
12	1,7613
13	1,8031
14	1,8236
15	1,7397
16	1,7820
17	1,8471
18	1,8125
19	1,7369
20	1,8016
Average	**1,78265**

3.3. Propiedades sensoriales

Se ha realizado un análisis sensorial discriminativo de los comprimidos de las nueve formulaciones de chicle en polvo para ver cómo afectan las diferentes formulaciones de goma base en el perfil sensorial del chicle comprimido.

La evaluación masticatoria se divide en tres etapas que van asociadas a unos tiempo concretos de masticación: inicio (10s), intermedio (10s – 1min) y final (1min – 5min). Cada una de estas etapas tiene unos parámetros sensoriales asociados que se miden en una escala subjetiva del 1 al 5.

El análisis sensorial lo ha realizado un único panelista.

Los parámetros sensoriales evaluados en los diferentes chicles comprimidos se describen a continuación:

Inicio

- Dureza inicial: Mide la dureza de la primera masticación (1: Blando - 5: Duro)
- Desmenuzabilidad: Describe si el chicle comprimido se rompe en trozos antes de hidratarse (1: Entero – 5: Desmenuzado)

Intermedio

- Cohesión: Describe la consistencia del chicle en boca (1: Se deshace – 5: Entero)

Final

- Dureza final: Se mide la dureza tras la extracción de los edulcorantes (1: Blando – 5:Duro)
- Elasticidad: Describe la elasticidad del chicle comprimido (1:Plástico – 5: Elástico)

A continuación se representan las evaluaciones masticatorias de los comprimidos de chicle en polvo.

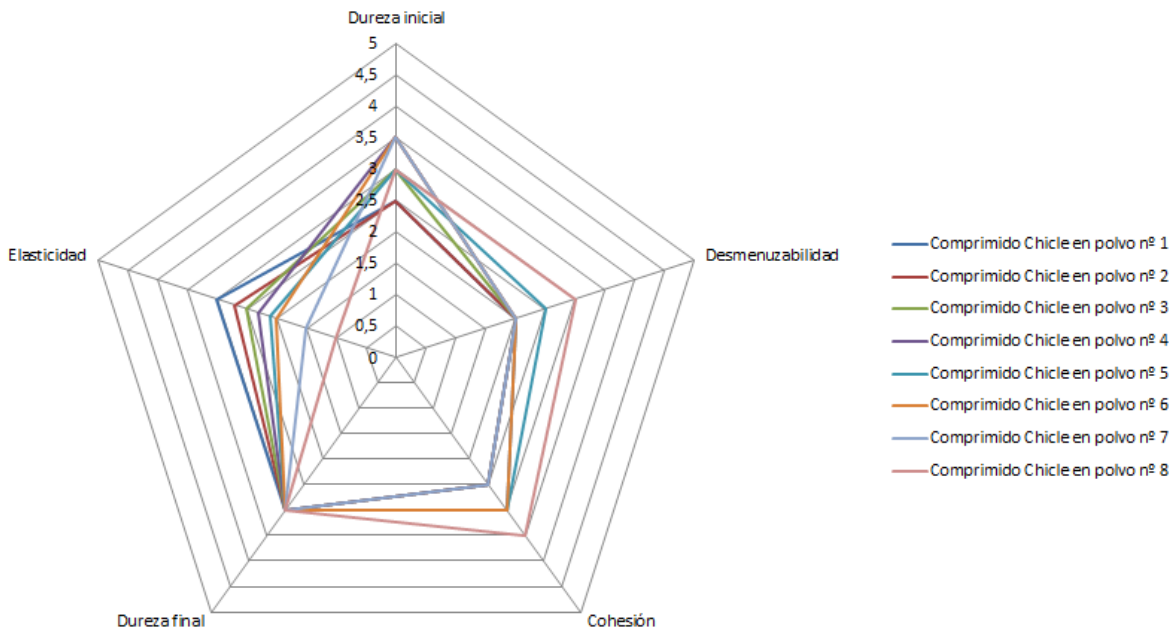


Fig. 3.9. Efecto del % PVAc en el perfil masticatorio de chicle comprimido (comprimidos del nº 1 al 8)

