



a_w EL CONCEPTO DE ACTIVIDAD DE AGUA

El agua es, quizás, el factor individual que más influye en la alterabilidad de los alimentos, los productos farmacéuticos y cosméticos. El agua influye en el color, apariencia, olor, sabor, textura, gusto y vida útil de un alimento, ingrediente o aditivo; y se ha demostrado que productos con el mismo contenido de agua se alteran de forma distinta, por lo que se deduce que la cantidad de agua no es por sí sola una herramienta indicativa del deterioro.

De este hecho surge el concepto de actividad de agua (a_w), que indica la fracción del contenido de humedad total de un producto que está libre (no ligada químicamente), y en consecuencia, disponible para el crecimiento de microorganismos y para que se puedan llevar a cabo diversas reacciones químicas que afectan a su estabilidad.

La a_w se define como la relación entre la presión de vapor del agua en el alimento (P) respecto de la del agua pura (P_0):

$$a_w = P / P_0$$

Si este resultado se multiplica por 100, obtenemos la humedad relativa de la atmósfera en equilibrio con el alimento. Para realizar esta medida, el sistema debe estar en equilibrio y la temperatura definida.

La relación entre la a_w de un producto y su contenido de humedad a una temperatura determinada da lugar a la ISOTERMA. Las isotermas permiten predecir el intercambio de agua entre un producto y la atmósfera que lo rodea.

Si la a_w del producto es baja, éste tendrá un comportamiento higroscópico, mientras que para valores más altos de a_w , el producto tendrá un comportamiento más estable respecto a la humedad ambiental (Figura 1).

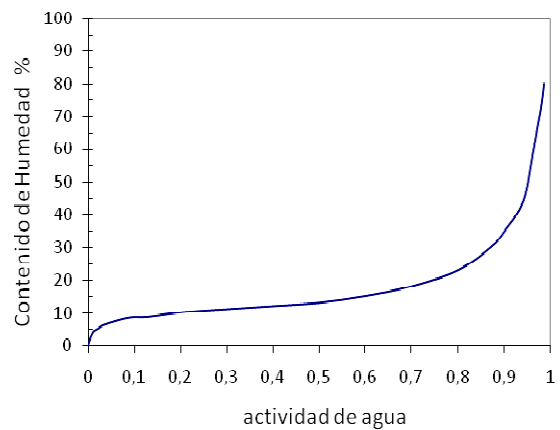


Figura 1. Isoterma de sorción de humedad

PROCESOS AFECTADOS POR LA a_w

Normalmente, el valor de la a_w de un producto condiciona (ver Figura 2):

- Procesos de alteración relacionados con el desarrollo de microorganismos
- Inestabilidad química y bioquímica
- Propiedades físicas
- Migración de humedad dentro de un producto

Desarrollo de microorganismos

La a_w es un factor crítico que determina la vida útil de los productos. Este parámetro establece el límite para el desarrollo de muchos microorganismos (Cuadro nº1), mientras que otros parámetros como temperatura, pH o contenido en azúcares, generalmente influyen en la velocidad de crecimiento.

La a_w más baja para el crecimiento de la mayoría de las bacterias que producen deterioro en alimentos está alrededor de 0,90. La a_w para el crecimiento de hongos y levaduras está próxima a 0,61.

El crecimiento de hongos micotoxigénicos se produce con valores de a_w cercanos a 0,78 (Figura 2).

Reacciones químicas y bioquímicas

El agua puede afectar la reactividad química a través de distintos mecanismos, actuando como solvente, reactivo, o afectando a la

movilidad de los reactivos debido a su influencia sobre la viscosidad del sistema.

La a_w influye en la oxidación de la grasa, el oscurecimiento no enzimático, la degradación de vitaminas, las reacciones enzimáticas, la desnaturalización de proteínas y la temperatura de gelatinización y retrogradación de almidones (Figura 2)

Propiedades físicas

La a_w también está relacionada con la textura de los alimentos. Los alimentos con una a_w elevada tienen una textura más jugosa, tierna y masticable. Cuando la a_w de estos productos disminuye, aparecen atributos de textura indeseables como dureza, sequedad y endurecimiento. En cambio, los alimentos con una a_w baja son crujientes y quebradizos; si su a_w aumenta, la textura cambia, produciéndose el reblandecimiento del producto (Figura 2).

