

2^a
2^o



UNIVERSIDAD LA SALLE

**ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U.N.A.M.**

**“ESTABILIZACION DE PULPA DE ZAPOTE NEGRO
(DIOSPYROS EBENASTER) POR METODOS
COMBINADOS PARA REPOSTERIA”**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P R E S E N T A :
MA. GUADALUPE MARCELA CAMACHO PEREZ**

**DIRECTOR DE TESIS
Q. IRENE MONTALVO VELARDE**

MEXICO, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

I. Introducción	1
II. Objetivo	4
III. Justificación	6
IV. Generalidades	8
4.1 Zapote Negro	9
4.2 Actividad de Agua	15
4.3 Alimentos de Humedad Intermedia	30
4.5 Métodos Combinados	37
V. Materiales y Métodos	45
5.1 Equipo	46
5.2 Materia Prima	46
5.3 Reactivos	47
5.4 Métodos	47
5.5 Metodología	50
VI. Resultados y Discusión de Resultados	55
6.1 Análisis Preliminares	56
6.2 Análisis Fisicoquímicos	58
6.3 Análisis Microbiológicos	70
6.4 Análisis Sensoriales	70
VII. Conclusiones	75
VIII. Bibliografía	78

INDICE DE CUADROS

No.1 Producción del zapote negro en la República Mexicana en 1987.	13
No.2 Valor nutritivo del zapote negro en 100gr de fruta	13
No.3 Contenido de humedad de algunos alimentos frescos	16
No.4 Actividad de agua de algunos alimentos frescos	18
No.5 Niveles mínimos de Aw que permiten el crecimiento de microorganismos	22
No.6 Aw y producción de toxinas	25
No.7 Productos conservados por métodos combinados	40
No.8 Valores de la constante -k para soluciones binarias de no electrolitos	51
No.9 Formulaciones seleccionadas	52
No.10 Formato para evaluación sensorial	54
No.11 Análisis de la materia prima	56
No.12 Formulaciones de pulpa de zapote negro con sacarosa y con glucosa	57
No.13 Combinaciones de glucosa y sacarosa con zapote	57
No.14 Formulaciones con pH 3.5, 3.0 y 2.5	58
No.15 Análisis de varianza de Aw	59
No.16 Análisis de varianza del pH	61
No.17 Análisis de varianza de la acidez titulable	64
No.18 Análisis de varianza de la humedad	66
No.19 Análisis de varianza de azúcares reductores directos	68
No.20 Análisis de varianza de azúcares reductores totales	70
No.21 Resultados de la evaluación sensorial	73
No.22 Análisis de varianza del sabor	73
No.23 Análisis de varianza de la acidez	74
No.24 Análisis de varianza del dulzor	74

INDICE DE FIGURAS

No.1 Velocidades de reacciones en función de la A_w	21
No.2 Isoterma de sorción	26
No.3 Efecto de obstáculos	38
No.4 Efecto de obstáculos	38
No.5 Efecto de obstáculos	38
No.6 Efecto del stress en el crecimiento microbiano	41
No.7 Efecto de la A_w y del pH sobre el crecimiento microbiano	43
No.8 Diagrama de flujo	49
No.9 Comportamiento de la A_w en la pulpa con pH 3.5 almacenada 90 días	60
No.10 Comportamiento de la A_w en la pulpa con pH 4.5 almacenada 90 días	60
No.11 Comportamiento del ácido sórbico en la pulpa con pH 3.5 almacenada 90 días	62
No.12 Comportamiento del ácido sórbico en la pulpa con pH 4.5 almacenada 90 días	62
No.13 Comportamiento del pH en la pulpa con pH 3.5 almacenada 90 días	63
No.14 Comportamiento del pH en la pulpa con pH 4.5 almacenada 90 días	63
No.15 Comportamiento de la acidez titulable en la pulpa con pH 3.5 almacenada 90 días	65
No.16 Comportamiento de la acidez titulable en la pulpa con pH 4.5 almacenada 90 días	65
No.17 Comportamiento de la humedad en la pulpa con pH 3.5 almacenada 90 días	67
No.18 Comportamiento de la humedad en la pulpa con pH 4.5 almacenada 90 días	67

No.19 Comportamiento de los azúcares reductores directos en la pulpa con pH 3.5 almacenada 90 días	69
No.20 Comportamiento de los azúcares reductores directos en la pulpa con pH 4.5 almacenada 90 días	69
No.21 Comportamiento de los azúcares reductores totales en la pulpa con pH 3.5 almacenada 90 días	71
No.22 Comportamiento de los azúcares reductores totales en la pulpa con pH 4.5 almacenada 90 días	71

I. INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

Desde épocas remotas el hombre ha tratado de conservar sus alimentos con el fin de evitar su descomposición. Pues desde el momento en que el alimento se cosecha, se recoge, o se sacrifica, comienza a pasar por una serie de etapas de descomposición progresiva. Según el alimento, esta descomposición puede ser lenta o rápida que vuelve inutilizable a dicho alimento para su consumo. Por ejemplo, la carne animal, el pescado y las aves pueden deteriorarse en uno o dos días, a temperatura ambiente. Lo mismo ocurre con las frutas y verduras.

Los medios de conservación utilizados por el hombre han sido varios: esterilización, refrigeración, deshidratación, etc. Siendo los más novedosos la irradiación y los alimentos de humedad intermedia. Estos últimos tienen la cualidad de conservar a los alimentos sin refrigeración ni esterilización y tienen propiedades sensoriales agradables. La tecnología de los métodos combinados es el uso de dos o más factores que impiden el deterioro del alimento. Con dicha tecnología se puede disminuir la A_w al rango de 0.60-0.92, dentro del cual están comprendidos los alimentos de humedad intermedia.

El zapote negro tiene una producción pobre en nuestro país en comparación con otras frutas tropicales. Fuera de los lugares de producción, dicha fruta no es muy conocida en la República Mexicana, a pesar de ser originaria de este país. En otros países, el zapote negro es considerada una fruta exótica.

Las causas probables del bajo consumo del zapote negro en nuestro país pueden ser a que su aspecto no es muy atractivo ni apetitoso, aunque su sabor si lo sea, es una fruta de temporada y de fácil composición, por lo que no permite una gran difusión dentro de las regiones cercanas a su producción, ni el transporte a lugares lejanos y mucho menos la exportación.

El consumo del zapote negro se limita a helados y a la

preparación del dulce con jugo de naranja y a veces, licor. Esta tesis trata de elaborar un producto catalogado como Alimento de Humedad Intermedia, por medio del uso de los Métodos Combinados, utilizando como materia prima el zapote negro. Con la finalidad de que la pulpa de esta fruta se pueda mantener estable por algún tiempo, y que sirva como producto intermedio en la producción de yoghurts, jarabes para preparar agua, rellenos para pays y pasteles, helados, etc.

Se piensa que con dicho producto pudiese fomentarse el consumo del zapote negro, al aumentar la permanencia en el mercado, y dar a conocer otros usos de dicha fruta.

Hay que recalcar que no existe referencias de lo que se pretende hacer, la que existe se refiere a los cambios fisiológicos del zapote negro durante su maduración, de los cambios ocurrentes en el dulce de zapote negro (con jugo de naranja y azúcar) durante el proceso térmico, y la otra referencia trata de los poderes curativos del zapote negro.

Se pudo obtener una pulpa de zapote negro con las características de un producto de humedad intermedia pero con una vida de anaquel menor a la que se esperaba y que para una mayor conservación se recomienda la refrigeración.

II. OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL.

Elaborar un producto (pulpa de zapote negro) con una actividad de agua (Aw) entre 0.85-0.90, mediante la tecnología de métodos combinados que le permita tener una vida de anaquel alrededor de 3 meses.

2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Elaborar diversas formulaciones de la pulpa de zapote negro con diferentes concentraciones de sacarosa, glucosa y combinaciones de ambas hasta obtener una Aw deseada (0.85, 0.90, 0.95).
- Evaluar la estabilidad fisicoquímica y microbiológicamente del producto terminado a tres temperaturas: 10, 25 y 35°C.
- Evaluar sensorialmente el producto terminado.

III. JUSTIFICACION

III. J U S T I F I C A C I O N

Debido a que el zapote negro es una fruta de temporada y que se madura rapidamente, su consumo no es muy alto, limitándose a la fruta fresca y a veces combinándola con jugo de naranja.

Por lo anterior se desea elaborar pulpa de zapote negro que pueda conservarse durante algún tiempo (3 meses aproximadamente) y que sirva como un producto intermedio en la producción de yogurts, jarabes para preparar agua, helados y/o relleno para pay, de sabor a zapote negro. Aumentando así, la variedad de consumo de dicha fruta, así como su disponibilidad cuando no sea temporada.

IV. GENERALIDADES

1. EL ZAPOTE NEGRO.

a) Características Botánicas.

El zapote negro es un árbol frutal nativo de México y Centroamérica, que se ha introducido en Asia y se cultiva en algunos jardines botánicos de Europa (54).

El grupo de los zapotes llamados tzapotl en náhuatl, incluye al zapote mamey, también conocido como mamey rojo (Tezontli, *Calocarpum mammosum*); el zapote blanco (Cochtzapotl, *Asimiroa edulis*); el chicozapote (Xicotlzapotl, *Achras sapota*); y el zapote negro o zapote prieto (Tlizapotl) (47).

El nombre científico del zapote negro es *Diospyros ebenaster*. (56) o *Diospyros ebenaster* ritz, (1,49) y entre sus nombres comunes se encuentran: "Biaquir" (Oaxaca-zapoteco); "Ebano", "Tauch", "Tauch-ya" (Yucatán-maya); "Munsequé" (Hidalgo, S.L.P.); "Tauchi" (Tabasco); "Tlizapotl", "Toto cuitlatzapotl" (Zona central-náhuatl); "Zapote negro" (Oaxaca-Veracruz); "Zapote prieto" (Chiapas, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Tabasco, Veracruz y Yucatán) (26) y "Guayabote" o "Guayabota" (Puerto Rico) (55).

La forma biológica del zapote negro es un árbol entre 15 a 20 metros de altura (1,49,56). Perteneció a la familia de las Ebenaceas que se caracterizan por ser plantas leñosas y de hojas simples cuyas flores a menudo monosexuales, pequeñas y de color blanco, auxiliares, solitarias; están constituidas por 4 ó 5 partes en el caliz y la corola esta es de color blanco amarillento y verdoso (1,19). El caliz es persistente, acrescente. De hojas elípticas u oblongas, simples, alternas con el ápice agudo, acuminado u obtuso persistentes, comunmente de 10 a 20 cm de largo, pero pueden llegar a medir 30 cm, y de color verde brillante (1,56).

El fruto es subgloboso o globoso, oblada, comestible; es una baya solitaria, que en su estado sazón es de color verde oliva, con pulpa amarilla de un sabor muy astringente que se pierde al madurar la fruta. Cuando esto sucede, la cáscara se oscurece así como su pulpa que adquiere un color café oscuro, un sabor dulce y refrescante, y una consistencia suave, blanda, untuosa (1,19,54,56,65,66).

Generalmente mide de 8 a 10 cm de diámetro. El número de semillas que contiene el fruto, es variado: de 1 a 8 ó de 3 a 5, en ciertas ocasiones ninguna (56,66). Las semillas retienen su viabilidad por varios meses si se guardan en un lugar seco. Se deben de sembrar sumergiéndolas en láminas que tienen una copa de 1 cm de grosor de tierra húmeda y en presencia de luz; germinan en un mes si el clima es cálido. Cuando tienen unos 8 cm de altura, las plantas pueden transferirse a botes (56). Su crecimiento es lento y requieren de 1 a 2 años para obtener el tamaño apropiado y pueda ser transplantado al campo. El árbol empieza a dar frutos a los 5 años (54,56).

El zapote negro se puede desarrollar en varios tipos de suelos, pero generalmente prefiere el suelo profundo, bien drenado, de color amarillo rojizo a negro y con abundante materia orgánica, llegando a ser un árbol de 15 a 20 metros de altura y muy hermoso (54,56).

En México, el zapote negro crece tanto en regiones lluviosas como en regiones secas, requiriendo en éstas últimas de una abundante irrigación. Comúnmente se da en regiones calientes, se considera un fruto de climatología tropical. En tierras bajas de México, los árboles de zapote negro alcanzan alturas hasta de 15 a 18 m; en regiones con clima frío sólo crece de 7 a 10 m (56,58).

También se cultiva en pequeña escala en la región oeste de la

India y raramente en la región este; también se cultiva en Hawaii y en Miami (66).

El zapote negro en México, a pequeña escala en huertos familiares no llegando a ser una fruta importante en el mercado. Esto se debe a la heterogeneidad en la calidad de las frutas, y por otra parte, a la falta de métodos adecuados para su conservación (66). Lo que ha ocasionado que la fruta se consuma generalmente fresca, ya que su delicada piel no permite que sea un producto de exportación. Incluso para el traslado de un punto a otro en el país (50), se tienen problemas; por lo que es necesario recoger la fruta y trasladarla cuando todavía se encuentra verde o inmadura.

