

Abstract

Natural fermentation of *Phaseolus vulgaris* at 42°C for 48h increased the emulsifying capacity and the stability of the emulsions produced by its proteins. Emulsified sauces are the most convenient and frequently consumed dressings. In the current research, emulsified sauces were formulated with concentrates of *Phaseolus vulgaris*, obtained from grains that were subjected to fermentation and concentrated without bioprocessing, used as emulsifying agent. Furthermore, xanthan and guar gums were incorporated. The formulation of the emulsions were made following a 2⁴ split plot design, using as factors the concentrate content of *Phaseolus vulgaris*, corn oil, guar gum, and xanthan gum. Emulsion stability, intensity of attributes and consumer acceptability were evaluated by a semi-trained panel. Finally, the shelf life of the most accepted formulations were also studied. It was observed that the addition of gum significantly increased the stability of the emulsions prepared. The formulations selected for the evaluation by the consumers were those that exhibited features of texture, intensity of flavor and garlic odor similar than the commercial products studied. The consumer acceptability was 6.2 on a 9-point hedonic scale. The predicted shelf life for the formulation containing concentrated extract of fermented grains is greater than the shelf life of the concentrate formulation with unfermented beans. It was concluded that it is technically possible to incorporate *Phaseolus vulgaris* concentrates on the formulation of emulsified sauces.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, legumes, emulsified sauces, fermentation, shelf life

Introducción

Las salsas emulsionadas constituyen el aderezo más conveniente y de consumo más frecuente. En la formulación de emulsiones tipo mayonesa o salsas para ensaladas, tradicionalmente se usa la yema de huevo como emulsionante (Laca *et al.*, 2010). Sin embargo, debido a la tendencia actual del consumidor a eliminar de su dieta productos hipercalóricos y que contengan colesterol (Liu *et al.*, 2007), se requieren emulsionantes alternativos, como lo pueden ser las proteínas de las leguminosas.

Phaseolus vulgaris, en la actualidad, es consumida en los cinco conti-

Introduction

The emulsified sauces are the most convenient and more consumed dressings. In the formulation of emulsions such as mayonnaise or salad dressing, egg yolk is traditionally used as emulsifier (Laca *et al.*, 2010). However, due to the current trend of the consumer to remove from the diet hypercaloric products containing cholesterol (Liu *et al.*, 2007), alternative emulsifiers are required, such as the proteins of legumes.

Currently, *Phaseolus vulgaris* is consumed in the five continents and is an essential component of the diet in Central and South America. In Ve-

nes y es un componente esencial de la dieta en Centroamérica y Suramérica. En Venezuela, es la leguminosa más consumida, siendo su consumo casi exclusivamente en forma de grano integral en combinación con un cereal, que por lo general es arroz, por lo que se hace necesaria la diversificación de su consumo (INIA y FAO, 2008).

La capacidad emulsionante de las proteínas vegetales como las de *Phaseolus vulgaris*, mejora significativamente cuando el grano es sometido a fermentación con la flora endógena durante 48 h, este efecto se puede atribuir a la desnaturalización que se produce durante el bioproceso (Pérez and Granito, 2012).

La fermentación de leguminosas produce la disminución de factores antinutricionales, incrementa la vida útil, modifica las propiedades sensoriales y funcionales, lo cual a veces se traduce en una mejor aceptabilidad por el consumidor (Granito *et al.*, 2002).

En el presente estudio se formularon salsas emulsionadas donde se utilizó como agente emulsionante concentrado de *Phaseolus vulgaris* obtenido a partir de granos que fueron sometidos a fermentación con flora endógena y concentrado sin bioprocesamiento.

Materiales y métodos

Muestras

Las muestras de *Phaseolus vulgaris* de semillas de color blanco fueron adquiridas en un mercado local. Se retiraron los granos partidos y se dividieron en dos lotes de 1 kg cada uno. El primer lote fue adecuado y fer-

mezuela, is the most widely consumed legume, still its consumption is almost exclusively as a whole grain in combination with a cereal, which is usually rice, making necessary the diversification of its consumption (INIA and FAO, 2008).

The emulsifying capacity of the vegetable proteins such as those of *Phaseolus vulgaris*, significantly improves when the grain is subjected to fermentation with the endogenous flora during 48 h, this effect can be attributed to the distortion that occurs during the bioprocess (Pérez and Granito, 2012).

Legume fermentation produces a decrease of anti-nutritional factors, increases the useful life, and modifies the sensory and functional properties, which is sometimes translated into better consumer acceptability (Granito *et al.*, 2002).

In the current research emulsified sauces were formulated using as emulsifying agent the concentrate of *Phaseolus vulgaris* obtained from grains that were submitted to fermentation with endogenous flora and concentrate without bioprocessing.

Materials and methods

Samples

The samples of *Phaseolus vulgaris* of white seeds were acquired on a local market. The broken grains were removed and divided into two lots of 1 kg lots each. The first lot was adapted and fermented according to the methodology of Granito *et al.* (2002) and the other was ground in a mill ANALIZER MC-11 and sift in a 80 mesh.

mentado según la metodología de Granito *et al.* (2002) y el otro fue molido en un molino ANALIZER MC-11 y pasado por un tamiz de 80 mesh.

Preparación de los concentrados proteicos

Los concentrados proteicos del material fermentado y sin fermentar se obtuvieron por extracción alcalina de las harinas y precipitación en el punto isoeléctrico de la proteína, siguiendo el método de Adebowale y Lawal, 2003.

Preparación de las emulsiones

Para preparar las emulsiones, se usó concentrado proteico de *Phaseolus vulgaris* fermentado y sin fermentar, aceite de maíz, goma guar, goma xantán y soluciones de ácido acético al 8%, cloruro de sodio al 1%, esencia de ajo al 0,1% y EDTA 75 mg.L⁻¹.

Diseño experimental

La formulación de las emulsiones se realizó siguiendo un diseño factorial 2⁴, con dos repeticiones. Se establecieron como niveles máximo (+) y mínimo (-) del contenido de concentrado, fermentado y sin fermentar, 1% y 4%. Los niveles del contenido de aceite fueron 70% (nivel máximo) y 47% (nivel mínimo), según lo que establece la Norma Covenin 90:1994.

En relación al contenido de goma xantán y goma guar se establecieron para ambas como nivel máximo 0,1% y como nivel mínimo 0%, según lo estudiado por Makri y Doxastakis (2006). Los tratamientos estudiados se encuentran en el cuadro 1.

Las emulsiones fueron preparadas utilizando una batidora de inmersión Marca Oster, Modelo 2614, en velocidad II. La metodología seguida para el pro-

Preparation of the protein concentrates

Protein concentrates of the fermented and unfermented material were obtained by alkaline extraction of meats and precipitation in the isoelectric point of the protein, in accordance with the Lawal Adebowale method, 2003.