La a_w también afecta a otras propiedades como la agrupación y aglutinación de productos en polvo y granulados.

Migración de humedad dentro de un producto

Las isoterms permiten predecir la influencia de las variaciones de la humedad relativa ambiental sobre la a_w final y el contenido de agua de un producto, y en consecuencia predecir su higroscopicidad o tendencia a la rehumectación.

Algunos alimentos tienen ingredientes con distintos valores de a_w , como los productos de repostería rellenos con chocolate, crema ... o los cereales con frutas deshidratadas, la migración de humedad entre los componentes provocará cambios en la textura, que en la mayoría de los casos no son deseables. La humedad migrará desde la región de a_w alta a la región de a_w más baja, así p.j: la humedad que migra desde una fruta deshidratada de a_w alta al cereal de menor a_w consiguiendo que la fruta se vuelva dura y seca mientras que el cereal se tornará blando.

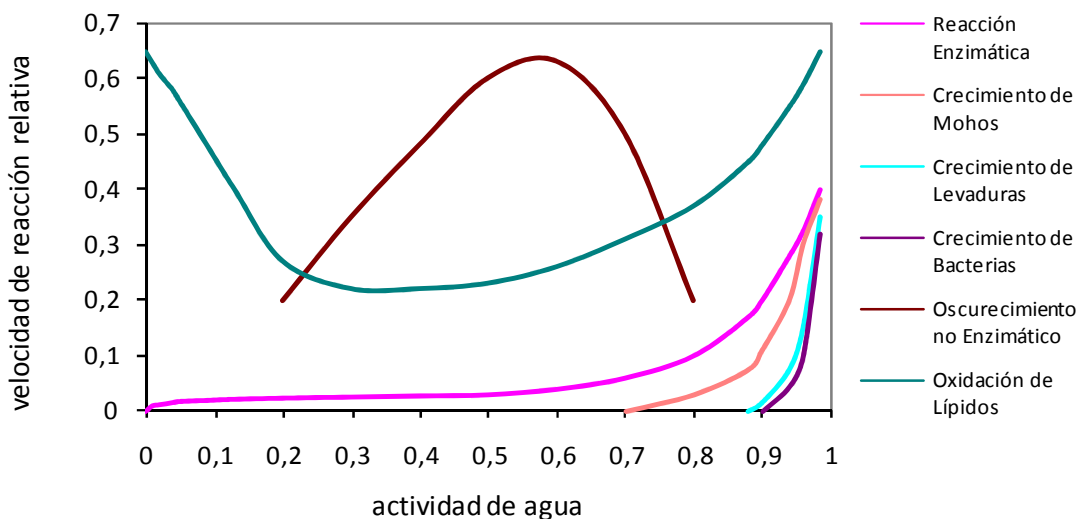


Figura 2. Procesos afectados por la actividad de agua (a_w)



Cuadro nº1. Valores de actividad de agua para el desarrollo de algunos microorganismos y alimentos en los que se desarrollan.