Los problemas mencionados anteriormente, influyen considerablemente en la exportación del zapote negro.

b) Cambios Fisiológicos.

Los cambios físicos ocurridos en el zapote negro durante su maduración son que su cáscara, que al inicio es verde olivo brillante, pierde su brillo; y a medida que el fruto va madurando se va oscureciendo y haciendo más delgada.

Cuando la fruta está en un estado intermedio, es decir, que ni está maduro ni verde, su cáscara sigue siendo verde pero la pulpa ha cambiado de color amarillo a café claro, es decir, hay cambios en la textura.

La fruta madura empieza a perder sus dimensiones y firmeza, haciéndose más suaves por los cambios químicos ocurridos. La cáscara tiene un color verde oscuro, la pulpa tiene un color café oscuro y un sabor más dulce.

El estado sobremaduro se caracteriza por la pérdida en la firmeza, la dificultad en quitar la cáscara y por llegar a tener el color más oscuro tanto en la pulpa como en la cáscara.

Los monosacáridos de mayor contenido en el zapote negro son los azúcares, principalmente los reductores, que en el estado maduro representan el 100% de los totales. Los azúcares reductores van aumentando en el estado sobremaduro, el aumento de estos azúcares reductores no es proporcionado grandemente por la hidrólisis del almidón, ya que sólo estos contribuyen en un porcentaje muy bajo. Los azúcares reductores aumentan de tal manera, que la cantidad existente de almidón y pectinas son lo suficientemente grandes para aumentar el contenido de azúcares lo cual indica la existencia de otros carbohidratos que al madurar la fruta, se van hidrolizando para dar azúcares más sencillos (65).

c) Produccion

En México, el zapote negro se distribuye como especie cultivada desde Jalisco a Chiapas, norte de Puebla, Morelos, Yucatán, Veracruz y Tabasco (56). El zapote negro es una fruta de temporada, por lo que tiene su producción mínima de diciembre a enero y de mayo a junio, máxima desde enero hasta mayo. La temporada es de diciembre hasta junio, aproximadamente, aunque puede encontrarse esporádicamente un poco antes o después de dichas fechas. Otra información de la producción del zapote negro es: mínima de enero a marzo, media de abril a mayo y máxima de junio a julio (56).

La producción del zapote negro en México, en el año de 1987, se presenta en el cuadro No. 1.

d) Valor Nutritivo.

Como se puede apreciar, en el cuadro No. 2 el valor nutritivo reside en las vitaminas y minerales, ya que como se puede ver es rico en calcio y en ácido ascórbico.

CUADRO NO. 1 PRODUCCION DEL ZAPOTE NEGRO EN LA REPUBLICA MEXICANA EN 1987.

ESTADO	SUPERFICIES		PRODUCCION TON	RENDIMIENTO FISICO TON/HA.
	Sembrada Ha.	Cosechada Ha.		
Oaxaca	13	13	81	6.00
Puebla	25	25	250	10.00
Yucatán	138	138	552	4.00
TOTAL	176	176	883	--

FUENTE: CONAFRUT, Inventario Frutícola, 1987.

CUADRO No. 2 VALOR NUTRITIVO DEL ZAPOTE NEGRO EN 100 gr DE FRUTA

PORCION COMESTIBLE	62	%
CALORIAS	56	Kcal
PROTEINAS	0.8	g
GRASA	0.1	g
CARBOHIDRATOS	14.5	g
CALCIO	46.00	mg
HIERRO	1.58	mg
TIAMINA	0.02	mg
RIBOFLAVIA	0.03	mg
NIACINA	0.20	mg
AC. ASCORICO	83.00	mg

FUENTE: TABLA E VALOR NUTRITIVO DE LOS ALIMENTOS MEXICANOS. INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION. 1987

e) Valor Curativo

En México, principalmente en la provincia, el zapote negro es utilizado para la curación de ciertas enfermedades. Las partes usadas como "curativas" del zapote negro son las hojas y el fruto, ambos se cuecen antes de su utilización; la vía de administración de ambas partes es oral (49). Dichos té se utilizan para curar enfermedades del hígado y la malaria. Para la digestión, basta con comer el fruto maduro.

Otras enfermedades como el salpullido, la sarna y la lepra mejoran si se unta el jugo del fruto verde en las partes enfermas (1).

4.2 ACTIVIDAD DE AGUA (Aw).

a) Introducción.

El agua es un elemento muy difundido en la naturaleza, es un componente de todos los seres vivos: plantas, animales y el ser humano. La mayoría de éstos contienen una gran cantidad de agua, que en algunos casos puede llegar hasta el 70% en el cuerpo humano y del 96% en frutas y verduras, de su peso total (21).

En el cuadro No. 3 se puede apreciar el contenido de agua de algunos alimentos.

El agua no sólo contribuye a las propiedades reológicas de un alimento a través de su estado físico, sino que al interactuarse con los diferentes componentes, puede determinar el tipo de reacciones que pueden suscitarse en el alimento; estas reacciones son del tipo químico, enzimático o microbiológico, que aumentan o reducen la calidad o el valor nutritivo de los alimentos (21).

Los efectos del agua en las reacciones químicas son más complicados que los efectos en el crecimiento microbiano. El agua puede tener uno o más de los siguientes comportamientos:

- Como disolvente para los productos.
 - Como un reactivo (reacciones de hidrólisis)
 - Como un producto de reacción (reacciones de condensación)
 - Como un modificador de las actividades catalíticas o inhibitorias de otras sustancias (el agua inactiva algunos catalizadores metálicos en la peroxidación de lípidos)
- (36).

La relación del agua también juega un papel muy importante en la industria alimentaria, es decir, de alimentos procesados. La medida más popular de la viabilidad biológica y de la calidad tecnológica de los productos alimenticios es la actividad de agua.

(34).

CUADRO NO. 3 CONTENIDO DE HUMEDAD DE ALGUNOS ALIMENTOS (36).

ALIMENTO	CONTENIDO DE AGUA (%)
Carne:	
cerdo, crudo, magro	55-60
buey, crudo, despojos	50-70
pollo, de toda clase, carne cruda sin piel	74
pescado, proteínas musculares	65-81
Frutas:	
bayas, cerezas, peras	80-85
manzanas, melocotones, naranjas, pomelos	85-90
ruibarbo, fresas, tomates	90-95
Verduras:	
aguacates, guisantes (verdes)	74-80
remolacha, brocoli, zanahorias, papas	80-90
esparragos, judias (verdes), col, coliflor, lechuga	90-95

b) Definición.

En 1957 Scott introduce en la ciencia de los alimentos el término "Actividad de Agua", abreviado Aw. Dicho término determina el grado de interacción del agua con los diferentes componentes de los alimentos, y es una medida indirecta del agua disponible para que se lleven a cabo las diferentes reacciones a las que están sujetos (4).

La actividad de agua (Aw) puede ser definido como:

$$Aw = P / P_0$$

donde: P = presión de vapor de una solución a una temperatura específica.

P₀ = presión de vapor del agua pura a una temperatura específica.

También la actividad de agua está relacionada con la humedad relativa en equilibrio (HRE).

$$HRE (\%) = Aw \times 100$$

El término de humedad relativa es más apropiado para describir a una atmósfera que está en equilibrio con una sustancia y no es una buena caracterización de la condición actual o disponibilidad del agua (75).

La actividad de agua (Aw) está más relacionada con las propiedades químicas, físicas y biológicas de los alimentos que la humedad contenida en ellos. Los diferentes métodos de conservación de los alimentos como la deshidratación, el salado, el congelado, alimentos de humedad intermedia; están basados en la reducción de la Aw (16).

c) Aw y los alimentos.

La actividad de agua (Aw) de la mayoría de las frutas, vegetales y carnes frescas están en el rango de 0.970-0.996, como se puede apreciar en el cuadro No.4. En promedio, las frutas tienen una Aw menor que los vegetales (16).

CUADRO No.4 ACTIVIDAD DE AGUA DE ALGUNOS ALIMENTOS FRESCOS (6).

Frutas	Aw	Frutas	Aw
manzana	0.980 ^a 0.988-0.975 ^c	frambuesa	0.991-0.986 ^a 0.988 ^b 0.994-0.984 ^c
jugo de manzana	0.986 ^c	jugo de frambuesa	0.988 ^b
albaricoque	0.987 ^a 0.985-977 ^c	fresa	0.990 ^a 0.991 ^b 0.991 ^b
bananas	0.987 ^a 0.971-0.964 ^c	jugo de fresa	0.992 ^a
zarzamora	0.989 ^b 0.989 ^b 0.986 ^b	sandía	0.987 ^a
cereza	0.977 ^a 0.986-0.959 ^c	tangerina	
jugo de cereza	0.986 ^b	Vegetales	
grosella	0.990 ^a	calabaza	0.998-0.994 ^c
dactil	0.974 ^a	espárragos	0.992 ^a 0.994 ^b
higo	0.974 ^a	aguacate	0.989 ^a
toronja	0.982 ^a 0.985-0.980 ^c	tomate	0.991 ^a 0.998-0.994 ^c
uvas	0.986-0.974 ^a 0.982-0.963 ^c	pulpa de tomate	0.993 ^b
jugo de uva	0.983 ^b	berenjena	0.991 ^a 0.993-0.987 ^c
limón	0.984 ^a 0.989-0.982 ^c	brócoli	0.991 ^a
lima	0.980 ^a	col	0.992 ^a 0.992-0.990 ^c
mango	0.986 ^a	zanahoria	0.983 ^a 0.989 ^b 0.992-0.990 ^c
melón	0.989-988 ^a 0.991-0.970 ^c	apio	0.994 ^a 0.992-0.987 ^c
papaya	0.990 ^a	lechuga	0.996 ^a
naranja	0.979 ^a 0.987-0.979 ^c	maíz	0.994 ^a
jugo de naranja	0.988 ^b	pepino	0.992 ^a 0.998-0.995 ^a
pina	0.988 ^a -0.985 ^a	cebolla	0.990 ^a 0.986 ^b 0.986-0.974 ^c
durazno	0.987 ^a 0.985 ^b 0.989-0.979 ^c	champiñones	0.995-0.990 ^c
pera	0.985 ^b 0.989-0.969 ^c	cebollas	0.990 ^a 0.986 ^b
ciruelas	0.982 ^a 0.978 ^b 0.980-0.969 ^c		
membrillo	0.979 ^a		

^aRHA (1975) ^bDICKERSON, JR. (1968) ^cGUEGOY (1980) ^dBRIOZZO (1981)

^eLEISTNER Y RODEL (1975) ^fBURGESS (1965)

La actividad de agua de las frutas y verduras es determinada por la naturaleza y concentración de las especies químicas naturales presentes, como son azúcares, ácidos orgánicos, sales inorgánicas, y otras sustancias solubles. Los constituyentes insolubles no contribuyen significativamente a disminuir la A_w debido a la gran cantidad de humedad contenida (29).

La A_w de los alimentos es muy importante en su estabilidad, pues muchas reacciones que pueden alterarlo ocurren de acuerdo con el valor de su factor. Las diferentes reacciones de acuerdo a la A_w y la humedad se pueden observar en la figura No.1. Labuza diseñó dicha figura y lo llamó "Mapa de la Estabilidad de los Alimentos como una Función de la A_w ". Se ha superpuesto en la isoterma de sorción, las velocidades de las reacciones químicas, después las reacciones catalizadas por enzimas, y el pardeamiento no enzimático.

Se inhiben todas las reacciones por completo, con excepción de la autooxidación de lípidos, cuya velocidad se incrementa cuando la A_w decrete demasiado (5,10).

Como se puede apreciar, la figura está dividida en 3 partes:

A) La zona I contiene el agua que representa la capa monomolecular BET y es la más difícil de eliminar en los procesos térmicos comerciales de secado, pues sólo se consigue de manera parcial. En esta región se incrementan las reacciones de oxidación de lípidos.

B) La zona II contiene agua distribuida en diferentes capas más estructuradas y en microcapilares; es más difícil de eliminar que la de tipo III. Cuando se elimina de manera parcial el agua del tipo II, reduce de manera considerable las reacciones químicas y completamente el crecimiento microbiano. Cuando se elimina completamente se alcanza una $A_w = 0.25$ aproximadamente y una

humedad del 3-7%, según el alimento. Los productos deshidratados eliminan este tipo de agua, con una mayor estabilidad con Aw de 0.5.

C) La zona III tiene una Aw ligeramente menor a la del agua pura. Es la primera agua que se elimina cuando el alimento sufre un proceso térmico. Este tipo de agua representa la mayor parte de los tejidos animales y vegetales. Se encuentra en macrocapilares y forma parte de las soluciones que disuelven las sales, los azúcares y las sustancias de bajo peso molecular que contienen los alimentos. Y está disponible para el crecimiento microbiano y para las reacciones químicas. Cuando se elimina toda el agua de este tipo, la Aw disminuye a un valor de 0.8 y la humedad es de 12-25%, estos valores varían de acuerdo al alimento.