Preparation of the emulsions

To prepare the emulsions, protein concentrate of fermented and unfermented *Phaseolus vulgaris* was used as well as corn oil, guar gum, gum xantán and acetic acid solutions at 8%, sodium chloride at 1%, garlic extract to at 0.1% and EDTA 75 mg.L⁻¹.

Experimental design

The formulation of the emulsions was carried out using a 2⁴ split plot design with two replications. As maximum (+) and minimum (-) level of the concentrated content, fermented and unfermented, were established 1% and 4%. The oil content levels were 70% (maximum level) and 47% (minimum level), depending on the Covenin Norm 90:1994.

In relation to the xanthan gum and guar gum content, it was established for both the maximum level of 0.1% and minimum level 0%, according to Makri and Doxastakis (2006). The studied treatments are in table 1.

The emulsions were prepared using an immersion blender Oster Brand, Model 2614, in speed II. The methodology followed for the emulsification process consisted on the slowly addition for approximately two (2) minutes, from the oily phase to the aqueous solution of the rest of the

Cuadro 1. Formulaciones para la elaboración de salsa emulsionada con concentrados proteicos de *Phaseolus vulgaris*.

Table 1. Formulations for elaborating the sauce emulsified with proteic concentrates of *Phaseolus vulgaris*.

Formula	Concentrado	Aceite de maíz	Goma Guar	Goma Xantan
1	-	-	-	-
2	+	-	-	-
3	-	+	-	-
4	+	+	-	-
5	-	-	+	-
6	+	-	+	-
7	-	+	+	-
8	+	+	+	-
9	-	-	-	+
10	+	-	-	+
11	-	+	-	+
12	+	+	-	+
13	-	-	+	+
14	+	-	+	+
15	-	+	+	+
16	+	+	+	+

ceso de emulsificación consistió en la adición lenta, durante aproximadamente dos (2) minutos, de la fase oleosa a la disolución acuosa del resto de los ingredientes. El tiempo total de emulsificación fue de 5 minutos. Durante la etapa de homogenización, la temperatura de la emulsión no superó los 30°C. Finalmente, las emulsiones se envasaron en recipientes de vidrio y se conservaron a 4°C.

Determinación de estabilidad de emulsión

La estabilidad de emulsión se determinó utilizando el método de Lqari *et al.* (2002). Las muestras preparadas fueron colocadas en un baño a 85°C durante 15 min y posteriormente se centrifugaron durante 5 minutos a 3000 rpm. La estabilidad de emulsión

ingredientes. The total emulsification time lasted 5 minutes. During the homogenization stage the temperature of the emulsion did not exceed 30°C. Finally, the emulsions were bottled in glass containers and kept at 4°C.

Stability determination of the emulsion

The stability of the emulsion was determined using the method of Lqari *et al.* (2002). The prepared samples were placed in a water bath at 85°C for 15 min and then centrifuged for 5 minutes at 3000 rpm. The stability of emulsion was expressed as the percentage of the emulsion.

Once determined the emulsion stability of all the treatments the Statgraphics 5.1 software was used to

se expresó como el porcentaje de la emulsión.

Una vez determinada la estabilidad de emulsión de todos los tratamientos se utilizó el software Statgraphics 5.1 para establecer los efectos principales y de segundo orden entre los diferentes factores, a fin de identificar las interacciones más importantes para la selección de las formulaciones que serían evaluadas posteriormente.

Evaluación sensorial de las formulaciones

El panel semientrenado fue constituido por 25 personas, con edades comprendidas entre 24 y 56 años, todos estudiantes y personal de la Universidad Simón Bolívar, quienes recibieron 4 h de entrenamiento para evaluar salsas emulsionadas. Se presentaron en forma monádica 40 mL de las formulaciones en vasos plásticos translúcidos con capacidad de 60 mL, codificados con tres dígitos aleatorios, adicionalmente, se les suministró galletas de soda y agua mineral para limpiar el paladar. A los panelistas se les solicitó probar la muestra utilizando una cucharilla. Para evaluar la untabilidad se les indicó a los participantes esparcir al menos 2/3 de la muestra suministrada en un cuadro de 6 x 6 cm de pan blanco. La prueba fue realizada en una sala adecuada con cabinas de evaluación sensorial. Se evaluaron cuatro muestras por sesión, utilizando un diseño de bloques completos balanceados. Adicional a las muestras correspondientes al diseño experimental se evaluaron los productos comerciales mayonesa al ajo (Hellmans, Chile), Ajonesa (Chovi, SLU, España).

establish the main and side effects among the different factors, in order to identify the most important interactions for the selection of the formulations that would be evaluated later.

Sensorial evaluation of the formulations

The semi-trained panel was constituted by 25 people aging from 24 to 56 years, all students and personnel of the University Simón Bolívar, who received 4 h of training to evaluate emulsified sauces. 40 mL of the formulations were presented monadic in translucent plastic glasses with 60 ml of capacity, codified with three random digits, additionally, crackers and water were provided to clean the palate. The panelists were asked to try the sample using a spoon. To evaluate the spreadability the participants were told to spread at least 2/3 of the sample supplied in a 6 x 6 cm square of white bread. The test was performed in a suitable room with booths for sensory evaluation. Four samples were evaluated per session, using a complete balanced round session. Additional to the appropriate samples in the experimental design, the commercial products “garlic mayonnaise” (Hellmans, Chile), “Ajonesa” (Chovi, SLU, Spain) were evaluated.

To qualify the intensity of these attributes: color, oil smell, garlic smell, oil flavor, garlic flavor, consistency in the mouth, mouth coating and spreadability, the non structured scale of 10 cm with the definitions was used, and it is presented on table 2. The evaluated descriptors were obtained from the research performed by Arancibia *et al.* (2011).

Para calificar la intensidad de los atributos: color, olor a aceite, olor a ajo, sabor a aceite, sabor a ajo, consistencia en boca, recubrimiento de boca y untabilidad, se utilizó una escala no estructurada de 10cm con los anclajes y definiciones que se muestran en el cuadro 2. Los descriptores evaluados se obtuvieron del estudio realizado por Arancibia *et al.* (2011).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a los datos de intensidad de los atributos de las fórmulas. Se aplicó la prueba de Tukey para establecer diferencias significativas a $P \leq 0,05$. Adicionalmente, se realizó un análisis de componentes principales con la media de las intensidades de los atributos evaluados por el panel semientrenado utilizando el software Xlstat para Microsoft Excel 2010 (Addinsoft, Paris, France).