| a_w | Ejemplos de microorganismos que no proliferan en valores de a_w iguales o inferiores | Alimentos dentro del intervalo de a_w |
|-------|---|--|
| 0,950 | Bacterias de los géneros: <i>Escherichia</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> ; y <i>Clostridium perfringens</i> Algunas levaduras | Alimentos perecederos: fruta, carne, hortalizas, verduras y pescado frescos; y leche Embutido cocido Alimentos con más de 0,116g (p/p) de azúcar ó 7% NaCl |
| 0,910 | Bacterias, géneros: <i>Lactobacillus</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Serratia</i> , <i>Pediococcus</i> ; y <i>Vibrio parahaemolyticus</i> y <i>C. botulinum</i> . Algunos mohos Levaduras de los géneros: <i>Rhodotorula</i> <i>Pichia</i> | Algunos quesos: Cheddar, Suizo, Muenster, Provolone Carne curada y jamón Algunos concentrados de zumo de fruta Alimentos con más de 55% (p/p) de azúcar ó 12% NaCl |
| 0,870 | Bacterias del género <i>Micrococcus</i> Numerosas levaduras de los géneros: <i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Hansenula</i> . | Embutidos crudos fermentados Quesos secos y margarinas Bizcochos; y Alimentos con más de 65% de azúcar (saturado) ó 15% NaCl |
| 0,800 | <i>Staphylococcus aureus</i> Numerosos mohos, algunos productores de micotoxinas Numerosas levaduras de los géneros: <i>Saccharomyces</i> y <i>Debaryomyces</i> | Concentrados de zumos de frutas Leche condensada edulcorada, jarabe de chocolate, jarabes de arce y de frutas Harina, Arroz y Legumbres con 15-17% humedad Pasteles de frutas, o con alto contenido en azúcar; pastas de azúcar |
| 0,750 | Numerosas bacterias halófilas. Mohos, algunos productores de micotoxinas | Compotas, mermeladas y jaleas Mazapanes y Frutas escarchadas, algunos pasteles de gelatina |
| 0,650 | Especies de mohos xerófilos: <i>Aspergillus chevalieri</i> , <i>A. candidus</i> , <i>Wallemia sebi</i> . Levaduras, <i>Saccharomyces bisporus</i> | Gelatinas, melazas y azúcar de caña Algunos frutos secos Turrón, caña de azúcar crudo |
| 0,600 | Levaduras osmófilas, <i>Saccharomvces rouxii</i> . Algunas especies de mohos; <i>Aspergillus echinulatus</i> , <i>Monascus bisporus</i> . | Frutos secos con un 15-20% humedad Algunos toffees y caramelos Miel |
| 0,500 | | Tallarines, espaguetis etc con 12% humedad Especias con 10% humedad |
| 0,400 | No se produce proliferación microbiana | Huevo en polvo con 5% de humedad |
| 0,300 | | Galletas dulces; y Galletas saladas y Aperitivos Corteza de pan con 3-5% humedad |
| 0,030 | | Leche en polvo con un 2-3% humedad Vegetales secos con 5% humedad y Sopas deshidratadas Palomitas de Maíz con 5% humedad Algunas galletas dulces y saladas |

Beuchat (1981). Water Activity of Some Foods and Susceptibility to Spoilage by Microorganisms

TÉCNICAS DE MEDIDA E INSTRUMENTACIÓN

Existen diversas técnicas para medir la a_w , que presentan la ventajas e inconvenientes que siguen (Cuadro nº2).

Higrómetro de cabello o de polímero

Consiste en un hilo polimérico que en contacto con la humedad cambia su longitud. Suele conectarse a un registro gráfico que lee el % HR.

Disminución del punto de congelación

Los valores de la a_w se establecen al determinar la disminución del punto de congelación respecto del agua pura.

Equilibrio isopiéstico

Se utiliza como material de referencia celulosa microcristalina, a la que se le realiza una isoterma de adsorción. La muestra del producto se lleva al equilibrio con el material de referencia en un desecador de vacío durante 24-48 horas. En el material de referencia se determinará el contenido de humedad y el valor de a_w se obtiene directamente de la isoterma de adsorción.

Higrómetro de propiedades eléctricas

Se emplean sensores que miden variaciones en la resistencia y capacitancia. La humedad cambia las propiedades eléctricas de un material higroscópico en equilibrio con el aire que hay sobre la muestra.

Higrómetros de Punto de rocío

Se basa en la utilización de un espejo que se enfría hasta que se produce condensación. La humedad relativa de la cámara de equilibrio se calcula en base a la temperatura a la cual se consigue la saturación ($T_{\text{rocío}}$) y se determina observando la condensación en la superficie fría.

Los medidores de a_w comercializados en la actualidad emplean *Sensores de propiedades eléctricas* (Novasina, Rotronic y Aqualab) y *Sensores de Punto de Rocío* (Aqualab).

Los *Sensores de Punto de Rocío* son hasta tres veces más precisos que los sensores de propiedades eléctricas (tanto capacitivos como de resistencia). Las lecturas de a_w tienen una precisión de $\pm 0,003 a_w$ con los sensores de punto de rocío, frente a una precisión de $\pm 0,01 a_w$ con sensores capacitivos. También, son más rápidos y requieren menos mantenimiento.

Además, los *Sensores de Punto de Rocío* son la técnica de referencia para medir la a_w , mientras que la basada en las propiedades eléctricas es una metodología secundaria.