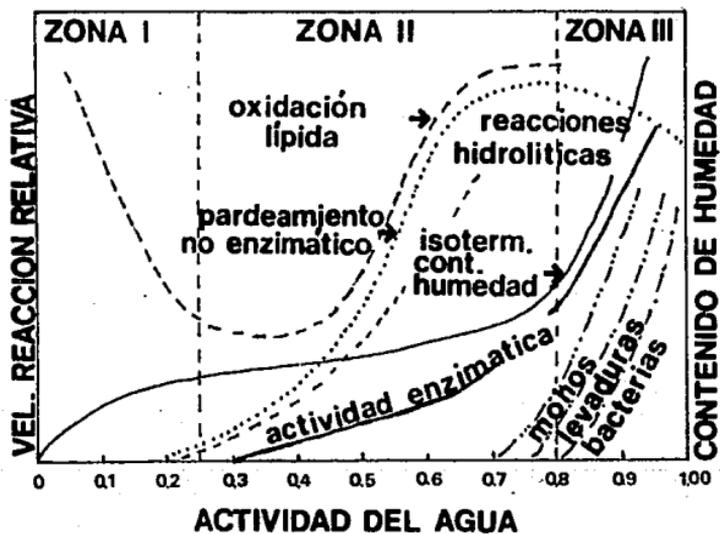
El delineamiento de los límites de las zona I, II y III, depende de la curva de adsorción y dichas zonas, tienen diferentes valores de Aw según el alimento. Dichos límites pueden variar de acuerdo a diferentes factores, principalmente por la temperatura, la humedad aumenta conforme se reduce la temperatura (4,5).

d) Aw y Microorganismos.

Los microorganismos necesitan agua para sus procesos de crecimiento, por lo que la cantidad de agua o humedad contenida en un alimento será el factor de crecimiento de los microorganismos; además que está relacionado con la Aw.

Cada especie de microorganismo parece tener una Aw mínima típica en la cual puede crecer. El rango de Aw en que crecen los microorganismos es de 0.999 a 0.62, aproximadamente. Algunos mohos requieren una Aw menos crítica para su crecimiento, que las bacterias y levaduras que requieren una Aw más alta. (67) En la cuadro No.5 se presentan algunos microorganismos que dañan a los alimentos y su Aw mínimos de crecimiento.

FIG. No.1 VELOCIDADES DE REACCIONES EN FUNCION DE LA Aw.



(Labuza, Institute of Food Technologist).

CUADRO No. 5 NIVELES MINIMOS DE AV QUE PERMITEN EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS (15).

<u>BACTERIAS</u>	<u>AV</u>
Pseudomonas fluorescens	0.97
Clostridium botulinium tipo E	0.97
Escherichia coli	0.95
Bacillus cereus	0.93
Clostridium botulinium tipo A	0.95
Clostridium perfringens	0.93-0.95
Salmonella spp.	0.94-0.95
Clostridium botulinium tipo B	0.94
Enterobacter aerogens	0.94
Vibrio parahaemolyticus	0.94
Listeria monocytogenes	0.93
Bacillus subtilis	0.90
Sthafilococcus aureus (aerobica)	0.86
<u>LEVADURAS</u>	
Saccharomyces cerevisiae	0.90
Debarymoces hansenii	0.83
Saccharomyces bailii	0.80
Saccharomyces rouxii	0.62
<u>MOHOS</u>	
Rhizopus nigricans	0.93
Aspergillius candidus	0.75
A. flavus	0.78
A.. fumigatus	0.82
A. niger	0.77

La reducción de la A_w causa a los mohos una disminución en la germinación de esporas. Las levaduras necesitan más agua que los mohos, pero menos que las bacterias. Cuando se disminuye la A_w abajo de su nivel óptimo, hay un incremento en la fase logarítmica o en el periodo latente, una disminución en el crecimiento. El daño de hongos en los alimentos ocurren más frecuentemente que el daño de las bacterias a niveles de $A_w < 0.85$. Esto no es porque los hongos no puedan crecer a $A_w > 0.85$, pero las bacterias son altamente competitivas a niveles de A_w más altos, así como llegan a ser un tipo predominante de microflora dañina a $A_w 0.85-1.00$. Los hongos son una flora dañina en semillas almacenadas y alimentos de humedad intermedia, y en alimentos que contienen altos niveles de azúcar como: la miel de abeja, jarabes, jaleas, frutas azucaradas (7).

En la industria alimentaria, uno de los medios para controlar la humedad aprovechable para los microorganismos, es el control de la A_w de los alimentos, y así aumentar su vida de anaquel y conservar su valor nutritivo y propiedades organolépticas.

Uno de los métodos para conseguir una reducción de la A_w es la adición de sustancias que posean una gran capacidad de retener el agua, es decir, el uso de los llamados "humectantes" (21). Algunos humectantes más utilizados son: azúcar, sal, glicerol; también se utilizan productos con bajo peso molecular. Debido a las propiedades coligativas, la adición de solutos al alimento reduce la cantidad de agua evaporada, y por lo tanto, su A_w , pues los iones de los solutos atrapan moléculas de agua, secando el medio (4,24).

Algunos humectantes utilizados no solo contribuyen a la disminución de la A_w , sino que también actúan como edulcorantes, saborizantes, etc. (4) Por lo que hay que tomar en cuenta que la concentración de uso no afecte las propiedades organolépticas. En el siguiente capítulo se expondrán otras características de los humectantes.

Cuando existe una alta concentración de solutos (humectantes) afuera que adentro de la célula, se produce el efecto de ósmosis, la deshidratación osmótica propicia una cierta "impregnación" del alimento con soluto (sal o azúcares) de la solución externa (57).

Los humectantes (sal, azúcares, glicerol, etc.), a la misma A_w no actúan de la misma manera, y los microorganismos reaccionan de manera diferente a cada medio. Las reacciones de un microorganismo es determinada por las propiedades de su membrana citoplasmica (62).

La producción de toxinas de algunos microorganismos también está determinada por la A_w , los valores mínimos son un poco superiores a los del crecimiento y pueden ser afectados por otros factores como el pH. La producción de micotoxinas sucede en una A_w entre 0.85 y 0.93 (25). Los valores de A_w limitantes en el crecimiento y producción de toxinas de algunos microorganismos se pueden apreciar en el cuadro No. 6. También existen microorganismos que crecen mejor a valores bajos de A_w , estos son los responsables del daño a los alimentos secos (9). Estos tipos de microorganismos pueden ser llamados según el caso, halofílicos, osmofílicos, xerofílicos. Las bacterias halofílicas tienen un requerimiento específico de altas concentraciones de NaCl de 20-25%, que corresponde a una A_w de 0.80-0.87 (67).

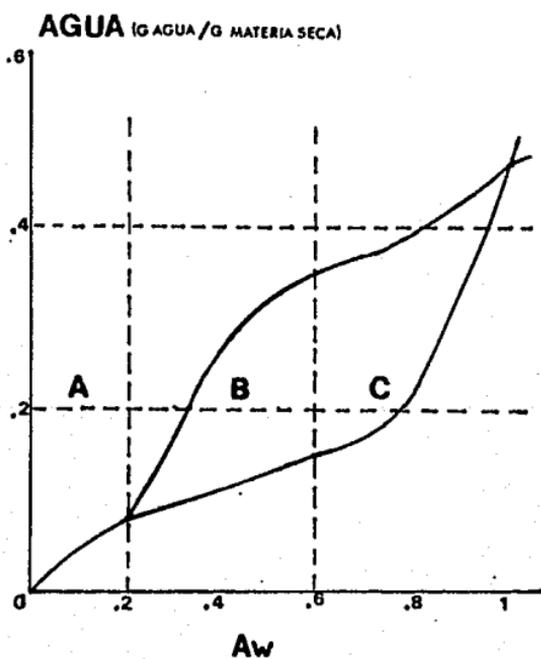
e) Isotermas de Sorción.

La isoterma de sorción de un alimento es la manera de describir la cantidad de agua absorbida como una función de la

CUADRO No. 6 AW Y PRODUCCION DE TOXINAS (72).

MICROORGANISMO	AW PARA LA PRODUCCION DE TOXINAS
<i>Aspergillus clavatus</i>	0.99 (Patulin)
<i>A. flavus</i>	0.83-0.87
<i>A. ochraceus</i>	0.83-0.87 (Ochratoxina) 0.80-0.88 (Ac. penicilínico)
<i>A. parasiticus</i>	0.87 (Aflatoxina)
<i>Bacillus cereus</i>	0.87 (Aflatoxina)
<i>Clostridium botulinum</i>	
Tipo A	0.94-0.95
Tipo B	0.94
Tipo E	0.97
<i>Penicillium cyclopium</i>	0.97 (Ac. penicilínico) 0.87-0.90 (Ochratoxina)
<i>P. expansum</i>	0.99 (Patulin)
<i>P. martensii</i>	0.99 (Ac. penicilínico)
<i>P. patulum</i>	0.85-0.95 (Patulin)
<i>P. viridicatum</i>	0.83-0.95 (Ochratoxina)
<i>Stafilococcus aureus</i>	0.87-0.90 (Enterotoxina A)

FIG. No.2 ISOTERMA DE SORCION



(LABUZA Y COL. 1970).

humedad relativa a la actividad de vapor alrededor del alimento. Esta cantidad de agua es la retenida después de que el equilibrio haya sido alcanzado a una temperatura constante (40). La figura No. 2 muestra una isoterma de sorción típica, la mayoría de los alimentos presentan una forma sigmoide, es decir, tienen forma de "S". La isoterma de desorción es más alta, es decir, contiene mayor humedad que la isoterma de adsorción.

El fenómeno antes presentado se le llama "histéresis", esto ocurre debido a que durante la desorción existen interacciones entre los constituyentes de los alimentos (4), que ocasiona que los capilares se obturen, la superficie interior disminuya o se pierda. Para poder rellenar los capilares será necesario una gran presión parcial de vapor mayor que para su vaciado (5). Otra explicación de dicho fenómeno es que se pierden los puntos de adsorción, y que existe diferencia entre la presión de vapor del agua precisa para llenar y la presión de vapor necesaria para vaciar los capilares de forma irregular (23).

f) Agua Ligada

Aunque el término "Agua ligada" está muy difundido, el agua ligada propiamente no existe. Se considera que el agua está ligada a las proteínas, carbohidratos por fuerzas químicas y físicas, y que está "libre" cuando se encuentra débilmente unida a otras moléculas (4,36).

El agua se escapa libremente de una superficie cuando su presión de vapor es mayor que la presión de vapor de la atmósfera arriba de ella. El agua libre es la más fácil de eliminar y la que se evapora primero. Una parte del agua puede estar retenida flojamente en los sólidos del alimento por las fuerzas de adsorción (57).

El agua más difícil de eliminar es el agua químicamente

coloidales. Pero el agua más difícil de eliminar es el agua químicamente ligada, en forma de hidratos (57). Este tipo de agua está fuertemente unida a sitios específicos, que incluyen grupos hidróxidos de polisacáridos, grupos amino y carbonil de proteínas y otros en los cuales el agua puede unirse por puentes de hidrógeno, uniones dipolares-iónicas, o por otras interacciones fuertes (26).

Existen siete tipos de interacciones físicas entre el agua y los sólidos del alimento:

- 1) Fuerzas de Coulomb (grupos disociados, iones).
- 2) Puentes de hidrógeno (grupos polares).
- 3) Fuerzas de London-van der Waals.
- 4) Efectos estéricos.
- 5) Efectos de solución (solubilidad).
- 6) Cambios de movilidad de los polímeros.
- 7) Condensación capilar.

Las 3 últimas reacciones, son de una naturaleza diferente de las otras (61).

La isoterma BET (Brunauer-Emmet- Teller) ayuda de una manera efectiva para la estimación de la contribución de adsorción en sitios específicos a la unión del agua total. La isoterma BET está basada en suposiciones de la llamada "valor de la monocapa", la cual es considerada como un equivalente a la cantidad de agua absorbida en sitios específicos. La monocapa corresponde del 20-45% del agua no solvente (36)..

La monocapa BET es la máxima estabilidad química, en la que se minimizan reacciones enzimáticas y microbiológicas. Aunque el alimento pierde algunas características importantes sin que esté relacionado con los microorganismos (15). La isoterma BET, sirve para valores de A_w entre 0.1-0.5, o no mayores de 0.7 (36,40).