Prueba de consumidores

Las formulaciones seleccionadas fueron evaluadas por potenciales consumidores. Para ello, se realizó una prueba de aceptabilidad global con 100 personas de edades comprendidas entre 20 y 55 años, usando una escala hedónica estructurada de nueve (9) puntos con anclajes extremos “Me disgusta muchísimo”, “Me gusta muchísimo” y anclaje central “Me es indiferente”. Las muestras fueron evaluadas en las mismas condiciones que lo hizo el panel semientrenado. Un análisis de varianza (ANOVA) fue realizado a los resultados de aceptabilidad. Se aplicó la prueba de Tukey para establecer diferencias significativas a $P \leq 0,05$.

Determinación de vida útil

Se estudió la vida útil, de muestras envasadas en recipientes de vidrio transparente, seleccionando como va-

Statistical analysis

A variance analysis (ANOVA) was done to the intensity data of the attributes of the formulations. The Tukey test was applied to establish significant differences at $P \leq 0.05$. Additionally, an analysis of main components was performed with the average of the attribute intensities evaluated by the semi-trained panel using the software Xlstat for Microsoft Excel 2010 (Addinsoft, Paris, France).

Consumers test

The selected formulations were evaluated by potential consumers. To do this, a test of global acceptance was performed with 100 people aging from 20 to 55 years, using a structured hedonic scale of nine (9) points with anchors ends “I am very disappointed”, “I love it” and center anchor “It is indifferent”. The samples were evaluated in the same conditions as the semi-trained panel. A variance analysis (ANOVA) was carried out to the acceptability results. The Tukey test was applied to establish significant differences at $P \leq 0.05$.

Determination of the useful life

The useful life of samples packed in clear glass containers was studied, selecting as the response variable the peroxide index, given that this is directly related to the musty taste of products such as mayonnaise.

The life study was conducted for 100 days with storage temperatures of 20°C, 35°C and 45°C. The index value of peroxides was determined according to the official method 965 33 (AOAC, 1990), performing the removal of grease as indicated by Garcia and Molina (2008), every 10 days during the storage time.

Cuadro 2. Definición de atributos y anclajes en la escala utilizada en la evaluación sensorial por panel semientrenado.

Table 2. Definition of attributes and anchorages in the scale used for the sensorial evaluation by hands of the semi-trained panel.

Descriptor	Términos de anclaje	Definición
Color	Blanco – Amarillento	Magnitud del color percibido
Olor a aceite	Débil – Intenso	Olor asociado a aceite de maíz
Olor a ajo	Débil – Intenso	Olor asociado con ajo
Sabor a aceite	Débil – Intenso	Flavor asociado a aceite de maíz
Sabor a ajo	Débil – Intenso	Flavor asociado a ajo
Consistencia en boca	Ligera – Espesa	Propiedades mecánicas percibidas cuando se comprime el producto entre la lengua y el paladar
Recubrimiento de boca	No percibida – Intensa	Sensación en boca una vez que el producto ha sido tragado, que consiste en la percepción de una capa delgada de grasa que cubre el paladar
Untabilidad	Poco untable – Muy untable	Facilidad para untar o esparcir el producto usando la cara convexa de una cucharilla en una galleta

riable de respuesta el índice de peróxidos, dado que éste se encuentra relacionado directamente con el sabor rancio de productos como mayonesas.

El estudio de vida útil se realizó durante 100 días, con temperaturas de almacenamiento de 20°C, 35°C y 45°C. El valor del índice de peróxidos se determinó según el método oficial 965 33 (AOAC, 1990), realizando la extracción de grasa tal como lo indica García y Molina (2008), cada 10 días durante el tiempo de almacenamiento.

Para la estimación de los valores puntuales de vida útil a las temperaturas 20°C, 35°C y 45°C, las emulsiones fueron evaluadas por el panel semientrenado, utilizando una escala estructurada de nueve puntos, con anclajes extremos de “No apto para consumo”, “Muy apto para consumo” y anclaje central “Apto para consumo”, el valor de índice de peróxidos en el cual el producto ya no cumplía las condiciones para consumo se estableció cuando el promedio de la evaluación sensorial fue menor a cuatro (4) puntos.

En la estimación de la vida útil de las emulsiones preparadas se asumió que el deterioro de los alimentos ocurre siguiendo una reacción de orden cero (Singh y Heldman 1998).

Se determinó la energía de activación (E_a) de la reacción y a partir del tiempo de vida útil calculada para cada temperatura estudiada y se determinó la ecuación general de vida útil de las emulsiones.

Resultados y discusión

Estabilidad de emulsión

En el cuadro 3 se muestran los valores de estabilidad de emulsión de

For the estimation of the punctual values of useful life to the temperatures 20°C, 35°C and 45°C, the emulsions were evaluated by the semi-trained panel using a structured scale of nine points with extreme anchoring of “not suitably for consumption”, “very suitably for consumption” and central anchoring “suitable for consumption”, the index value of peroxides in which the product was not already fulfilling the conditions for consumption was established when the average of the sensory evaluation was less to four (4) points.

In the estimation of the useful life of the emulsions prepared it was assumed that the deterioration of the food occurs following a zero order reaction (Singh and Heldman 1998).

The activation energy (E_a) of the reaction was determined and after the useful life calculated for each of the temperature studied, and it was determined the general equation of the useful life of the emulsions.

Results and discussion

Emulsion stability

Table 3 shows the values of the emulsion stability of the formulations, it is observed that the stability of emulsion increased when increasing the protein content and when applying the bioprocessing. Table 4 shows the main effects and side effects of the factors (concentrate, corn oil, guar gum and xanthan gum) on the stability of the emulsion. For the emulsions formulated with protein concentrates coming from grains without bioprocessing the concentrated factors, guar gum and xanthan gum

Cuadro 3. Estabilidad de emulsiones.**Table 3. Stability of the emulsions.**

Fórmula utilizando concentrados de <i>P. vulgaris</i> sin fermentar	Estabilidad de emulsión (%)	Fórmula utilizando concentrados de <i>P. vulgaris</i> fermentado	Estabilidad de emulsión (%)
1SF	27,8± 0,5 ^a	1F	37,1 ± 0,6 ^a
2SF	64,4 ± 0,7 ^f	2F	78,4 ± 0,7 ^d
3SF	30,3 ± 0,8 ^b	3F	37,3 ± 0,8 ^a
4SF	57,5 ± 0,7 ^e	4F	76,2 ± 0,6 ^d
5SF	34,2 ± 0,6 ^c	5F	43,8 ± 0,7 ^b
6SF	66,2 ± 0,5 ^f	6F	83,6 ± 0,5 ^e
7SF	37,2 ± 0,7 ^c	7F	44,8 ± 0,6 ^b
8SF	68,5 ± 0,5	8F	84,5 ± 0,7 ^e
9SF	34,7 ± 0,6 ^c	9F	45,5 ± 0,4 ^b
10SF	66,4 ± 0,7 ^f	10F	83,8 ± 0,5 ^e
11SF	37,8 ± 0,4 ^c	11F	45,2 ± 0,4 ^b
12SF	64,0 ± 0,7 ^f	12F	80,7 ± 0,5 ^e
13SF	49,1 ± 0,6 ^d	13F	63,1 ± 0,7 ^c
14SF	73,7 ± 0,6 ^g	14F	97,3 ± 0,8 ^f
15SF	48,8 ± 0,7 ^d	15F	65,7 ± 0,5 ^c
16SF	77,6 ± 0,6 ^h	16F	97,1 ± 0,6 ^f