Figura 3. Algunos medidores de actividad de



agua AquaLab

Otras consideraciones para elegir un medidor de a_w

Además de las características técnicas de los medidores, existe otro conjunto de factores que influyen directamente a la hora de elegir el medidor de a_w y que es necesario tener en cuenta o al menos conocerlos *a priori*:

- *Tiempo de lectura*
- *Facilidad y estabilidad de la calibración*
- *Mantenimiento y limpieza*
- *Durabilidad del sensor de medida*



Cuadro nº2. Ventajas e inconvenientes de las distintas técnicas para medir la a_w

| Técnicas | Ventajas | Inconvenientes | Marcas y Modelos |
|--|--|--|--|
| Higrómetro de cabello o polímero | Precisión $\pm 0,03 a_w$ Fácil de usar Barato | Llega lento al equilibrio No lineal en casos de humedad extrema Riesgo de contaminación por sustancias volátiles Tendencia a la histéresis | |
| Disminución del punto de congelación | Fácil de usar Barato | Necesita termómetros muy precisos Imprescindible conocer con precisión la temperatura a la que se forman los cristales de hielo Técnica muy difícil para muestras que no se puedan tener en solución | |
| Equilibrio isopiético | Buena precisión para valores de a_w altos Fácil de usar Barato | Alcanza el equilibrio lentamente Se necesitan muchos desecadores para hacer repeticiones, o analizar muchas muestras | |
| Higrómetros de propiedades eléctricas | Precisión $\pm 0,01 a_w$ Fácil de usar Medidas en todo el intervalo de a_w | Necesita calibrado En algunos equipos la alcanzar el equilibrio puede ser muy lento Necesita temperatura de compensación del sensor | Novasina: LabMaster-aw Basic, Standard y Advanced LabPartner-aw Aw Lab Set H y F ms1Set aw Rotronic: Hygrolab 2 Set y 3 HygroPalm Aw1 Aqualab: Pawkit Aqualab LITE |
| Higrómetros de punto de rocío | Precisión elevada, $\pm 0.003 a_w$ Tiempo de medida inferior a 5min Medidas en todo el intervalo de a_w Elevada exactitud | Necesidad de espejos limpios Riesgo de contaminación por sustancias volátiles | Aqualab: Aqualab S3 (antiguos) Aqualab S4TE |

Tiempo de lectura

La velocidad o tiempo de lectura del medidor es posiblemente uno de los factores que más confusiones provoca. Existen dos parámetros que se deben diferenciar: tiempo para alcanzar el equilibrio térmico y tiempo de lectura.

Para alcanzar el equilibrio térmico pueden transcurrir entre 15 min – 2h, y una vez alcanzado es cuando en realidad se produce la medida de la a_w . La lectura se puede conseguir en 5 min o en menos tiempo, pero siempre y cuando se haya alcanzado la temperatura de equilibrio.

Los medidores AquaLab no necesitan alcanzar el equilibrio térmico porque su funcionamiento se basa en el principio de *Equilibrio de Presión de Vapor*.

Generalmente, en la mayoría de productos, el equilibrio de Presión de Vapor se consigue en menos de 3 minutos; y en menos de 1 sí se trata de una sal estándar de verificación. Los medidores AquaLab proporcionan en el momento de realizar la medida los datos de temperatura de la muestra como de la cámara de medida.

Existen medidores que incorporan la opción “Predicción de la a_w ”. Este valor no es en ningún caso una lectura de la a_w , sino el resultado de un algoritmo.

Calibración

En los medidores AquaLab es necesario verificar con cierta periodicidad su funcionamiento, empleando 1 ó 2 sales estándar de verificación. En cambio, el resto de medidores precisan de una calibración periódica que por lo general suele ser complicada, se necesitan calibrar de 4-8 puntos empleando hasta 6 tipos distintos de sales estándar que encarecen el mantenimiento del equipo. Además, este proceso puede durar varias horas.

Mantenimiento y limpieza

Los medidores de la familia AquaLab tienen un mantenimiento mínimo y se pueden limpiar fácilmente en menos de 10 minutos.

Durabilidad del sensor de medida

En ocasiones, los sensores de medida deben reemplazarse por motivos diversos. Los sensores dieléctricos envejecen con el tiempo o bien las muestras empleadas han dañado el material higroscópico que hay en el interior del sensor. En ambos casos el sensor de medida presenta histéresis.

Durabilidad del sensor de medida

Los sensores de punto de rocío no envejecen ni se han descrito productos que los deterioren. Si que se ha comprobado que concentraciones elevadas de algunos compuestos volátiles, etanol o propilen glicol, pueden co-condensar en la superficie del espejo. Pero esto no quiere decir que los compuestos volátiles puedan afectar al funcionamiento del medidor, ni que las lecturas de los productos que contengan etanol o propilen glicol sean erróneas. Es recomendable limpiar la cámara de medida para evitar la condensación.