Ecuación de BET

$$\frac{Aw}{m(1-Aw)} = \frac{1}{m_1 c} + \frac{c-1}{m_1 c} Aw$$

donde: m = cantidad de agua (gH₂O / g sólidos)

m = valor de la monocapa

c = constante (36)

A su vez, existe otra isoterma llamada GAB (Guggenheim-Anderson-Deboen), cuya ecuación es la siguiente:

$$Mo = \frac{N}{(1-K Aw) (1-K Aw + C K Aw)}$$

donde: Mo = monocapa de agua absorbida

C = constante de Guggenheim

K = constante de correlación de las propiedades de las moléculas de la multicapa con respecto al punto de ebullición. (4)

Este modelo puede ser considerado como una extensión del modelo BET multimolecular localizada en un modelo de adsorción homogénea (45). El modelo GAB es de 2 a 3 parámetros, es más ventajoso que el de BET, pues esta isoterma tiene fallas al describir en Aw mayores de 0.5. La isoterma GAB la puede realizar, porque introduce el parámetro K, que es en función de los componentes del alimento. Cuando la constante K tiene un valor aproximado a 1, los valores obtenidos por las isotermas GAB son muy parecidas a las obtenidas por BET (18).

4.3 ALIMENTOS DE HUMEDAD INTERMEDIA

a) Definición.

Los alimentos de humedad intermedia (AHI) ó semihúmedos, son alimentos que contienen una humedad mayor que los alimentos secos, pueden ingerirse sin previa rehidratación, y son estables sin necesidad de refrigeración o esterilización.

La humedad de estos alimentos oscila de 20-50%, y tienen una Aw entre 0.60 a 0.92 (11,68,72,77).

La definición de los alimentos de humedad intermedia fué dada por el Centro Nacional para la Coordinación en Investigación en Alimentos y Nutrición:

"Son productos alimenticios de textura suaves, sujetos a uno ó más tratamientos tecnológicos, consumidos sin una amplia preparación y con una estabilidad de varios meses sin esterilización, sin refrigeración o congelamiento, pero con un ajuste adecuado en sus formulaciones: composición, pH, aditivos, etc., y principalmente Aw, la cual debe ser aproximadamente entre 0.6 y 0.84 (medidos a 25°C.)" (11).

b) Historia

La práctica de reducir la Aw de los alimentos proviene de épocas remotas: la primera técnica fué la deshidratación parcial o total, como lo es el secado al sol, el salado. Este último pudiera ser el primer caso de reducción de Aw por la adición de un soluto (humectante) para remover el agua. El mismo principio fué el uso de azúcares para preservar frutas como las mermeladas o jaleas, pero en este caso, el agua fué también removida por ebullición.

Existen alimentos que se consideran como AHI tradicionales en los que se incluyen productos secos sin humectantes agregados (pasas, ciruelas pasa, dátiles, higos, etc.), productos a los que

se les agrega sal (pescado y carne salada), productos a los que se les agrega sales y azúcares (jamón country) y productos de repostería como los pasteles de frutas y pays rellenos.

En 1965, Burger y Mellentin patentan los alimentos para mascotas, con lo que se da el primer paso en la tecnología para la formulación de los AHI, en los Estados Unidos. La patente básicamente describe una mezcla de carne con ligadores de agua, ambos secos (hojuelas de soya, harina de trigo, glicerol, azúcar y sal). A esta mezcla también se le pueden agregar vitaminas y nutrientes. La aplicación de este tipo de fórmulas para el consumo humano ha sido difícil debido a los sabores desagradables producidos por los humectantes (muy dulce o muy salado) (77).

c) Características.

Los AHI son plásticos, fáciles de masticar y no producen una sensación de sequedad, poseen una gran retención de nutrientes y calidad. Son adecuados para el consumo directo sin preparación. Los AHI por su bajo contenido de humedad, tienen peso y volumen concentrados, y tienen alta densidad de calorías (76).

Son más susceptibles a las reacciones de Maillard que los alimentos secos pero menos a la oxidación de lípidos, si no se toman las precauciones para inactivar las enzimas, pueden ser susceptibles a una gran variedad de reacciones enzimáticas (12).

d) Tipos de AHI.

Existen tres clases de AHI: aquellos que se consumen como están, aquellos que se le añade agua para consumirlos, y aquellos que para consumirlos se les extrae agua. La mayoría de los AHI tradicionales se clasifican en la primera categoría. Son fáciles de llevar y no requieren preparación, tienen viscosidad y textura crujiente.

e) Tecnología de los AHI.

A) HUMECTANTES

Uno de los métodos para conseguir una reducción de la A_w y, por lo tanto, para prolongar la conservación de un alimento, a valores del rango de los AHI; es la adición de sustancias que posean una alta capacidad de retención de agua ("humectantes") (11,25).

Los humectantes son materiales de baja A_w , pero que permiten a los productos retener sus propiedades humectantes y le dan una textura plástica. Los humectantes se pueden clasificar como sales (minerales y orgánicas), azúcares, polioles y derivados de proteínas.

La efectividad de un humectante en disminuir la A_w depende de su habilidad para disminuir la fracción molar del agua, así como la interacción y alteración de la estructura del agua en el alimento (73).

Cuando la A_w disminuye por solutos, los mismos solutos pueden tener efectos que compliquen el efecto de A_w (25). Aumentan el punto de ebullición del agua y bajan el de congelamiento, lo cual dependerá del peso molecular del soluto y de su concentración. Disminuye la presión de vapor del alimento y se reduce la facilidad del agua para actuar como disolvente en reacciones dañinas (11).

Otros efectos de la adición de solutos son:

- * Interacción célula-molécula.
- * Aumento de viscosidad.
- * Aumento de las constantes dieléctricas.
- * Aumento de la solubilidad del oxígeno. (11)

Algunos problemas de los humectantes es que tienen características desagradables en concentraciones requeridas para controlar la A_w . La posibilidad más atractiva es la combinación de

sal y glicerol. Este tiene un sabor menos marcado que la glucosa o sacarosa y es el más difundido (12).

En la elaboración de AHI, frutas, postres y carnes dulces se usan humectantes como sacarosa, miel de maíz, sorbitol y dextrosa, cuyo dulzor no afecta el sabor del producto final (33).

Además de agregar humectantes también se añaden antimicrobianos, para inhibir el crecimiento de hongos y levaduras. (12).

Un buen humectante debe tener las siguientes características:

- a) bajo peso molecular
- b) miscibilidad o alta solubilidad en agua
- c) no tóxico
- d) actividad antimicrobiana y antibacteriológica
- e) baja reactividad química
- f) compatibilidad con las características fisicoquímicas del alimento (pH, estructura y textura)
- g) compatibilidad con las características organolépticas del alimento, es decir, insípido o poco sabor a las concentraciones de uso
- h) que no aporte calorías, o con un alto valor nutritivo
- i) acción sinérgica con otros humectantes
- j) incoloro
- k) efectivo a concentraciones razonables
- l) bajo costo
- m) aprobado por las agencias reguladoras. (73,75)

Con excepción de la última característica, ninguno de los humectantes reúne todas las demás, por lo que hay que considerar el uso de dos o más solutos para obtener el resultado deseado.

B) METODOS DE PRODUCCION

Existen varias técnicas de producción de AHI, que son

las que se presentan a continuación.

- 1) Secado Parcial.- Se usa sólo si los materiales iniciales son naturalmente ricos en humectantes. En este caso se encuentran las frutas secas y el jarabe de maple. La Aw de estos productos es de 0.6 a 0.8.
- 2) Infusión Húmeda.- Las piezas sólidas de alimento de humedad normal, se empapan en una solución de agua-humectantes con una Aw baja. Las piezas son cocinadas o remojadas en la solución. Se obtienen un producto con la Aw deseada. Este método es utilizado en la fabricación de dulces de frutas.
- 3) Infusión Seca.- El alimento ya deshidratado se empapa en una solución agua-humectante con la Aw deseada. Este proceso requiere una energía más intensa que los otros, pero da como resultado productos de gran calidad.
- 4) Mezclado.- Consiste en pesar en proporciones requeridas, y mezclar los ingredientes: alimento, humectantes y aditivos. seguido de un cocimiento, extrusión u otro tratamiento que da como resultado un producto con una Aw deseada. Este método es rápido y con eficiencia de energía, y ofrece gran flexibilidad en la formulación. Y es usada en la fabricación de AHI tradicionales (confituras) y novedosos (alimentos para mascotas).

(11,22,73)

f) Estabilidad microbiana.

La mayoría de los microorganismo patógenos son inhibidos en el rango de Aw (0.6-0.92) que abarcan los AHI. Si la Aw es el único factor que se utiliza para preservar el alimento es necesario disminuir la Aw a menos de 0.6, no habrá crecimiento

microbiano, pero existe riesgo de que crezcan mohos xerofílicos y levaduras osmofílicas.

También hay que tomar en cuenta que la contaminación del alimento puede ocurrir durante la formulación o antes de disminuir la Aw. Por lo que es necesario una buena higiene en la fabricación de los alimentos (11).

g) Estabilidad Fisicoquímica.

El efecto de la Aw en las velocidades de reacciones de deterioro en los alimentos, ya se mencionaron. Dichas reacciones son mínimas en valores menores al rango de humedad intermedia. Con lo que los AHI están afectados principalmente por las reacciones de oxidación y por las de oscurecimiento no enzimático, pues las reacciones enzimáticas son inhibidas por la inactivación de enzimas.

Para evitar la oxidación de lípidos se usa un envasado al vacío o agregando antioxidantes. El oscurecimiento no enzimático se puede disminuir usando azúcares reductores y aminoácidos como humectantes. Otros métodos son: disminuir el pH, mantener bajas temperaturas de almacenamiento y añadiendo sulfitos (11,73).

Los humectantes poseen propiedades plásticas. Algunos exhiben cambios en la textura, usualmente en Aw 0.3-0.5, otros presentan tendencias graduadas cuando la Aw se incrementa o disminuye. A Aw de 0.80-0.85 tienen propiedades sensoriales normales. Las frutas y los vegetales generalmente retienen su color, textura y apariencia cercana a la normal (11,22).

h) Ventajas.

Los AHI son relativamente bajos en humedad y por lo tanto, tienen una gran concentración en peso, volumen y calorías. Como son plásticos, se pueden moldear en bloques cohesivos o barras

geométricas uniforme que facilite el empaque y el almacenamiento; características necesarias en un alimento para el Ejército, Marina y Fuerza Aérea, así como en los viajes espaciales.

A diferencia de los productos secos congelados, los AHI son más aceptables para el consumo directo, pues no deja la sensación de sequedad. Su textura está más cercana a la normal que las de los alimentos deshidratados (13).

La tecnología de AHI, es una gran opción para aquellos países tercermundistas que no tienen una tecnología desarrollada, y no tienen los suficientes recursos económicos, pero que contienen abundante mano de obra.

La mayoría de los países subdesarrollados tienen gran producción de frutas y vegetales; la ausencia de modernos medios de cosecha, traslado y almacenamiento, provoca grandes pérdidas debido principalmente, a las altas temperaturas ambientales, a la humedad y a las prácticas no higiénicas.

4.4 METODOS COMBINADOS

a) Definicion.

La tecnología de métodos combinados fué definida por Brimelow en 1985 como aquella en la que la vida de anaquel de un alimento con respecto a los microorganismos, es extendida por el uso de dos o más factores, ninguno de los cuales individualmente es suficiente para inhibir el daño (20).

b) Efecto de obstaculo.

El efecto de obstaculo fué introducido por Leistner y Rödel en 1976 (41), para ayudar al desarrollo de productos del tipo AHI.

En la figura No.3 se ilustra el principio de los obstáculos y representa a un alimento con 6 barreras (calor, congelamiento, Aw acidificación, potencial redox, conservadores). Los microorganismos presentes no pueden "saltar" todos los obstáculos y el alimento se mantiene a salvo y estable.

En la figura No.4 se ilustra la diferente intensidad de los obstáculos, en este caso, el alimento esta conservado principalmente por la Aw y por los conservadores, las barreras adicionales son la temperatura de almacenamiento, el pH y el potencial redox.

En la figura No. 5 se ilustra el "efecto de trampolín", esto es, que en el alimento existe gran cantidad de vitaminas y nutrientes que permiten que los microorganismos puedan "saltar" varias barreras, que propicie la descomposición de dicho alimento.

El tamaño o intensidad de las barreras dependera de la carga microbiana y del producto. La secuencia de dichas barreras deben seguir un orden, pues durante el almacenamiento pueden desarrollarse o desvanecerse.

FIGURAS No. 3, 4 y 5 EFECTO DE OBSTACULOS (40).