Diferentes letras en una misma columna implican diferencias significativas prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

las formulaciones, se observa que la estabilidad de emulsión fue mayor al incrementar el contenido de proteína y al aplicar bioprocesamiento. En el cuadro 4 se muestran los efectos principales y de segundo orden de los factores (concentrado, aceite de maíz, goma guar y goma xantan) sobre la estabilidad de emulsión. Para las emulsiones formuladas con concentrados proteicos provenientes de granos sin bioprocesamiento los factores concentrado, goma guar y goma xantan presentaron un efecto significativamente positivo ($P \leq 0,05$) sobre la estabilidad de la salsa.

presented a significantly positive effect ($P \leq 0.05$) on the stability of the sauce.

The same behavior was observed for the emulsions formulated with concentrated extracted from fermented grains. In addition, the interactions concentrated-guar gum and concentrated-xanthan gum, were statistically significant ($P \leq 0.05$).

In this research it was observed that the emulsion stability increased when increasing the concentration of the protein. According to Hung and Zayas (1991), the factors that affect the stability of emulsion include the type and concentration of the emulsifying

Cuadro 4. Efectos estimados de los factores sobre la estabilidad de emulsión.**Table 4. Estimated effects of the factors on the emulsion stability.**

	Fórmula utilizando concentrados de <i>P. vulgaris</i> sin fermentar	Fórmula utilizando concentrados de <i>P. vulgaris</i> fermentado
Promedio	52,3 ± 0,6	66,1 ± 0,2
A:Concentrado	29,6 ± 1,2*	37,4 ± 0,5*
B:Aceite	0,6 ± 1,2	-0,1 ± 0,5
C:Goma guar	9,1 ± 1,2*	11,9 ± 0,5*
D:Goma xantan	8,6 ± 1,2*	11,6 ± 0,5*
AB	-1,4 ± 1,2	0,9 ± 0,5
AC	-0,4 ± 1,2	-0,9 ± 0,5
AD	-1,9 ± 1,2	-2,6 ± 0,5*
BC	1,6 ± 1,2	1,1 ± 0,5
BD	0,6 ± 1,2	-0,1 ± 0,5
CD	2,6 ± 1,2	5,4 ± 0,5*

*Indica efecto significativo a $P \leq 0.05$

El mismo comportamiento fue observado para las emulsiones formuladas con concentrado extraído de granos fermentados. Adicionalmente, las interacciones concentrado-goma guar y concentrado-goma xantan, fueron estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).

En este estudio se observó que la estabilidad de emulsión aumentó al incrementar la concentración de la proteína. Según Hung y Zayas (1991), los factores que afectan la estabilidad de emulsión incluyen al tipo y concentración de agente emulsionante, el tamaño de gota, la carga neta de la fase dispersa, la tensión interfacial, la fuerza iónica, la viscosidad, el efecto de la gravedad, la temperatura, la proporción de fase continua y dispersa y la estructura del agente

agent, the droplet size, the net charge of the dispersed phase, the interfacial tension, ionic strength, viscosity, the gravity effect, and temperature, the proportion of the continuous and disperse phase and the structure of the emulsifying agent. The greater stability of the emulsions to the greater concentration of protein can be explained by the increment probability of the protein absorption in the interface and to the increase of the viscosity of the continuous phase.

The formulations containing concentrate extracted from fermented grains presented a higher stability of emulsion ($P \leq 0.05$), which could be attributed to the distortion caused by partial fermentation. This might cause an increment of the molecular flexibility of the protein, favoring the

emulsificante. La mayor estabilidad de las emulsiones a mayor concentración de proteína, puede explicarse por el aumento de probabilidad de absorción de la proteína en la interfase y al incremento de la viscosidad de la fase continua.

Las formulaciones que contenían concentrado extraído de granos fermentados presentaron mayor estabilidad de emulsión ($P \leq 0,05$), lo cual pudiera ser atribuido a la desnaturalización parcial causada por la fermentación. Lo cual posiblemente provoca aumento de la flexibilidad molecular de la proteína, favoreciendo la rápida absorción y la formación de gotas de la fase dispersa con diámetros significativamente menores a los producidos con concentrados proteicos obtenidos de granos sin fermentar. Con ello se evita la floculación, coalescencia y cremado. Lo anterior pudiera explicar el incremento significativo de la estabilidad de la emulsión.

Para ambos tipos de salsa emulsionada la adición de gomas aumentó significativamente la estabilidad de las emulsiones, esto puede ser explicado considerando que las gomas aumentan la viscosidad de la fase continua de la emulsión, impidiendo el movimiento de las gotas dispersas y, por lo tanto, disminuye la probabilidad de que dos gotas se acerquen y se agreguen e incluso se fusionen (Aranberri *et al.*, 2006). Lo anterior es consistente con lo encontrado por Makri y Doxastakis (2006) quienes estudiaron la estabilidad de emulsiones preparadas con aislados proteicos de *Phaseolus vulgaris* y *Phaseolus coccineus* estabilizadas con goma xantán y goma guar.

rapid absorption and the formation of droplets of the dispersed phase with significantly lower diameters than those produced with concentrated protein obtained from grains without fermenting. This avoids the flocculation, coalescence and cremated. The latter could explain the significant increase in the stability of the emulsion.

For both types of emulsified sauce the addition of gums increased significantly the stability of the emulsions, this can be explained considering that the gums increase the viscosity of the continuous phase of the emulsion, impeding the movement of the drops dispersed, and; therefore, decreases the probability that two drops come forward and are added and even merge (Aranberri *et al.*, 2006). This is consistent with Nea Makri and Doxastakis (2006) who studied the stability of emulsions prepared with isolated protein from *Phaseolus vulgaris* and *Phaseolus coccineus* stabilized with xanthan gum and guar gum.

It should be noted that guar gum has the ability to stabilize emulsions when preventing the separation of phases, even when it is not an emulsifying agent. When used combined with other gums, such as xanthan gum, it can encourage the formation of emulsions (Mudgil *et al.*, 2011).

On the other side, xanthan gum is a non-absorbable biopolymer widely used by its viscosity properties. In certain concentrations it has been reported that xanthan gum increases the tendency to clarify the emulsions (Ye *et al.*, 2004). However, Cao *et al.*

Es de hacer notar, que la goma guar tiene la capacidad de estabilizar emulsiones, al prevenir la separación de fases, aun cuando no es un agente emulsificante. Al ser utilizada en combinación con otras gomas, tal como la goma xantan, puede favorecer la formación de emulsiones (Mudgil *et al.*, 2011).