MEDIDORES DE a_w AQUALAB

La familia AQUALAB esta formada por los medidores de a_w : Pawkit, Aqualab LITE, Aqualab Series 4.

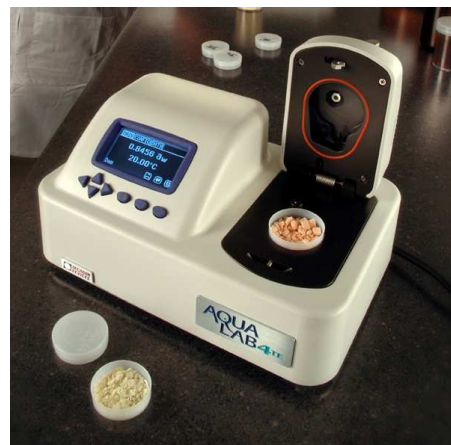


Figura 4. Medidor de actividad de agua AquaLab S4TE



Los medidores Pawkit y Aqualab LITE incorporan un sensor dieléctrico de humedad, y los modelos de la Series 4 con sensores de punto de rocío.

Las características técnicas de estos medidores se muestran en el cuadro nº3.

Cuadro nº3. Características técnicas de los medidores AQUALAB

| | AquaLab S4TE | Aqualab LITE | Pawkit |
|---|-------------------------|--------------------|--------------------|
| Tipo | De mesa | De mesa | Portàtil |
| Técnica | Punto de Rocío | Sensor Dieléctrico | Sensor Dieléctrico |
| Intervalo de medida | 0,03 – 1,00 | 0 – 1,00 | 0 – 1,00 |
| Exactitud | $\pm 0,003 a_w$ | $\pm 0,015 a_w$ | $\pm 0,02 a_w$ |
| Reproducibilidad | $\pm 0,001 a_w$ | $\pm 0,001 a_w$ | $\pm 0,001 a_w$ |
| Resolución | $\pm 0,001 a_w$ | $\pm 0,001 a_w$ | $\pm 0,01 a_w$ |
| Control interno de Temperatura | 15 – 40°C (opcional) | No | No |
| Intervalo de Temperatura de Funcionamiento | 5 – 43°C | 5 – 50°C | 5 – 50°C |
| Tiempo para equilibrio | 0 min | 0 min | 0 min |
| Tiempo de medida en el equilibrio | <5 min | <5 min | <5 min |

Funcionamiento de los medidores de a_w AquaLab Series 4

Los medidores Aqualab Series4 (y los antiguos AquaLab S3) miden la a_w de las muestras empleando la metodología de los sensores de punto de rocío (Método AOAC 978.18). En estos equipos la muestra se equilibra con el ambiente de una cámara sellada que contiene un espejo que permite detectar la condensación sobre él (Figura 2). Al alcanzar el equilibrio, la HR del aire de la cámara es la misma que la a_w de la muestra.

En la cámara de medida hay una célula fotoeléctrica y un termistor que registran el momento en el que se produce la condensación y su temperatura, respectivamente. Esta célula proyecta un rayo de luz sobre el espejo, y en el momento en el que hay condensación la célula fotoeléctrica detecta cambios en la reflexión de la luz (Figura 3).

Un pequeño ventilador instalado en el interior de la cámara de medida permite reducir el tiempo de equilibrio.

La temperatura superficial de la muestra y del espejo se miden simultáneamente, por lo que se elimina la necesidad de completar el equilibrio térmico, y así el tiempo de medida se reduce a menos de 5 minutos. El termistor registra la temperatura a la que se produce la condensación.

En los medidores modelo AquaLabS4TE, la temperatura de la cámara se controla, para mantenerla constante, con un Peltier.