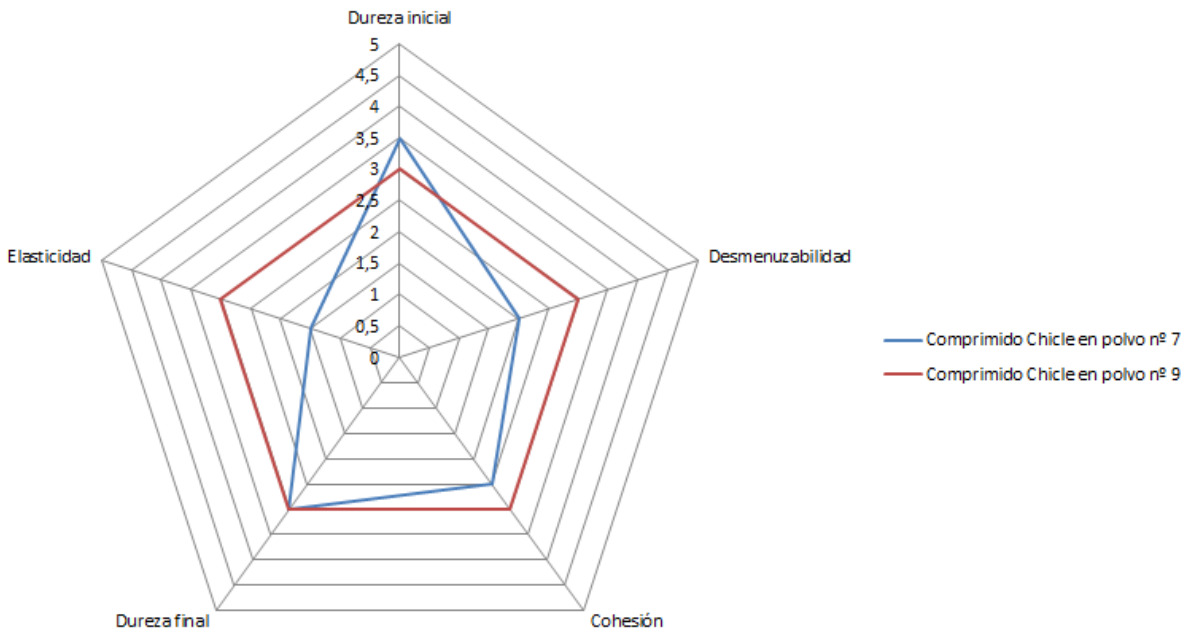


Fig. 3.10. Efecto del peso molecular del PVAc en el perfil masticatorio del comprimido de chicle en polvo

Los resultados obtenidos de la evaluación organoléptica de los comprimidos de chicle en polvo muestran que conforme aumenta la cantidad de PVAc en la fórmula de goma base, la masticación del comprimido se vuelve más plástica. Los comprimidos de chicle en polvo nº 8 son los que presentan una masticación más plástica, se desmenuzan menos al inicio de la masticación y tienen más cohesión que el resto.

Si se comparan los resultados obtenidos para un mismo % de PVAc pero de diferente peso molecular, comprimidos nº 7 y 9, se observa que el PVAc de alto peso molecular aporta elasticidad al comprimido, mayor cohesión y menor desmenuzamiento del comprimido al inicio de la masticación.

Conclusiones

1. El peso molecular del PVAc afecta al rendimiento del chicle en polvo, pero no la cantidad de PVAc que contiene la fórmula de goma base.

2. Se ha desarrollado un método para determinar el contenido de polifenoles totales liberados durante la masticación “in vitro” de chicles comprimidos.

3. El máximo de liberación de los polifenoles totales presentes en la matriz de chicle comprimido se obtiene a los 30 min de masticación.

4. Se obtiene mayor liberación de polifenoles totales en aquellos comprimidos que contienen menor cantidad de PVAc de bajo peso molecular y mayor cantidad de resina de colofonia. El carácter hidrofóbico/hidrofólico de los ingredientes de la goma base afecta en la liberación de los polifenoles totales presentes en la matriz de chicle comprimido.

5. El peso molecular del PVAc incrementa la liberación de los polifenoles presentes en la matriz de chicle comprimido.

6. No se libera la totalidad de los polifenoles añadidos en la matriz de chicle comprimido. Se obtiene una liberación media del 50% en las formulaciones con PVAc de bajo peso molecular y de un 63% en la formulación con PVAc de alto peso molecular. Los polifenoles restantes parecen quedar atrapados en la matriz de chicle comprimido.

7. El PVAc de alto peso molecular aporta elasticidad al perfil sensorial de los comprimidos de chicle en polvo.

8. Incrementar la cantidad de PVAc disminuye la elasticidad del perfil masticatorio de los chicles comprimidos.

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a Cafosa Gum S.A.U el brindarme la oportunidad de realizar este Máster e incentivar mi desarrollo personal y profesional.

A Pedro Ruiz Donaire, mí *manager* en Cafosa y director en este proyecto, por su apoyo y dedicación en este TFM.

A Sebastián Muñoz Guerra, coordinador de este proyecto, por su orientación y ayuda en la elaboración de este proyecto.

A todos los integrantes del grupo de *R&D* de Cafosa, especialmente a Javier Belmar López y Maria Bonavia Solé, por su ayuda y consejos durante el transcurso de la elaboración del trabajo de final de Máster.

Finalmente, un fuerte agradecimiento a mi familia y amigos que siempre me acompañan en todo lo que llevo a término.