Por su parte, la goma xantan es un biopolimero no-adsorbible ampliamente utilizado por sus propiedades de viscosidad. En ciertas concentraciones se ha reportado que la goma xantan aumenta la tendencia a flocular de las emulsiones (Ye *et al.*, 2004). Sin embargo, Cao *et al.* (1990) señalan que la goma xantan tiene la capacidad de estabilizar emulsiones al conferir altas viscosidades aparentes a la fase continua, generando fuertes redes en la misma, tal y como se corroboró en este estudio.

Según Harrison y Cunningham (1985) y Rosén y Nilson (2011), las emulsiones tipo mayonesa comerciales de alta calidad tienen estabilidad de emulsión superior a 70%, con lo cual se garantiza su estabilidad durante el almacenamiento. Con base en esta característica se seleccionaron las formulas 14SF, 16SF, 2F, 4F, 6F, 8F, 10F, 12F, 14F y 16F para ser evaluadas por el panel semientrenado.

Evaluación sensorial

Los resultados de la evaluación sensorial por panel semientrenado se muestran en el cuadro 5. El olor a ajo fue percibido con mayor intensidad ($P \leq 0,05$) en las emulsiones con menor contenido de aceite (2F, 6F, 10F, 14F, 14SF), lo que indica que el contenido de grasa afecta la liberación de aromas. Según Arancibia *et al.* (2011), la lipofiliidad del aroma y el contenido

(1990) note that xanthan gum has the ability to stabilize emulsions when conferring high viscosities apparent to the continuous phase, generating strong bonds on it, as confirmed in this study.

According to Harrison and Cunningham (1985) and Rosén and Nilson (2011), the emulsions such as mayonnaise, have an emulsion stability higher than 70%, which guarantees its stability during storing. Based on this feature, the formulas 14SF, 16SF, 2F, 4F, 6F, 8F, 10F, 12F, 14F and 16F were selected to be evaluated by the semi-trained panel.

Sensorial evaluation

The results of the sensory evaluation by the semi-trained panel are shown on table 5. The garlic smell was perceived with the greatest intensity ($P \leq 0.05$) in the emulsions with lower oil content (2F, 6F, 10F, 14F, 14SF), which indicates that the fat content affects the release of flavors. According to Arancibia *et al.* (2011), the lipophilicity of the aroma and the fat content affect the release of the aroma in the emulsions. Although, the management agents (starches, CMC, gums) do not affect the release of flavors, according to the structure that form these agents: management solution (polymeric or globular), attributes of mouth feeling and the release of the stimuli to the recipients are modified. The formulas 4F, 8F, 12F, 16F, 16SF, as expected when having the highest oil content, were evaluated with the greatest intensity of oil smell ($P \leq 0.05$).

The attributes of texture were significantly affected by the oil content and the type of the array, the samples

Cuadro 5. Evaluación sensorial por panel semientrenado.
Table 5. Sensorial effect by the semi-trained panel.

Muestra	Color	Olor a aceite	Olor a ajo	Sabor a aceite	Sabor a ajo	Consistencia en boca	Recubrimiento de boca	Untabilidad
14SF	0,5±0,2 ^b	1,1±0,1 ^a	7,8±0,3 ^g	0,8±0,1 ^a	5,5±0,3 ^f	8,6±0,1 ^g	4,6±0,3 ^c	6,8±0,2 ^c
16SF	0,3±0,3 ^a	6,3±0,3 ^c	4,1±0,2 ^b	5,4±0,1 ^d	2,9±0,3 ^b	9,7±0,2 ^h	5,7±0,3 ^e	9,1±0,2 ^f
2F	5,0±0,3 ^e	3,3±0,1 ^b	9,3±0,2 ⁱ	2,8±0,3 ^b	6,5±0,3 ^h	1,2±0,2 ^a	0,5±0,1 ^a	0,2±0,3 ^a
4F	7,3±0,3 ^f	8,5±0,2 ^f	5,4±0,2 ^d	7,2±0,2 ^g	3,8±0,3 ^d	2,5±0,2 ^b	1,4±0,1 ^b	0,3±0,3 ^a
6F	1,0±0,1 ^c	1,2±0,1 ^a	8,7±0,1 ^h	1,0±0,3 ^a	6,1±0,3 ^g	2,9±0,1 ^c	4,4±0,3 ^c	5,5±0,3 ^b
8F	0,5±0,1 ^b	7,6±0,3 ^e	5,1±0,2 ^c	6,5±0,3 ^f	3,6±0,3 ^{c,d}	3,7±0,1 ^d	5,3±0,3 ^d	5,3±0,3 ^b
10F	1,3±0,3 ^c	1,3±0,1 ^a	8,5±0,3 ^h	1,1±0,2 ^a	5,9±0,2 ^g	2,7±0,2 ^{b,c}	5,5±0,3 ^e	5,5±0,3 ^b
12F	3,2±0,2 ^d	7,0±0,2 ^d	4,7±0,3 ^c	5,9±0,3 ^e	3,3±0,1 ^{b,c}	3,1±0,1 ^c	6,1±0,1 ^f	5,2±0,3 ^b
14F	0,5±0,1 ^b	0,9±0,1 ^a	7,3±0,3 ^f	0,8±0,3 ^a	5,1±0,2 ^e	8,3±0,2 ^{e,f}	5,3±0,2 ^d	7,7±0,2 ^e
16F	0,2±0,1 ^a	6,5±0,2 ^c	3,2±0,2 ^a	5,5±0,3 ^d	2,2±0,2 ^a	9,8±0,2 ^h	6,2±0,2 ^f	9,7±0,3 ^f
Ajonese	0,2±0,1 ^a	1,0±0,1 ^a	7,0±0,3 ^e	4,8±0,1 ^c	5,8±0,3 ^{g,h}	8,0±0,2 ^e	5,0±0,2 ^d	7,0±0,3 ^c
Mayonesa								
al ajo	0,3±0,1 ^a	1,2±0,2 ^a	7,1±0,1 ^{e,f}	4,6±0,2 ^c	5,9±0,1 ^g	8,2±0,1 ^{e,f}	5,6±0,2 ^e	7,4±0,3 ^d

Diferentes letras en un columna implican diferencias significativas prueba de Tukey (P≤0,05)

de grasa afectan la liberación de aroma en emulsiones. Aunque, los agentes texturizantes (almidones, CMC, gomas) no afectan la liberación de aromas, según la estructura que forman estos agentes texturizantes en solución (polimérico o globular) se modifican los atributos de sensación bucal y la liberación de los estímulos hacia los receptores. Las formulas 4F, 8F, 12F, 16F, 16SF, tal como se esperaba al tener mayor contenido de aceite, fueron evaluadas con la mayor intensidad del olor a aceite ($P \leq 0,05$).