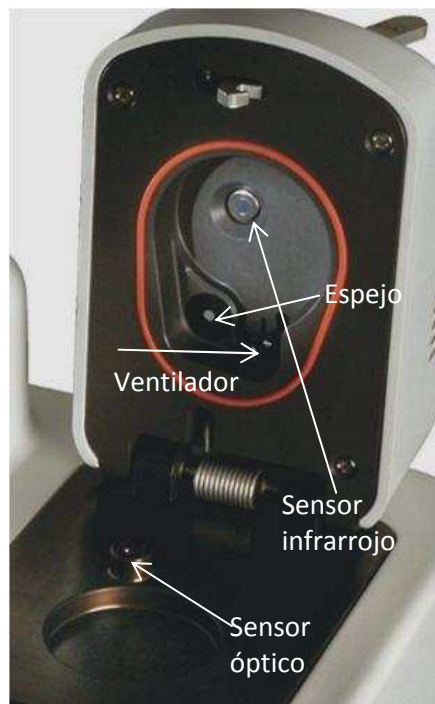
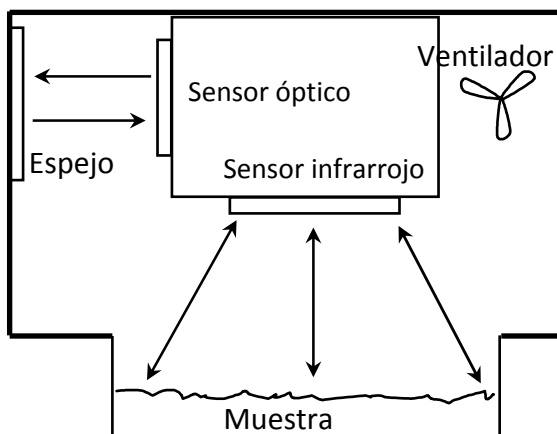


Figura 3. Representación gráfica de los componentes y del funcionamiento del sensor de punto de rocío de un medidor de actividad de agua AquaLab Series 4®

FACTORES QUE AFECTAN A LAS MEDIDAS DE ACTIVIDAD DE AGUA

1. La temperatura

La a_w depende, termodinámicamente, de la temperatura. En todos los métodos, el ΔT afectará a la precisión final y al tiempo de lectura, por lo que es importante que las muestras estén a temperatura ambiente. Las muestras que no están a temperatura ambiente se igualarán con el medidor durante el ciclo de lectura, pero antes de obtener la lectura de a_w .

Si existe una gran diferencia entre la muestra y el medidor el ciclo de lectura se prolongará mucho, y disminuirá la repetibilidad.

Para reducir el efecto de la temperatura en las medidas se puede intentar,

- Reducir ΔT durante el proceso de preparación de la muestra y medida

- Utilizar medidores con control de la temperatura

Los AquaLab Series 4TE incorporan un control interno de temperatura que facilita:

- Conocer los efectos de la temperatura en la a_w de los productos. También la comparación de la a_w de distintas muestras independientemente de la temperatura
- Realizar estudios de vida útil más rápidamente
- Generar isotermas y evaluar la histéresis
- Cumplir con las normativas o regulaciones internas de productos específicos
- Minimizar las fluctuaciones de temperatura ambiente, si se producen variaciones diarias en la temperatura ambiental de más de $\pm 5^\circ\text{C}$



2. Calibración y limpieza

Aunque parece obvio es imprescindible que los medidores se encuentren limpios y correctamente calibrados.

Se deben seguir las instrucciones y recomendaciones de los fabricantes sobre como realizar un correcto mantenimiento del medidor y efectuar las calibraciones y las rutinas de verificación establecidas.

3. Preparación de la muestra

Los medidores AquaLab miden la mayoría de materiales en menos de 5 minutos, aunque en algunas muestras los períodos de lectura pueden ser más largos por sus propias características. Para saber cual es la forma más adecuada de preparar una muestra, es conveniente hacer una prueba previa para comprobar el tiempo de lectura. Si éste es superior a 6 minutos, se recomienda cambiar la preparación.

Existen productos que necesitan una preparación especial:

- *Productos cárnicos*

En este tipo de productos picar las muestras con la ayuda de una picadora es una técnica muy extendida, a pesar de que la Norma ISO 7218-1996 (Microbiology of food and animal feeding stuffs. General rules for microbiological examinations) para que el valor de a_w no se modifique con la variación de temperatura durante el picado, recomienda partir, cortar o laminar las muestras. Esta norma también recomienda utilizar los sensores de punto de rocío como metodología de medida de referencia.

- *Productos con cobertura*

Las muestras con cobertura de azúcar o grasa suelen tener tiempos de lectura más largos, ya que les cuesta equilibrarse. El tiempo de lectura se puede reducir

aumentando la superficie de contacto, por lo que las muestras se pueden partir, cortar o laminar.