Muchas Gracias

Bibliografia

[1] BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO. Real Decreto 1601/2010, de 26 de noviembre, por el que se aprueban las materias básicas para la elaboración de la goma base del chicle o goma de mascar. Madrid, 2010, núm. 305, sec. 1, p. 103888-103893 (BOE-A-2010-19335)

[2] Fritz, D. Formulation and production of chewing and bubble gum. 1º ed. Kennedy's Publications Ltd, London, 2006

[3] Mark, HF. Encyclopedia of polymers science and technology Vol. 12. 3º ed. John Wiley & Sons, Inc, Pittsburgh, 2004, p. 416-451

[4] Food Chemicals Codex. 8º ed. USP, Baltimore, 2012, p. 919-920

[5] BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO. Real Decreto 348/2011, de 11 de marzo, por el que se aprueba la norma de callidad para caramelos, chicles, confites y golosinas. Madrid, 2011, núm. 72, sec. 1, p. 31843-31847 (BOE-A-2011-5394)

[6] Thomas,C. Chewing gum product and method of preparing same. Patente US 2290120, 1942

[7] SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRACÉUTICA MÉDICA. http://www.nutraceuticamedica.org/definicion.htm, 22 de Enero del 2014

[8] DULCES NOTÍCIAS...y algo más. Alimentos funcionales: valor añadido para los productos del sector. Madrid, Vol. 154, 2000, p. 94-97

[9] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Q&A on Dietary Supplements. http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/QADietarySupplements/default.htm, 22 de Enero del 2014

[10] Salvadó, M.J.; Cascón, E.; Roig, R; Brunet, M.J.; Arola, L.;Bladé, C. El vino, un componente de la vida mediterránea. *Alimentación equipos y tecnología.* Vol. 19 (1), 2000, p. 181-189

[11] Franco, D. y Moure, A. Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Xunta de Galicia, Consellería del Medio Ambiente, Santiago de Compostela, 2010.

[12] DIARIO OFICIAL DE LA UNIÓN EUROPEA. Reglamento (UE) No 432/2012 de la comisión del 16 de mayo del 2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedades y al desarrollo y la salud de los mismos. Bruselas, 2012, p. 136/1-136/40

[13] Manach, C.; Williamson, G.; Morand, C.; Scalbert, A.; Rémésy, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition.* Vol. 81 (suppl), 2005, p. 231S-242S

[14] Bravo, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrients*. Vol. 56 (11), 1998, p. 317-333

[15] Leighton, F.;Urquiaga, I. Polifenoles del vino y salud humana. *Antioxidantes y calidad de vida*. Vol. 7, 2000, p. 5-13

[16] Leighton, F.; Urquiaga, I. Los componentes del vino y sus efectos beneficiosos para la salud humana. Conferencia pronunciada en el VII Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología. Mendoza, Argentina, 28 de noviembre al 3 de diciembre de 1999. www.fac.org.ar/faces/publica/revista/00v29n2/leighton/leighton.htm, 26 de Febrero del 2014

[17] Rebolo, S. Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con D.O.: Ribeiro, Valdeorras y Ribeira Sacra. Tesis Doctoral. 2007. Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Ciencias. Campus de Lugo

[18] Lamuela, R. y De La Torre, C. Vino y salud: Compuestos de interés fisiológico presentes en el vino. *Revista Ibérica*. Vol. 0, 1996, p. 562-566

[19] Renaud, S.; de Lorgeril, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet.* Vol. 339, 1992, p. 1523-1526

[20] Lippi, G; Franchini, M.; Guidi, G. Red wine and cardiovascular health: the “French Paradox” revisited. *International Journal of Wine Research*. Vol. 2, 2010, p. 1-7

[21] Fuhrman, B.; Lavy, A.; Aviram, M. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 61, 1995, p. 549-554

[22] Nigdikar, S.; Williams, N.; Griffin, B.; Howard, A. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *American Journal of Clinical Nutrition.* Vol. 68(2), 1998, p. 258-2665

[23] Rein, D.; Paglieroni, T.; Pearson, D.; Wun, T.; Schmitz, H.; Gosselin, R.; Keen, C. Cocoa and wine polyphenols modulate platelet activation and function. *The Journal of Nutrition.* Vol. 130 (8), 2000, p. 2120S-2126S

[24] Castillo-Muñoz, N. Perfiles de flavones y otros compuestos flavonoides para la autenticidad y diferenciación varietal de uva (V. vinifera) y vino. Tesis Doctoral. 2010. Universidad de Castilla-La Mancha

[25] Cooper, K.; Chopra, M.; Thurnham, D. Wine polyphenols and promotion of cardiac health. *Nutrition research Reviews*. Vol. 17, 2004, p. 111-129

[26] Tsao, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients.* Vol. 2, 2010, p. 1231-1246

[27] Jiménez, A. Efecto matriz en la determinación de polifenoles en vino por UPLC-MS. TFM, 2011. Universidad de la Rioja

[28] European Pharmacopoeia-Supplement 7.4. 4.1.3 Buffer Solutions – Phosphate buffer solution pH 6.0 R2. 40022600. 7º ed., Francia, 2011, p.4097-4101

[29] European Pharmacopoeia-Supplement 7.4. 2.9.25 Dissolution test for medicated chewing gums. 7º ed., Francia, 2011, p.4221

[30] Aubert, C. Total Polyphenols Dosage Folin-Ciocalteu. Chr. Hansen A/S, Francia: 2001

[31] Singleton, A. y Rossi, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journa of Enoology and Vitic*ulture, Vol. 16, 1965, p. 144-158

[32] European Pharmacopoeia- Supplement 7.4. 2.9.5 Uniformity of mass of single-dose preparations. 7º ed., Francia, 2011, p. 265