Los atributos de textura fueron afectados significativamente por el contenido de aceite y el tipo de matriz, las muestras con alta concentración de gomas fueron evaluadas con valores significativamente mayores ($P \leq 0,05$) de consistencia, untabilidad y recubrimiento en boca, lo cual podría ser explicado considerando que las muestras que contienen gomas fluyen más lentamente en la superficie oral.

La figura 1 muestra el análisis de componentes principales obtenido de las intensidades de los atributos evaluados por el panel semientrenado. Los dos primeros componentes explicaron el 47,61% y 41,85% de la varianza experimental, respectivamente. El primer componente principal (F1), se correlacionó positivamente con los atributos de olor a ajo (coeficiente de correlación 0,840) y sabor a ajo (coeficiente de correlación 0,772). Adicionalmente, se correlacionó negativamente con los atributos de consistencia en boca (coeficiente de correlación -0,733), recubrimiento de boca (coeficiente de correlación -0,797) y untabilidad (coeficiente de correlación -0,825). En este componente las muestras fueron separadas

with high concentration of gums were evaluated with significantly higher values ($P \leq 0.05$) of consistency, spreadability and coating in the mouth, which could be explained considering that samples containing gums flow more slowly in the oral surface.

Figure 1 shows the main component analysis obtained from the intensities of the attributes evaluated by the semi-trained panel. The first two components explained 47.61% and 41.85% of the experimental variance, respectively. The first main component (F1), was positively correlated to the attributes of the garlic smell (correlation coefficient 0.840) and garlic flavor (correlation coefficient 0.772). In addition, it was negatively correlated with the consistency attributes in the mouth (correlation coefficient -0.733), lining of the mouth (correlation coefficient -0.797) and spreadability (correlation coefficient -0.825). In this component, samples were mainly separated depending on the intensity of the garlic smell, the formulas 2F, 6F, 10F, 14SF were positive in this component.

The second main component was positively correlated with the color attributes (correlation coefficient 0.748), oil smells (correlation coefficient 0.918) and oil flavor (correlation coefficient 0.797). In this component, samples were separated according to the smell of oil, and the formulas with high levels of corn oil and concentrated (4F, 8F, 12F, 16F and 16SF) were positive in the second component.

Given that the formulas 14SF and 14F showed texture and intensity characteristics of garlic flavor and

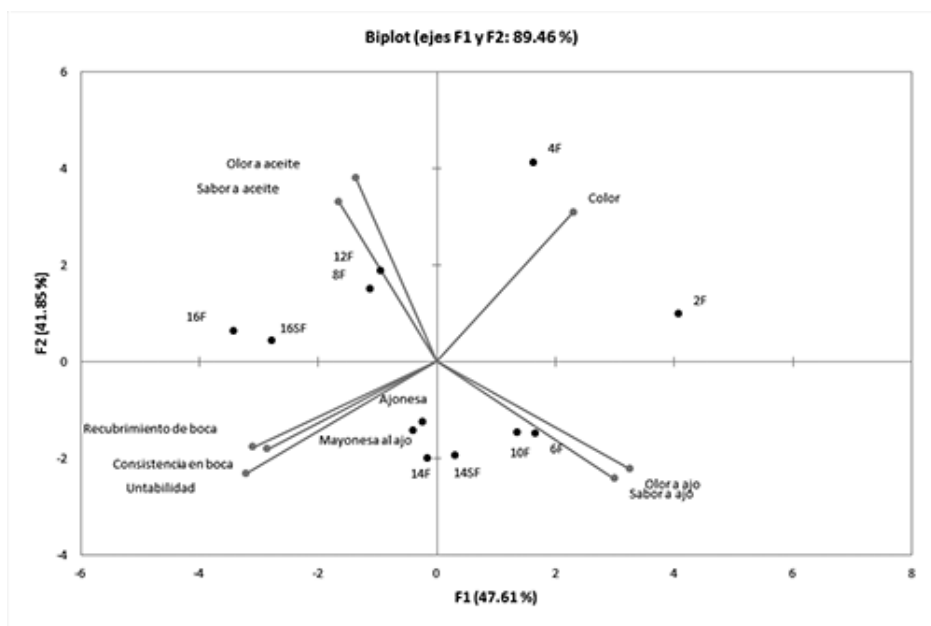


Figura 1. Análisis de componentes principales de la matriz de medias de la evaluación de intensidad por panel semientrenado.

Figure 1. Main component analysis of the mean matrix of the intensity evaluation by hands of the semi-trained panel.

principalmente según la intensidad de olor ajo, las formulas 2F, 6F, 10F, 14SF se ubicaron en la región positiva de este componente.

El segundo componente principal se correlacionó positivamente con los atributos de color (coeficiente de correlación 0,748), olor a aceite (coeficiente de correlación 0,918) y sabor a aceite (coeficiente de correlación 0,797). En este componente las muestras se separaron según el olor a aceite, así las formulas con niveles altos de aceite de maíz y concentrado (4F, 8F, 12F, 16F y 16SF) se ubicaron en la región positiva del segundo componente.

Dado que las formulas 14SF y 14F presentaron características de

smell statistically similar to the trademarks studied (table 5), the same were chosen to be evaluated by consumers.

In the evaluation by hands of the consumers an acceptability of 6.2 ± 1.6 was obtained for the formula 14SF and 6.8 ± 1.1 for the formula 14F. Statistically these values showed no significant differences ($P > 0.05$), therefore to the formulations 14SF and 14F the useful time was determined.

Useful life

In figure 2 are shown the results of the peroxide index in function of the time and the linear regressions for each temperature studied. On the basis of the k constant obtained from the

textura e intensidad de sabor y olor a ajo similares estadísticamente a las de las marcas comerciales estudiadas (cuadro 5), las mismas fueron escogidas para ser evaluadas por consumidores.

En la evaluación por parte de los consumidores se obtuvo una aceptabilidad de $6,2 \pm 1,6$ para la fórmula 14SF y de $6,8 \pm 1,1$ para la fórmula 14F. Estadísticamente estos valores no presentaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$), por lo tanto a las formulaciones 14SF y 14F se les determinó el tiempo de vida útil.

Vida útil

En la figura 2 se observan los resultados del índice de peróxidos en función del tiempo y las regresiones lineales para cada temperatura estudiada. A partir de las constantes k , obtenidas de la pendiente de los ajustes lineales, se aplicó el modelo de Arrhenius y se obtuvieron las energías de activación que se muestran en el cuadro 6.

Saguy y Karel (1980), sugirieron que se requiere una energía de activación para la oxidación de lípidos entre 41842 J/mol y 104605 J/mol , tal como se observa las energías de activación obtenidas en esta investigación, se encuentran en este intervalo.