Al modificar la muestra también se altera su valor de a_w . Por ejemplo, en el caso de los caramelos con un relleno blando, la a_w del recubrimiento y la del relleno son distintas, y es conveniente evaluar que parte de la muestra se debe medir antes de partirlo. La lectura del caramelo completo es una lectura de la cobertura que puede actuar como barrera de la parte central. Mientras que la lectura al partirlo representa la a_w promedio de la muestra completa.

- *Productos con muy poca agua*

Algunas muestras como: compuestos muy azucarados, muy grasos, con alta viscosidad (mantequilla), deshidratados o secos, pueden necesitar tiempos de lectura muy elevados (un AquaLab puede necesitar 10-15 minutos) debido a sus características de sorción.

- *Propilenglicol*

En general, la mayoría de alcoholes se pueden medir sin problemas, aunque muestras con propilenglicol en una concentración superior a 10% medidas de forma consecutiva pueden dar lugar a inexactitudes en el valor de la a_w .

Este compuesto puede condensar en el espejo durante la lectura, pero en cambio no se evapora como el agua. Para eliminar estos restos se debe introducir la cápsula de carbón activo (uno de los componentes del kit de limpieza) entre las lecturas de las muestras con propilenglicol. Al acabar de medir, limpiar la cámara.

- *Productos con valores de a_w bajos*

Las muestras con valores de $a_w < 0,03$ no se pueden medir con precisión con el AquaLab Series 4.

Si el valor de a_w de la muestra es muy bajo en la pantalla aparece un aviso.

- **Muestras a distinta temperatura**
Las muestras con una temperatura $\pm 4^{\circ}\text{C}$ a la de la cámara de lectura necesitan igualarse antes de medir. Los cambios rápidos de temperatura en periodos breves de tiempo pueden hacer que los valores de a_w aumenten o disminuyan hasta que la temperatura se estabilice. Muestras con valores de a_w muy elevados y con una temperatura superior a la de la cámara, pueden

provocar la condensación en el interior de la cámara.

AquaLab proporciona medidas de a_w rápidas y precisas siempre y cuando la cámara de medida esté limpia. En el 95% de los casos, los problemas en las lecturas están causados por restos de suciedad derivados de una incorrecta preparación de las muestras. Es imprescindible tener cuidado al preparar las muestras y al introducirlas en la cámara .



Especificaciones de los medidores AquaLab Serie 4

- **Sensor de Punto de Rocío**
- **Temperatura superficial de la muestra**
Sensor de Infrarrojos
- **Control interno de Temperatura (Peltier)**
15-50°C ($\pm 0,2^{\circ}\text{C}$) opcional modelos TE
- **Precisión**, $\pm 0,003 a_w$
- **Resolución**, $\pm 0,001 a_w$
- **Intervalo**, 0,030 a 1,000 a_w
- **Velocidad de Medida** < 5 min
- **Tiempo para alcanzar el equilibrio**, 0
- **Tiempo de medida** < 5 min
- **Dimensiones**, 26,7 x 27,8 x 12,7 cm
- **Peso**: 3,18 kg
- **Garantía**: 3 años
- **Condiciones de funcionamiento**,
Temperatura, 4 a 50 °C
Humedad, 0 a 90%
- **Capacidad portamuestras** 15 ml,
recomendado 7 ml
- **Capacidad de almacenamiento de datos**, 10000 valores
- **Comunicación**, Cable RS232
- **AquaLink Report Generator (RG)** para elaborar informes (opcional)

Modelos AquaLab Serie 4

AquaLab Series 4TE Con sensor de punto de rocío y control interno de temperatura.

AquaLab Series 4TEV Diseñado para medir formulaciones que incluyen productos volátiles como etanol y propilenglicol. El bloque dual emplea un sensor capacitivo y un sensor de punto de rocío para medir los productos volátiles y no-volátiles, respectivamente.

AquaLab Series 4 DUOTE Permite medir de forma simultánea la a_w y el contenido de humedad. La combinación de los dos tipos de medidas en un mismo equipo permite ahorrar tiempo y trabajo.

LabFerrer

Centre d'Assessoria Dr Ferrer SL

c/ Ferran el Catòlic, 3 · 25200 Cervera · Tef/Fax. (34) 973 532 110 · E-mail info@lab-ferrer.com · www.lab-ferrer.com
NIF: B-61994620