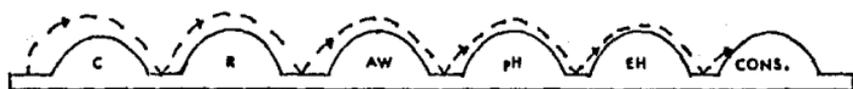


FIG. NO. 3

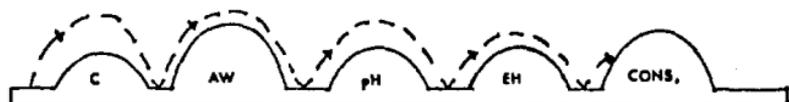


FIG. NO. 4



FIG. NO. 5

C=PROCESO TERMICO, R=REFRIGERACION, AW=ACTIVIDAD DE AGUA,
pH=ACIDIFICACION, EH=POTENCIAL REDOX, CONS.=CONSERVADORES,
V=VITAMINAS, N=NUTRIMENTOS.

Leistner puntualizó que el efecto de obstáculo es de importancia para la preservación de un alimento pues este concepto sólo ilustra que interacciones de pH, Aw y temperatura, son significativas en la estabilidad microbiana de un alimento.

El uso combinado de dos o más obstáculos permite que no se use uno solo en cantidades excesivas. Ya que en muchos casos el reducir la Aw no llega a ser un obstáculo suficiente que provea la estabilidad contra los microorganismos (40).

c) Obstáculos o barreras.

- Temperatura:

Alta.- Esterilización, pasteurización, etc.

Baja.- Refrigeración, congelación.

- pH

- Actividad de Aw (Aw)

- Conservadores

- Microflora competitiva

- Radiación (rayos γ) (2,25,29,40)

Las técnicas de métodos combinados se han utilizado en muchas formulaciones alimenticias tradicionales y nuevas que se presentan en el cuadro No. 7.

d) Sinergismo.

A nivel comercial, la estabilidad de un alimento no depende exclusivamente de la reducción de la Aw (7). Ahora bien, el efecto de la Aw sobre los microorganismos está influenciado por el pH, nivel de oxígeno, temperatura, elementos nutritivos, y agentes conservadores (25). El uso combinado de estos factores produce un "stress" en el medio, que disminuye el crecimiento microbiano. Este efecto se observa en la figura No. 6.

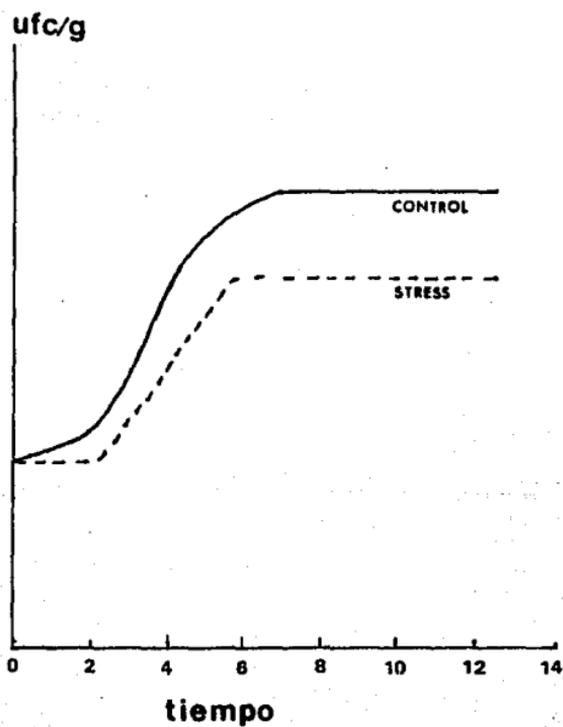
CUADRO No. 7 PRODUCTOS CONSERVADOS POR METODOS COMBINADOS (11).

Producto	Barreras utilizadas							
	T	Aw	t	pH	P	O	Eh	R
Tradicionales								
Jamones	x	*	-	*	+	-	+	-
Conservas ácidas	x	*	-	*	x	+	+	-
Yoghurts	-	-	*	*	-	*	-	-
Carnes curadas	-	*	+	-	*	-	*	-
Alimentos preparados								
congelados	x	x	*	x	-	-	*	-
Nuevos								
Sopas, salsas y bebidas								
conc. semi-congeladas	-	*	*	x	-	-	-	-
Frutas conservadas	x	x	-	*	x	-	-	-
Vegetales	x	*	-	x	-	-	x	-

*=Barrera principal. x=Barrera adicional o menor. +=Barrera pequeña o usada ocasionalmente. -=Barrera que no se usa.

T=TRATAMIENTO TERMICO, Aw=DISMINUCION DE ACTIVIDAD DE AGUA, t=CONGELADO, pH=DISMINUCION DE pH, P=ADICION DE CONSERVADORES, O=PRESENCIA DE MICROFLORA COMPETITIVA, Eh=DISMINUCION DE TENSION DE OXIGENO, R= RADIACION

FIG. No.6 EFECTO DEL STRESS EN EL
CRECIMIENTO MICROBIANO (73).



El calor interacciona directamente con la A_w , a valores de A_w altos, limitará el crecimiento, así como, son aprovechadas las temperaturas máxima y mínima para dicho crecimiento.

La interacción del pH con la A_w se puede apreciar en la figura No. 7. Cuando disminuye el pH aumenta el valor de A_w , disminuye el crecimiento bacteriano y alargamiento de la fase logarítmica, reduce la resistencia térmica, y aumenta la fracción no disociada de los conservadores (15).

La A_w mínima en la que puede existir crecimiento es menor en condiciones aeróbicas que anaeróbicas para esos microorganismos que crecen facultativamente.

Se ha venido promoviendo el uso de sacarosa, NaHSO_4 y sorbato de potasio para la conservación de frutas, otro proceso es el uso de sacarosa y químicos. Se cree que estos métodos provocan una alteración en los tejidos que permite la penetración del humectante y del conservador, lo cual al mismo tiempo mantiene una textura agradable (7).

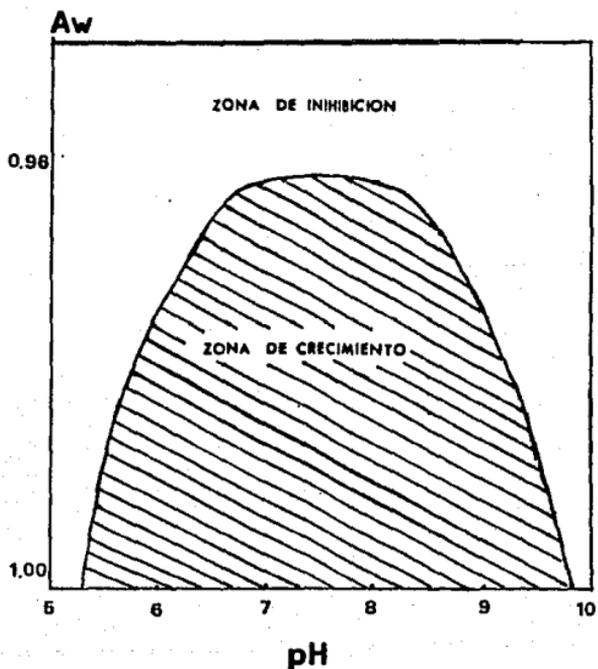
Uno de los métodos más usados en la elaboración de AHI, es el uso de un humectante (glicerol) y un antimicrobiano (sorbato de potasio) que previene el crecimiento de hongos (25). Los conservadores antimicrobianos se deben utilizar a pH favorables, que les permita estar en mayor proporción, en estado no disociado.

Para que un AHI mantenga una agradable textura, debe tener una A_w de 0.80 a 0.85, por lo que es deseable que un humectante también tenga propiedades antimicrobicas, de hecho, ya existen algunos como el glicol, 1,3-butanodiol y propilenglicol (7).

e) Azúcares.

Los azúcares como la sacarosa y glucosa, son compuestos que captan humedad, y en consecuencia, dan lugar a un efecto adverso sobre los microorganismos; pues esta agua no puede ser utilizada

FIG. No.7 EFECTO DE LA A_w Y DEL pH SOBRE EL CRECIMIENTO MICROBIANO (77).



por ellos. Estos azúcares tienen efecto osmótico (25). La sacarosa es un azúcar no reductor, ya que no tiene ningún carbonilo libre. La sacarosa se hidroliza en presencia de ácido diluido y de la enzima invertasa para dar una mezcla equimolar de glucosa y fructuosa que se conoce como azúcar invertido. Cuando la sacarosa se emplea en la preparación de alimentos ácidos puede existir un cierto grado de inversión que aumenta la dulzura del producto final.

La glucosa es un azúcar reductor (monosacárido), y se encuentra en forma abundante en diferentes frutas y vegetales, y su concentración depende básicamente del grado de madurez del producto (5).

f) Acido sorbico.

El ácido sórbico, así como sus sales cálcicas, sódicas o potásicas inhiben a las levaduras y mohos, aunque su efectividad es menor frente a las bacterias. A valores altos de pH son más activos, presentando un pH máximo para su utilización de 6.5 aproximadamente, ya que la molécula sin disociar es más efectiva que la disociada. Estos compuestos son más eficaces que el benzoato de sodio a pH superior a 4.0. Su efecto fungicida sobre hongos y levaduras se encuentra a pH 4.5 (25). La concentración máxima permitida es de 0.1%, (12,25).

V. MATERIALES Y METODOS

V. MATERIALES Y METODOS

5.1 EQUIPO.

- Balanza analítica SARTORIUS, modelo 21432, No. de serie 163032.
- Balanza semi analítica OHAUS, modelo B1500D, No. de serie 10243.
- Balanza granataria METTER, modelo PC 800, No. de serie SNR B37571.
- Cámara ambiental de temperatura y humedad relativa controlada HOTPACK, modelo 317530, No. de serie 236291.
- Cámara de refrigeración con controles de humedad y temperatura HOTPACK, modelo 317532, No. de serie 67529.
- Estufa de secado al vacío PRECISION SCIENTIFIC, modelo 19, No. de serie 27AL/12.
- Estufa RIOSSASERNE, modelo Asme, No. de serie THELCO 21-AB-12.
- Espectrofotómetro SHIMADZU, modelo UV-120 A, No. de serie 1181667.
- Higrómetro electrónico Thermoconstanter Humidat TH2/TH1, NOVASINA AG, modelo TH/THD, No. de serie 461.
- Higrómetro electrónico DECAGON CX-1, No. de serie 1089311.
- Incubadoras LAB-LINE Instruments, Inc., V.I.P. CO₂, modelo 417. No. de serie 125 L.
- Mezcladora HOBART, modelo C-100, No. de serie 11-282-696.
- Material común de laboratorio.
- Parrilla eléctrica con agitador magnético, SYBRON/THERMOLINE, modelo SPA 1053, No. de serie 27340505.
- Potenciómetro digital CORNING, modelo 125.
- Procesador de alimentos OSTERIZER.

5.2 MATERIA PRIMA.

- Zapote negro (*Diosyros ebenaster*) originario del estado de Michoacán.
- Sacarosa (azúcar comercial).
- Glucosa de Maíz, de marca "Almidones Mexicanos, S.A.", de 43° Be.

5.3 REACTIVOS.

Se utilizaron reactivos analíticos para realizar los diferentes análisis físicoquímicos y microbiológicos.

5.4 MÉTODOS.

5.4.1 Actividad de Agua (Aw)

La actividad de agua (Aw) de la muestra se midió experimentalmente con un higrómetro electrónico (Novasina AG) y con un higrómetro electrónico de punto de rocío (Decagon C-1), a una temperatura de 25°C, dejando la muestra dentro del aparato hasta que alcanzara el equilibrio.

5.4.2 Acido Sorbico.

El ácido sórbico de la muestra se determinó por el método de Schimidt modificado. Esta técnica se basa en la conservación del sorbato a ácido sórbico, su oxidación a un monoaldehído en solución ácida de dicromato de potasio que al reaccionar con el ácido tiobarbitúrico se forma un compuesto rojo que se lee en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 530 μm (52).

5.4.3 Humedad.

La humedad de la muestra se determinó gravimetricamente al secarla en una estufa de vacío a 70°C y 1.05 Kg/cm² (15 inHg) de presión durante 5 horas (45).

5.4.4 pH.

Para determinar el pH de la muestra se diluyó 30 gr de la misma en 200 ml de agua, se aforó a 1000 ml y se calentó por 60 minutos, reemplazando el agua perdida por la evaporación. La muestra se enfría y se afora a 1000 ml. El pH se mide directamente con un potenciómetro previamente calibrado con soluciones buffer de pH 4 y 7 (58).

5.4.5 Acidez Titulable.

La acidez titulable de la muestra fue determinada con solución 0.1 N de hidróxido de sodio y fenolftaleína como indicador. Calentando previamente durante una hora la muestra según referencia. La acidez se reportó como porcentaje de ácido cítrico, siendo su equivalente = 70 (58).

5.4.6 Azúcares Reductores Directos y Totales.

Los azúcares reductores directos y totales se obtuvieron por el método de Lane y Eynon (58).