La energía de activación es una medida de lo rápido que ocurre la reacción. La menor energía de activación de la peroxidación de los lípidos en la emulsión preparada con concentrado obtenido de granos fermentados, puede ser atribuido a la capacidad de atrapamiento de radicales libres de los concentrados proteicos de *Phaseolus vulgaris* fermentados reportado por Pérez y Granito (2012).

slope of the linear adjustments, the Arrhenius model was applied and the activation energies were obtained, which are presented on table 6.

Saguy and Karel (1980), suggested that it is required an activation energy for the oxidation of lipids from 41842 J/mol and 104605 J/mol , as observed, the activation energies obtained in this research are located in this interval.

The activation energy measures the velocity of the reaction. The lower activation energy of the lipid peroxidation in the emulsion concentrate obtained from fermented grains, can be attributed to the ability for trapping free radicals of protein concentrates of fermented *Phaseolus vulgaris* reported by Perez and granite (2012).

Moure *et al.* (2006) indicate that the antioxidant capacity of hydrolyzed proteins from soybeans is the result of cooperative effects, which include the ability to trap free radicals, to chelate metals and ion, to be quencher of oxygen, hydrogen donor and the possibility of preventing the penetration of the oxidation initiators of lipids to form a membrane around the drops of oil. Hu *et al.* (2004) showed that extracts of fermented soy protein showed greater antioxidant activity of unsaturated fatty acids compared with the activity of vitamin C and Trolox. This antioxidant capacity was attributed to the ability of the extract to be acceptor of free radicals.

According to the appreciation of the semi trained panel the highest tolerable value of peroxides in the formulas 14SF and 14F is $6.3 \text{ meqO}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ and $7.4 \text{ meqO}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively. Using this

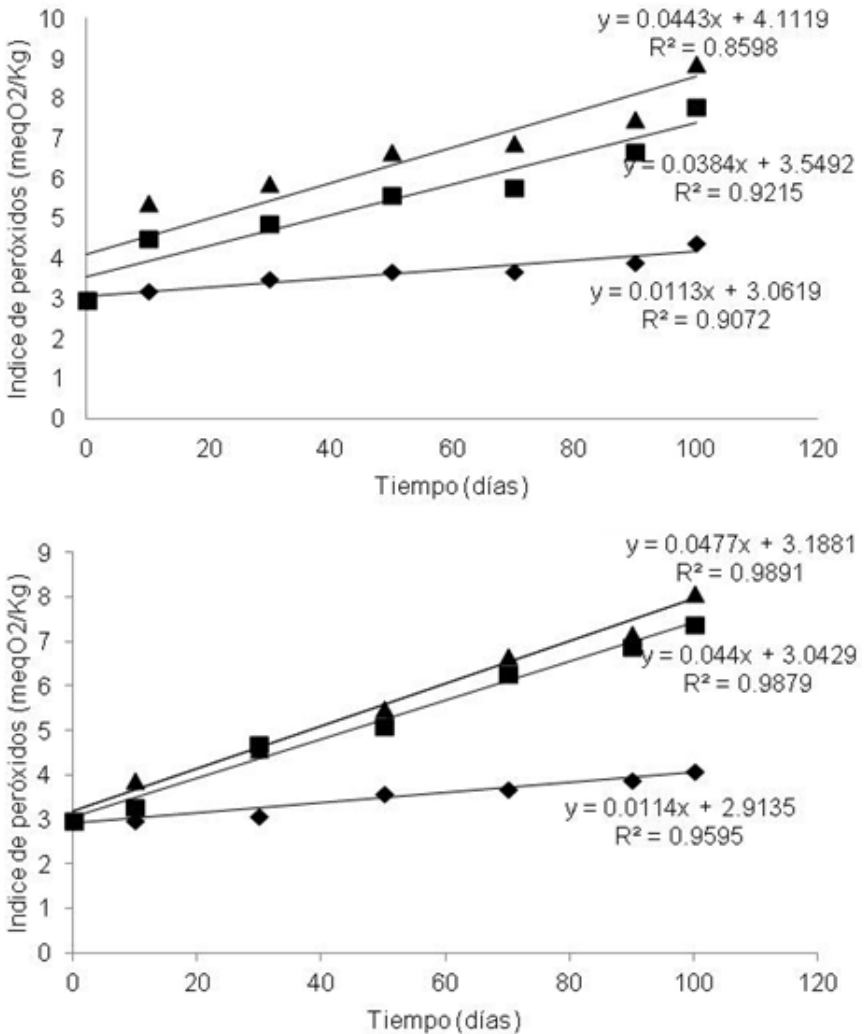


Figura 2. Índice de peróxidos en función del tiempo. 20°C, n35°C, p45°C. a) Formula 14, b) Formula 14F.

Figure 2. Peroxide index in function of the time . 20°C, n35°C, p45°C. a) Formulas 14, b) Formulas 14F.

Moure *et al.*(2006) señalan que la capacidad antioxidante de proteínas hidrolizadas de soya es consecuencia de efectos cooperativos, que incluyen la capacidad de atrapar radicales li-

information useful life of the studied formulations was calculated, as presented on table 6. It was noted that the useful life predicted for the formulation 14F is greater than the

Cuadro 6. Energía de activación de la peroxidación de lípidos y vida útil de las emulsiones.**Table 6. Peroxidation of the activation energy of lipids and useful life of the emulsions.**

Formula	Ea (J/mol)	Vida útil (días)20°C	Vida útil (días)35°C	Vida útil (días)45°C
14SF	44160,80±23,70 ^a	286,6±5,3 ^a	71,6±4,8 ^a	49,4±5,2 ^a
14F	46601,11±25,24 ^b	393,6±6,2 ^b	99,0±5, ^b	88,3±6,1 ^b

Diferentes letras en un columna implican diferencias significativas prueba de Tukey (P≤0.05).

bres, ser queladoras de metales e iones, ser *quencher* de oxígeno, donadoras de hidrogeno y la posibilidad de prevenir la penetración de los iniciadores de oxidación de lípidos al formar una membrana alrededor de las gotas de aceite. Hu *et al.* (2004) demostraron que extractos de proteína de soya fermentada presentaban mayor actividad antioxidante de ácidos grasos insaturados comparado con la actividad de la vitamina C y el Trolox. Dicha capacidad antioxidante se atribuyó a la capacidad del extracto de ser aceptor de radicales libres.

Según la apreciación del panel semientrenado el mayor valor de peróxidos tolerable en las formulas 14SF y 14F es de 6,3 meqO₂.kg⁻¹ y 7,4 meqO₂.kg⁻¹, respectivamente. Utilizando está información se calcularon los tiempos de vida útil de las formulaciones estudiadas, tal como se muestra en el cuadro 6. Se observó que la vida útil predicha para la formulación 14F es mayor que la vida útil de la formulación 14, lo cual puede también ser atribuido a la capacidad de atrapamiento de radicales libres que exhiben los concentrados proteicos obtenidos de granos fermentados.

useful life of the formulation 14, which can also be attributed to the ability for trapping free radicals that exhibit the concentrated protein obtained from fermented grains.