5.4.7 Análisis Microbiológicos.

* 4.7.1. *Cuenta Total (Cuenta estandar)*

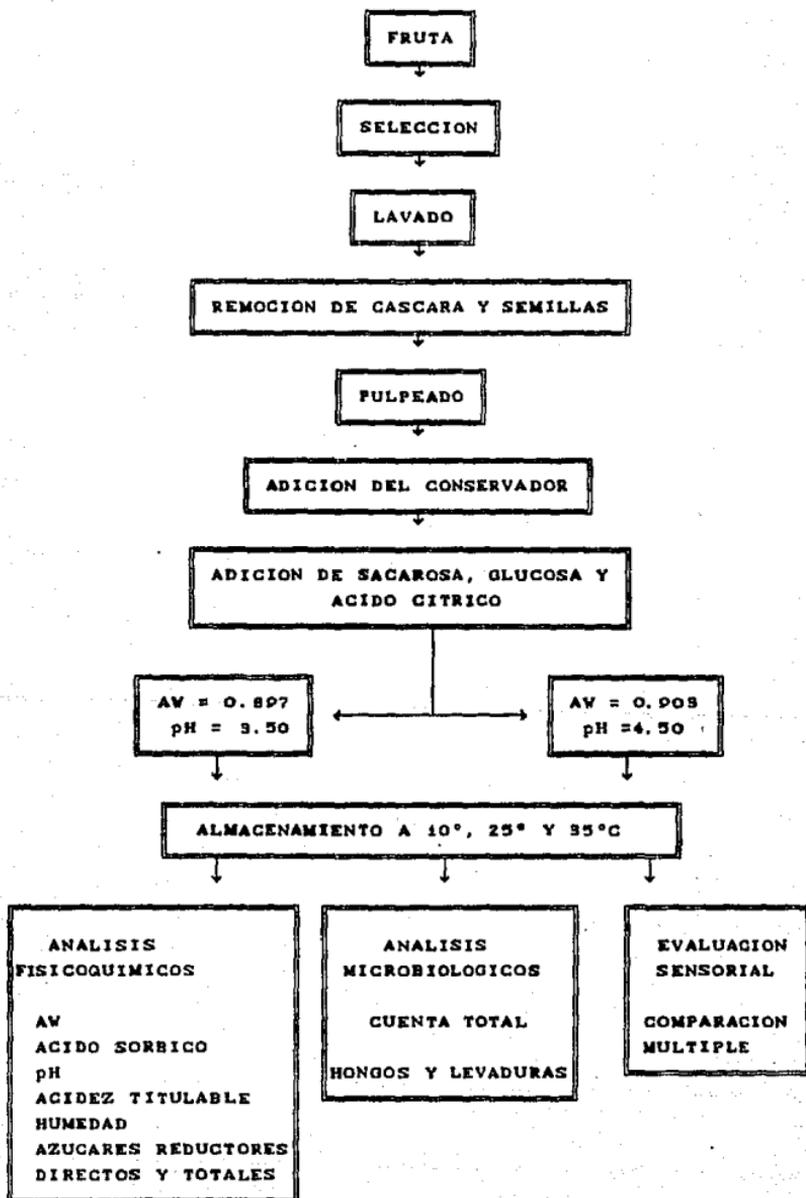
El medio Agar para métodos estandar fórmula APHA, Bioxon, y el material y el medio se esterilizó en autoclave a 1.05 Kg/cm^2 (15 inHg) durante 15 minutos. Se sembraron 3 diluciones: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} por duplicado y se incubaron a 35°C , el crecimiento se lee a las 48 horas de incubación.

* 4.7.2. *Hongos y Levaduras*

El medio (Agar dextrosa y papa) y el material se esterilizó en autoclave a 1.05 Kg/cm^2 durante 15 minutos. Se sembraron 3 diluciones: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} por duplicado. Las muestras se incubaron a 28°C , el crecimiento de levaduras se observa a las 72 horas de incubación y los hongos se observa su crecimiento a los 5 días (47).

En el diagrama de flujo mostrado en la figura No.8 se da la secuencia del trabajo experimental que se siguió para la obtención de la pulpa de zapote negro.

FIGURA No. 8 DIAGRAMA DE FLUJO.



5.5 METODOLOGIA

El trabajo experimental consistió en la elaboración de pulpa de zapote negro. A dicha pulpa se le aplicó la tecnología de los métodos combinados y se utilizaron las siguientes barreras:

- disminución de la actividad de agua
- disminución del pH
- uso de conservador

Se utilizaron 50 Kg aproximadamente de zapote negro originario del estado de Michoacán, que se compraron en la Central de Abasto de Iztapalapa, D.F.

La fruta fué seleccionada de acuerdo a la textura del fruto y del color de la cáscara; es decir, según su madurez. Los zapotes maduros se utilizaron para hacerlos pulpa; los zapotes verdes se almacenaron hasta que maduraran y así poder utilizarlos.

Los zapotes negros maduros se lavaron con agua corriente; después se procedió a la remoción de la cáscara y de las semillas, que se hizo de forma manual. El pulpeado de la fruta se realizó en un procesador de alimentos con el fin de que la pulpa fuera homogénea.

A la pulpa de zapote negro, ya homogenizada, se le practicaron ciertos análisis fisicoquímicos. Una vez hechos dichos análisis, a la pulpa de zapote negro se le agregó 1.0% de sorbato de potasio como conservador. La pulpa se almacenó hasta su utilización en envases de plástico de cierre hermético a una temperatura de 8 °C.

Se procedió a bajar la actividad de agua (Aw) de la pulpa de zapote negro con dos agentes depresores: sacarosa y glucosa. Se realizaron varias formulaciones de pulpa de zapote negro con sacarosa hasta obtener productos con una actividad de agua de 0.85, 0.90 y 0.95 aproximadamente. También se realizaron varias

formulaciones de pulpa de zapote negro con glucosa hasta obtener los mismos valores de actividad de agua antes mencionados.

Los cálculos para las formulaciones se realizaron con la ecuación de Norrish:

$$\ln A_w = \ln x_w + i(-k_1)^{1/2} x_1 + (-k_2)^{1/2} x_2 + \dots i$$

donde: $-k_1, k_2 \dots$ son los coeficientes binarios y $x_1, x_2 \dots$ son las fracciones molares de los solutos (51).

CUADRO No. 8 VALORES DE LA CONSTANTE -K
PARA SOLUCIONES BINARIAS DE NO ELECTROLITOS.

SOLUTO	-k
Glicerol	1.16
Sorbitol	1.65
Glucosa	2.25
Fructuosa	2.25
Sacarosa	6.47

A su vez se elaboraron varias formulaciones con diferentes concentraciones de glucosa con sacarosa; para obtener los mismos valores de A_w : 0.85, 0.90 y 0.94.

Los cálculos para las fórmulas de pulpa de zapote negro y combinaciones de sacarosa y glucosa se realizaron con la ecuación de Ross: $A_w = (a_w)_1 \dots (a_w)_n$

donde: $(a_w)_1 \dots (a_w)_n$ son las actividades de agua de cada componente (64).

A las fórmulas con combinaciones de sacarosa y glucosa se les adicionó ácido cítrico para disminuir el pH a 3.5, 3.0 y 2.5. A dichas formulaciones se les practicó análisis microbiológicos:

hongos y levaduras, cuenta total; para seleccionar el mejor tratamiento.

Las formulaciones escogidas se observan en el cuadro No.9.

Se elaboraron dos lotes, uno con pH 3.5 y una Aw de 0.897 y otro con pH 4.5 y una Aw 0.903. Ambos se almacenaron en recipientes de plástico con tapa a presión y con una capacidad de 2 Kg, durante 3 meses y a 3 temperaturas: 10 , 25 y 25 C.

CUADRO No. 9 FORMULACIONES SELECCIONADAS.

	pH 3.5	pH 4.5
Pulpa de zapote	48.49%	48.49%
Sacarosa	32.04	32.49
Glucosa	18.17	18.62
Ac. Cítrico	1.30	0.40

A estos lotes se les practicaron cada 15 días los siguientes análisis fisicoquímicos: humedad, azúcares reductores directos y totales, pH, acidez titulable. También cada 15 días se practicaron análisis microbiológicos: cuenta total, hongos y levaduras.

Cada mes se analizó actividad de agua (Aw) y ácido sórbico (sorbato).

A los 90 días de almacenamiento, es decir, al final del mismo, a los lotes se les practicó una evaluación sensorial mediante una prueba de comparación múltiple, para analizar el efecto del almacenamiento sobre el producto. Para este fin, se utilizó el formato que se presenta en el cuadro No.10.

La presentación de las pulpas para el análisis sensorial fue en agua fresca que contenían la siguiente formulación:

1000 ml de agua

250 g de pulpa de humedad intermedia

La muestra patrón se realizó con pulpa fresca de zapote negro, siguiendo la formulación anterior. La evaluación sensorial se realizó con la ayuda de 50 jueces no entrenados.

Una vez hecho la evaluación sensorial se procedió a aplicarle un análisis de varianza, tomando como base el agua de la fruta fresca y como variables el sabor a zapote, el dulzor y la acidez de las formulaciones. Dicho análisis se realizó para conocer según la clasificación de los jueces, que formulación estaba más parecida a la fruta fresca.

A los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos durante el almacenamiento se les practicaron análisis de varianza para conocer si el pH inicial, la temperatura y/o el tiempo de almacenamiento, tienen influencia en cada parámetros analizados. También a los resultados de la evaluación sensorial se les practicó análisis de varianza.

CUADRO No. 10 FORMATO PARA EVALUACION SENSORIAL.

COMPARACION MULTIPLE

Nombre: _____ Fecha: _____

Producto: _____

Instrucciones:

Pruebe la muestra patrón (P) y califíquela según las características señaladas, marcando con una raya en la escala.

Después pruebe las otras muestras, compárelas con la muestra patrón y marque en la escala.

Nota: Indique a que muestra corresponde cada marca.

Sabor a zapote: |-----|
Dulzor: |-----|
Acidez: |-----|
desagradable | agradable

Comentarios: _____

VI. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

VI. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

6.1 ANALISIS PRELIMINARES

A la pulpa de zapote negro fresca y homogenizada, se le practicaron análisis fisicoquímicos y microbiológicos. Estos resultados se presentan en el cuadro No. 11.

La finalidad de éste análisis es conocer, principalmente, el porcentaje de azúcares reductores (directos y totales) así como el pH del zapote negro fresco para su subsecuente disminución según lo deseado.

Las formulaciones realizadas de pulpa de zapote negro con glucosa y sacarosa para obtener los valores deseados de Aw (0.85, 0.90 y 0.95), se presentan en el cuadro No. 12.

CUADRO No. 11 ANALISIS DE LA MATERIA PRIMA

COMPOSICION DE LA PULPA FRESCA DE ZAPOTE NEGRO	
HUMEDAD (%)	80.34
pH	6.13
ACIDEZ TITULABLE (% ACIDO MALICO)	0.525
AZUCARES REDUCTORES	
DIRECTOS (%)	11.94
AZUCARES REDUCTORES	
TOTALES (%)	19.17
No. DE COLONIAS	NEG.

CUADRO No. 12 FORMULACIONES DE PULPA DE ZAPOTE NEGRO CON SACAROSA Y CON GLUCOSA.

Aw	%Zapote negro	%Sacarosa	Aw	%Zapote negro	%Glucosa
0.856	41.20	58.80	0.856	30.80	69.20
0.897	55.90	44.10	0.899	33.80	66.20
0.956	63.90	16.10	0.948	53.50	46.50

Los valores de la Aw son aproximados a los deseados, pero se consideraron buenos. Las formulaciones de pulpa de zapote negro con combinaciones de sacarosa y glucosa, se presentan en el cuadro No. 13.

CUADRO No. 13 COMBINACIONES DE GLUCOSA Y SACAROSA CON ZAPOTE.

Aw	% ZAPOTE NEGRO	% SACAROSA	% GLUCOSA
0.853	37.20	33.50	29.30
0.849	30.70	25.00	44.30
0.897	42.90	17.30	39.80
0.906	47.80	33.00	19.20
0.940	44.40	5.40	39.00
0.942	54.90	6.50	38.60

En las formulaciones con las combinaciones de sacarosa y glucosa se obtuvieron los valores de Aw de 0.85, 0.90 y 0.94. Este último es debido a que la Aw del zapote negro es de 0.973. De estas formulaciones a su vez, se seleccionó la que contenía la Aw de 0.906 por la del punto intermedio de los valores de Aw considerados. Acto seguido se le agregó a la formulación ácido cítrico para disminuir el pH a 3.5, 3.0 y 2.5. (Cuadro No. 14).

CUADRO No. 14 FORMULACIONES CON pH 3.5, 3.0 Y 2.5, APROXIMADAMENTE.

Aw	pH	% ZAPOTE NEGRO	% SACAROSA	% GLUCOSA	% AC. CITRICO
0.863	3.57	38.80	32.20	28.00	1.00
0.857	3.20	38.80	31.80	27.70	1.70
0.853	2.59	38.80	30.00	25.90	5.30
0.898	3.58	48.50	32.00	18.20	1.30
0.894	3.17	51.60	31.60	17.80	2.20
0.893	2.54	48.50	29.40	15.50	6.60
0.942	3.55	52.70	6.50	38.60	2.20
0.938	3.23	55.80	4.80	36.90	2.50
0.940	2.54	55.80	2.20	34.35	7.65

A las formulaciones antes mencionadas se le realizó los análisis microbiológicos de hongos y levaduras y cuenta total. Los resultados fueron negativos. Se observó que los valores del pH 3.0 y 2.5 enmascaraban el delicado sabor del zapote negro, por lo que se decidió fijar el pH de las fórmulas a 3.5 y 4.5.

VIDA DE ANAQUEL

Los resultados de los análisis practicados durante el almacenamiento fueron los siguientes:

6.2 ANALISIS FISICOQUIMICOS

6.2.1. Actividad de Agua (Aw)

Al inicio del almacenamiento, es decir, recién preparadas las formulaciones, éstas tenían los valores de Aw aproximados al 0.90 (0.897 y 0.903 con pH 3.5 y 4.5 respectivamente). Durante el almacenamiento, específicamente los primeros 30 días, los valores mencionados disminuyeron aproximadamente a 0.86. Este

comportamiento se presentó en las dos formulaciones y en las 3 temperaturas de almacenamiento (10°, 20° y 35°C).

Este comportamiento puede deberse a que los componentes de la pulpa del zapote negro entraron en equilibrio con los agentes depresores, ya que después de haber alcanzado el valor de 0.86 (aproximadamente), la Aw de ambas formulaciones y en las 3 temperaturas se mantuvieron prácticamente constantes.

En las figuras No. 9 y 10 se pueden apreciar el seguimiento de la Aw de la pulpa con pH 3.5 y 4.5, respectivamente. Los resultados del análisis de varianza practicados se presentan en el cuadro No.15.

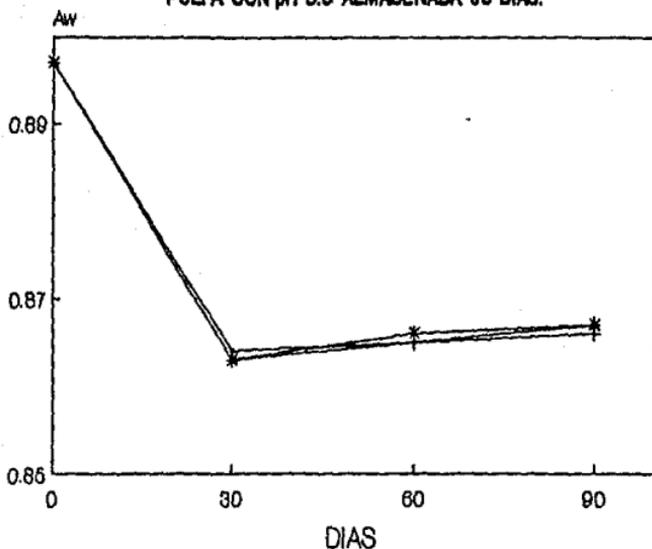
CUADRO No. 15 ANALISIS DE VARIANZA DE AV.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F CAL	P
Fórmula	0.0005636	1	0.0005636	1.480	0.2404
Temp.	0.0011070	2	0.0005535	1.454	0.2613
Días	0.0102541	3	0.0034180	8.977	0.0009
Error	0.0064729	17	0.0000038		

6.2.2. Acido Sorbico

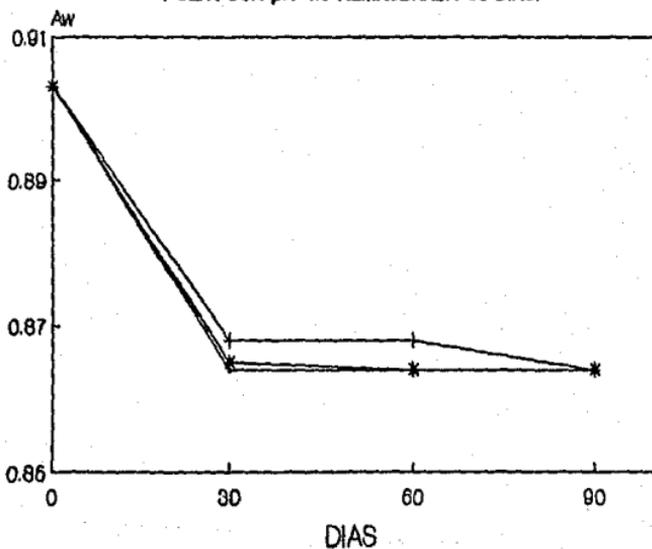
El comportamiento del ácido sórbico (sorbatos) en ambas pulpas fué muy parecido, va disminuyendo durante el almacenamiento en forma gradual. Dicho comportamiento se presentó a las 3 temperaturas de almacenamiento. El análisis de varianza practicada dió como resultado una ligera influencia del pH inicial hacia los sorbatos, ya que hay una mayor pérdida de éste, en las formulaciones con pH 4.5 (1890 ppm aproximadamente), que en la que tiene un pH 3.5 (1250 ppm aproximadamente). También es influencia por las temperaturas de almacenamiento, debido a que a mayor temperatura mayor pérdida de ácido sórbico (8,29).

FIG. No.9 COMPORTAMIENTO DE LA AW EN LA PULPA CON pH 3.5 ALMACENADA 90 DIAS.



— T=10°C + T=25°C * T=35°C

FIG. No.10 COMPORTAMIENTO DE LA AW EN LA PULPA CON pH 4.5 ALMACENADA 90 DIAS.



— T=10°C + T=25°C * T=35°C

El comportamiento del ácido sórbico se puede observar en las figuras No. 11 y 12.

6.2.3. pH

El comportamiento del pH de la formulación con un pH inicial de 3.5 difiere un poco de la fórmula con pH 4.5. En la primera el pH tiende a subir un poco y sigue prácticamente constante. En la segunda tiende a bajar y también se comporta prácticamente constante. El comportamiento de ambas formulaciones puede deberse a que al inicio del almacenamiento se produjeron algunas reacciones químicas, microbiológicas, etc.

El análisis de varianza da como resultado una influencia del pH inicial hacia el comportamiento del mismo en las pulpas durante su vida de anaquel. Aunque dicho análisis indican que las temperaturas y los días del almacenamiento, no tuvieron influencia alguna sobre el pH, con los resultados se puede apreciar que sí la afectaron, aunque ligeramente.

En las figuras No.13 y 14 se observa el comportamiento del pH de las formulaciones, y en el cuadro No.16 se observan los resultados del análisis de varianza.

CUADRO No. 16 ANALISIS DE VARIANZA. DEL pH.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F CAL	P
Fórmula	8.6314667	1	8.6314667	1000.000	.0000
Temp.	.0063048	2	0.0031524	1.150	.3293
Días	.0204962	6	0.0034159	1.246	.3094
Error	.0876952	32	0.0027405		

FIG. No.11 COMPORTAMIENTO DEL ACIDO SORBICO EN LA PULPA CON pH 3.5 ALMACENADA 90 DIAS.

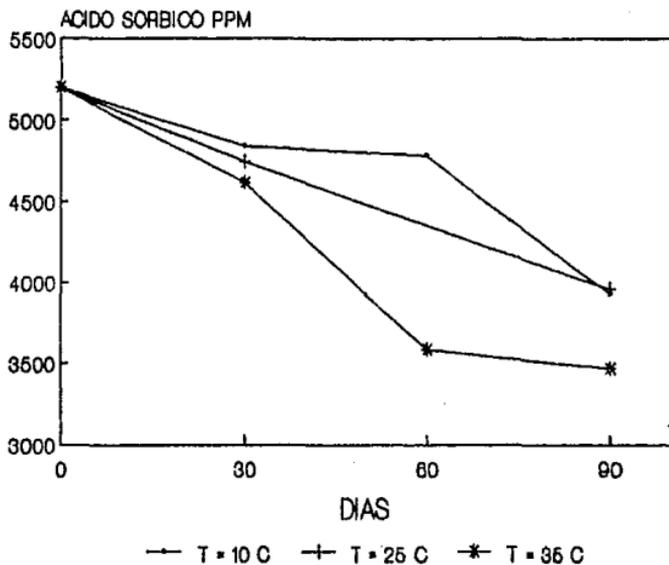


FIG. 12 COMPORTAMIENTO DEL ACIDO SORBICO EN LA PULPA CON pH 4.5 ALMACENADA 90 DIAS

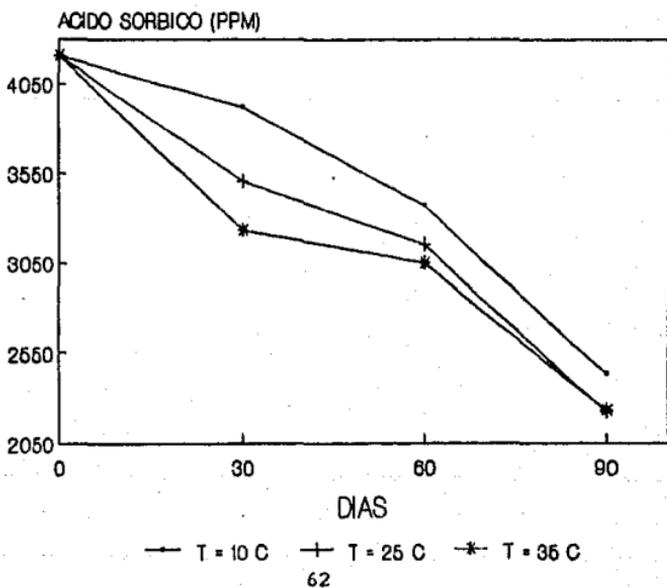


FIG. No.13 COMPORTAMIENTO DEL pH EN LA PULPA CON pH 3.5 ALMACENADA A 90 DIAS.

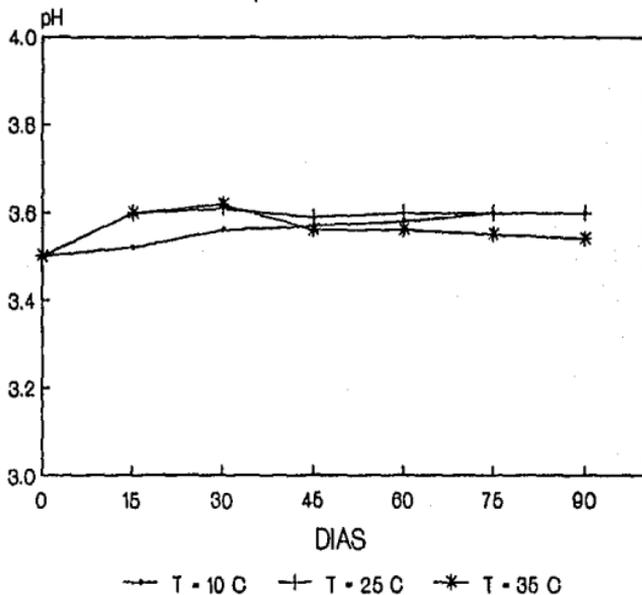
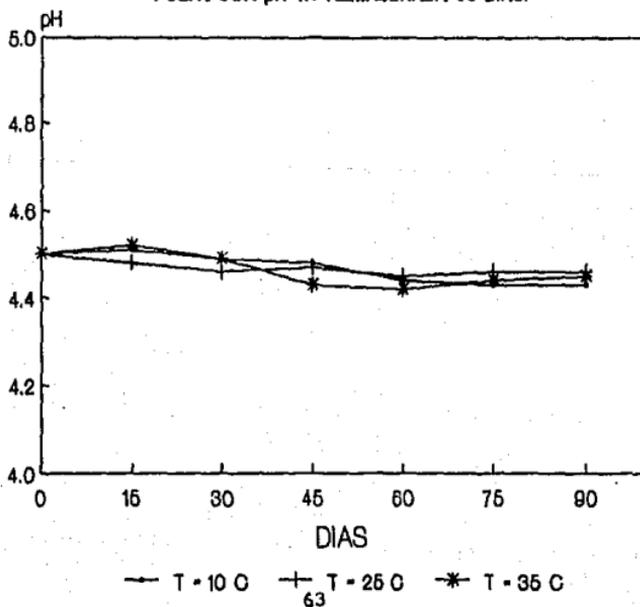


FIG. No.14 COMPORTAMIENTO DEL pH EN LA PULPA CON pH 4.6 ALMACENADA 90 DIAS.



6.1.4. Acidez Titulable

La acidez titulable de las muestras durante el almacenamiento se expresa en porcentaje de ácido cítrico. El comportamiento del mismo en ambas formulaciones difieren.