The general equations to estimate the useful life of the emulsions are $useful\ life=10^{(2.9798-0.0297T)}$ for the formula 14 and $useful\ life=10^{(3.1234-0.0281T)}$ for the formula 14F.

Conclusions

The use of protein concentrates of *Phaseolus vulgaris* as ingredients in the formulation of emulsified sauces is technically possible, obtaining products with high emulsion stability and high acceptability by the consumers. On the other hand, the stability of the emulsions formulated with concentrate extracted from fermented grain was greater than those made with concentrated protein obtained from unfermented grain, which is also attributed to a certain degree of distortion caused by the bioprocess, since it increases the absorption probability of the protein in the interface and increases the viscosity of the continuous phase.

Las ecuaciones generales para estimar la vida útil de las emulsiones son: vida útil=10^(2.9798-0.0297T) para la fórmula 14 y vida útil=10^(3.1234-0.0281T) para la fórmula 14F.

Conclusiones

El uso de concentrados proteicos de *Phaseolus vulgaris* como ingredientes en la formulación de salsas emulsionadas es técnicamente posible, obteniéndose productos con alta estabilidad de emulsión y alta aceptabilidad por parte de los consumidores. Por otra parte, la estabilidad de las emulsiones formuladas con concentrado extraído de grano fermentado fue mayor que las formuladas con concentrados proteicos obtenidos a partir de granos sin fermentar, lo cual también es atribuible al grado de desnaturalización causado por el bioproceso, dado que aumenta la probabilidad de absorción de la proteína en la interfase e incrementa la viscosidad de la fase continua.

Para ambos tipos de salsa emulsionada la adición de gomas aumentó significativamente la estabilidad de las emulsiones, debido a que éstas modifican de la viscosidad de la fase continua y con ello se impide el movimiento de las gotas dispersas.

La vida útil de los productos desarrollados aumenta cuando se utilizan concentrados proteicos provenientes de granos sometidos a fermentación natural, debido a que probablemente el bioprocésamiento aumenta la capacidad de atrapamiento de radicales libres de éstos

For both types of emulsified sauce the addition of gums significantly increased the stability of the emulsions, due to the fact that these change the viscosity of the continuous phase, preventing the movement of the droplets dispersed.

The useful life of the developed products increases when using protein concentrates from grains subjected to natural fermentation, maybe because the bioprocessing increases the capacity for trapping the free radicals of these.

End of english version

Literatura citada

- Adebowale, K. y O. Lawal. 2003. Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrates. *Food Chem.* 83(2):237-246.
- AOAC. Methods of Analysis [CD-ROM]. Washington (DC): Association of Official Analytical Chemists; 1990. 1 CD-ROM: sound, color, 4 ¾ in.
- Aranberri, I., B. Binks, J. Clint y P. Fletcher. 2006. Elaboracion y caracterización de emulsiones estabilizadas por polimeros y agentes tensioactivos. *Rev. Iberoam. Polím.* 7(3): 211-231.
- Arancibia C., L. Jublot, E. Costell y S. Bayarri. 2011. Flavor release and sensory characteristics of o/w emulsions. Influence of composition, microstructure and rheological behavior. *Food Res. Int.* 44: 1632-1641.
- Cao, Y., E. Dickinson y J. Wedlock. 1990. Creaming and flocculation in

- emulsions containing polysaccharides. *Food Hydrocolloid*. 4: 185-195.
- Covenin 90:1994. 1994. Mayonesa. Norma Venezolana .
- García, C. y M. Molina. 2008. Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. *Ingeniería* 18(1,2): 57-64.
- Granito, M., J. Frías, R. Doblado, M. Guerra, M. Champy y C. Vidal-Valverde. 2002. Nutritional improvement of beans (*Phaseolus vulgaris*) by natural fermentation. *Eur. Food Res. Tech.* 214: 226-231.
- Harrison, L., F. Cunningham. 1985. Factors influencing the quality of mayonnaise. *J. Food Qual.* 8: 1-20.
- Hu, C., C. Hsiao, S. Huang, S. Fu , C. Lai, T. Hong. *et al.* 2004. Antioxidant activity of fermented soybean extract. *J. Agric. Food Chem.* 52(18):5735-5739.
- Hung, S., J. Zayas. 1991. Emulsifying capacity and emulsion stability of milk proteins and corn germ protein flour. *J. Food Sci.* 56(5): 1216-1218.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2008. Segundo Informe Nacional sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/venezuela.pdf>, recuperado el 10 de Agosto de 2014.
- Laca, A., M. Sáenz y M. Díaz. 2010. Rheological properties, stability and sensory evaluation of low cholesterol mayonnaises prepared using egg yolk granules as emulsifying agent. *J. Food Eng.* 97: 243-252.
- Liu, H., X. Xu y Sh. Guo. 2007. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT- Food Sci. Technol.* 40: 946-954.
- Lqari, H., J. Vioque, J. Pedroche y F. Millán. 2002. *Lupinus angustifolius* protein isolates: chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chem.* 76: 349-356.
- Makri, E. y G. Doxastakis. 2006. Study of emulsions stabilized with *Phaseolus vulgaris* or *Phaseolus coccineus* with the addition of arabic gum, locust bean gum and xanthan gum. *Food Hydrocolloid.* 20: 1141-1152.
- Moure A., H. Domínguez H., Parajó J. 2006. Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates. *Process Biochem.* 41: 447-456.
- Mudgil, D., S. Barak y B. Singh. 2011. Guar gum: processing, properties and food applications. A Review. *J. Food Sci. Technol.* 2: 1-10.
- Pérez, S. y M. Granito. 2012. Concentrados de *Cajanus cajanus* y *Phaseolus vulgaris* fermentados e hidrolizados: ingredientes funcionales para el desarrollo de alimentos. *Interciencia.* 37(6): 432-437.
- Rosén M. y L. Nilsson. 2011. Freeze-thaw stability of mayonnaise type oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloid.* 25:707-715
- Saguy, K. y Y. Karel. 1980. Modeling of quality deterioration during food processing and storage. *Food Technol.* 34 (2): 78-84.
- Singh, P. y D. Heldman. 1998. Introducción a la ingeniería de los alimentos. Segunda Edición. Acribia. Zaragoza 255p.
- Ye, A., T. Hemar y H. Singh. 2004. Enhancement of coalescence by xanthan addition to oil-in-water emulsions stabilized with extensively hydrolyzed whey protein. *Food Hydrocolloid.* 18: 737-746.