El aumento y después la disminución de la acidez titulable al valor aproximado al inicial en las pulpas con pH 3.5, puede deberse a que dichas pulpas no estaban totalmente homogéneas o que sus componentes no estuviesen en equilibrio. Este mismo fenómeno pudo haberse presentado en las pulpas con pH 4.5, pues tienen el mismo comportamiento que las otras, pero el valor inicial es un poco menor que al inicial.

El análisis de varianza marca una influencia del pH inicial de las fórmulas y de los días de almacenamiento hacia la acidez titulable pero no de la temperatura.

Dicho comportamiento se observa en las figuras No.15 y 16, los resultados del análisis de varianza se observa en el cuadro No.17.

CUADRO No.17 ANALISIS DE VARIANZA DE LA ACIDEZ TITULABLE.

FUENTES DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADROS MEDIOS	F CAL	P
Fórmula	9.072152	1	9.0721524	868.097	.0000
Temp.	.031390	2	.0156952	1.493	.2399
Días	2.296348	6	.3827246	36.411	.0000
Error	.336357	32	.0105112		

6.2.5. Humedad

El comportamiento de la humedad en la formulación con pH inicial de 3.5 es diferente al de la humedad en la formulación con

FIG. No.15 COMPORTAMIENTO DE LA ACIDEZ TITULABLE EN LA PULPA CON pH 3.8 ALMACENADA 90 DIAS.

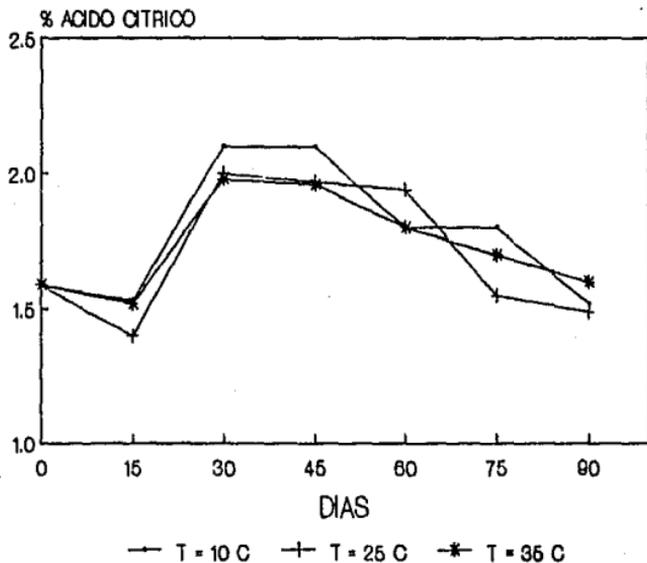
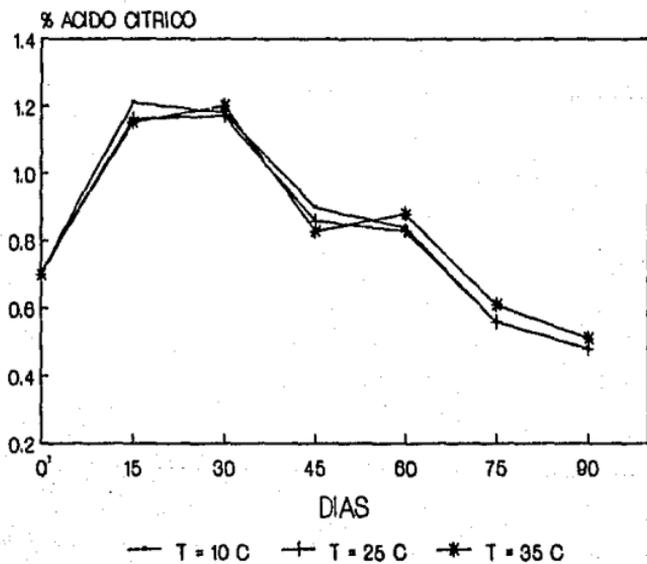


FIG. No.16 COMPORTAMIENTO DE LA ACIDEZ TITULABLE EN LA PULPA CON pH 4.5 ALMACENADA 90 DIAS.



pH 4.5. Ya que en la primera formulación la humedad tiende a bajar al inicio del almacenamiento y en la segunda la humedad tiende a subir. Después la humedad se mantiene prácticamente constante durante el resto del almacenamiento, en ambas formulaciones.

Según el análisis de varianza la humedad está afectada por los días de almacenamiento, pero aunque dicho análisis no lo indique la humedad también está afectada por el pH inicial de las formulaciones. Esta variación puede deberse a una ligera separación de fases que se presentaron en las pulpas.

En las figuras No.17 y 18, muestran el comportamiento de la humedad de las pulpas, los resultados del análisis de varianza se aprecian en el cuadro No.18.

CUADRO No.18 ANALISIS DE VARIANZA DE LA HUMEDAD.

PUNTE DE VARIACION	SUMA DE CUADROS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADROS MEDIOS	F CAL	P
Fórmula	3.008038	1	3.008038	2.554	.1199
Temp.	.325233	2	.162717	.138	.8715
Días	68.973690	6	11.495598	9.759	.0000
Error	37.694729	32	1.177960		

6.2.6. Azúcares Reductores Directos

Los azúcares reductores directos en las dos formulaciones aumentan aproximadamente un 87% durante los primeros 15 días del almacenamiento, este comportamiento se presentó por igual en las 3 temperaturas de almacenamiento.

El aumento del porcentaje de los azúcares puede deberse a que la estar recién preparadas las formulaciones, dichos azúcares no están totalmente hidrolizados, principalmente la sacarosa; pues

FIG. No.17 COMPORTAMIENTO DE LA HUMEDAD EN LA PULPA ALMACENADA CON pH 3.5.

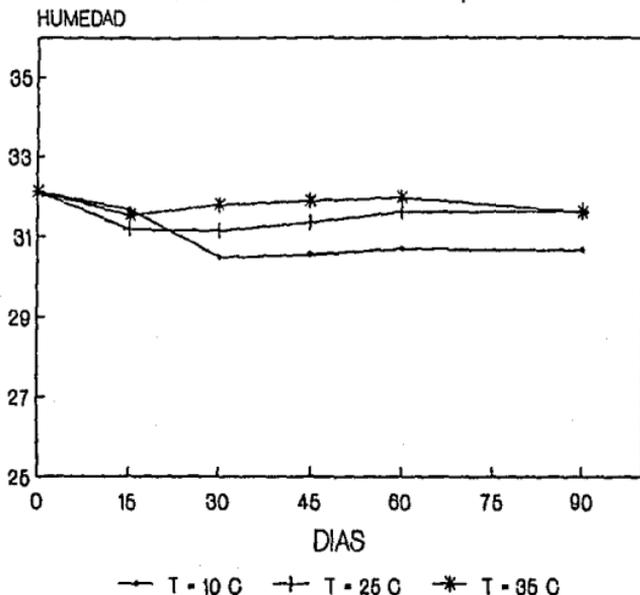
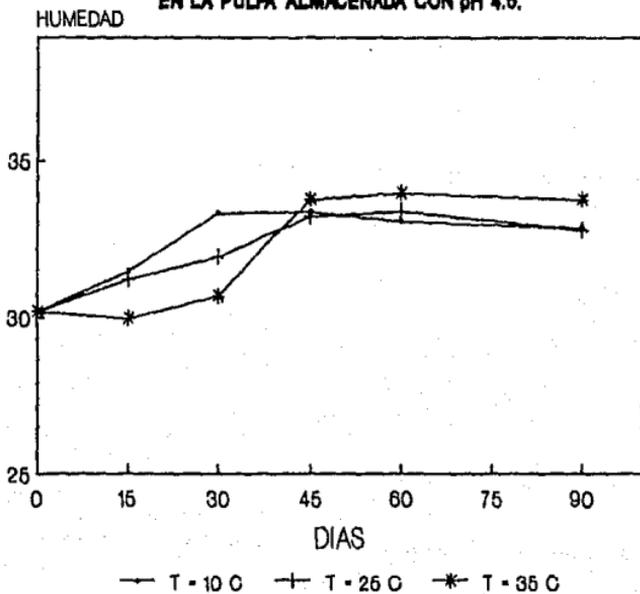


FIG. No.18 COMPORTAMIENTO DE LA HUMEDAD EN LA PULPA ALMACENADA CON pH 4.6.



como ya se mencionó, además de los azúcares ya contenidos en la fruta, se le agrega sacarosa y glucosa, por lo que se piensa que durante los primeros 15 días de almacenamiento se están hidrolizando, y que debido a esto, aumenten. Posteriormente se cree que todos los azúcares se hayan hidrolizado, pues éstos se mantienen prácticamente constantes.

El análisis de varianza indica que los azúcares reductores directos están influenciados por el pH inicial y por los días de almacenamiento, y no por la temperatura.

En las figuras No.19 y 20 se puede observar el comportamiento de los azúcares reductores directos. En el cuadro No.19 se observa el análisis de varianza.

CUADRO No. 19 ANALISIS DE VARIANZA DE AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADO DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F CAL	P
Fórmula	8.2637	1	8.26374	9.241	.0047
Temp.	2.5648	2	1.28240	1.434	.2532
Días	2006.8019	6	334.46699	374.022	.0000
Error	26.615781	32	.8942432		

6.2.7. Azúcares Reductores Totales

Ambas pulpas (pH 3.5 y 4.5) presentaron prácticamente el mismo comportamiento, y a su vez, casi el mismo que los azúcares directos; pues presentan un aumento, aunque menor que los anteriores (53% aproximadamente). Ambas pulpas se mantienen prácticamente constantes durante el resto del almacenamiento.

El aumento de los azúcares reductores totales también puede deberse a la hidrólisis de los azúcares. El análisis de varianza indica que la temperatura de almacenamiento no tiene influencia alguna sobre los azúcares totales, aunque sí por los días de

FIG. No.19 COMPORTAMIENTO DE LOS AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS EN LA PULPA CON pH 3.5 ALMACENADA 90 DIAS.

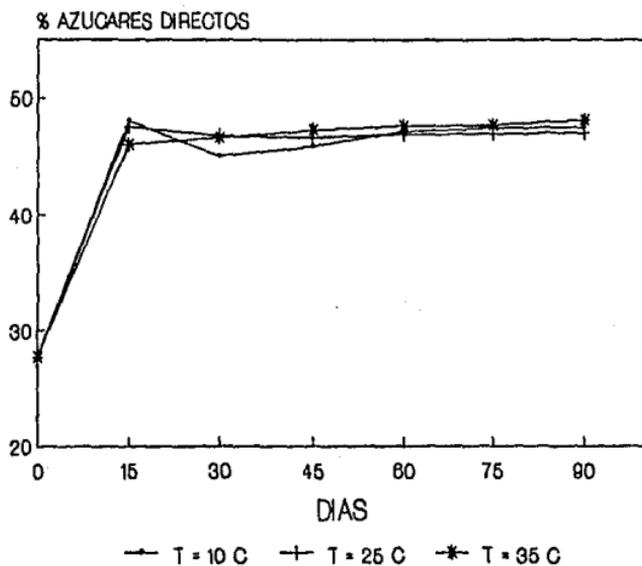
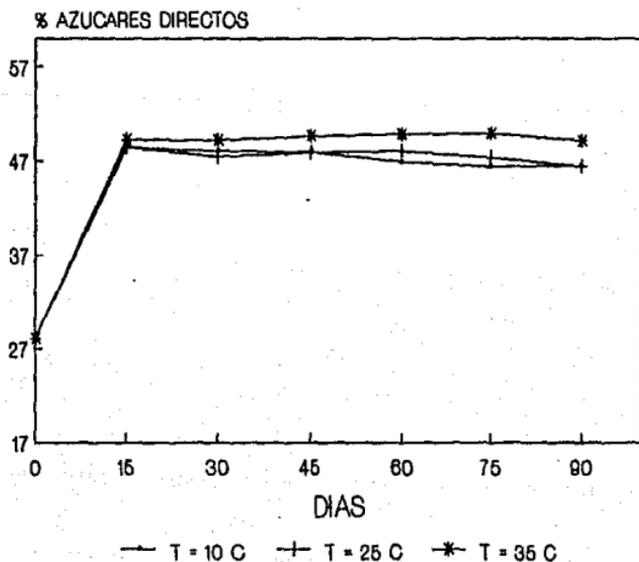


FIG. No.20 COMPORTAMIENTO DE LOS AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS EN LA PULPA CON pH 4.5 ALMACENADA 90 DIAS.



almacenamiento,, pero se puede observar que son prácticamente constantes.

Las figuras No. 22 y 23 muestran el comportamiento de los azúcares totales durante el almacenamiento, los resultados del análisis de varianza se aprecian en el cuadro No.20.

CUADRO No. 20 ANALISIS DE VARIANZA DE AZUCARES REDUCTORES TOTALES.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F CAL	P
Formula	10.650536	1	10.650536	12.485	.0013
Temp.	3.326948	2	1.663474	1.950	.1588
Días	52.732048	6	8.788675	10.302	.0000
Error	27.298567	32	.8530802		

6.3 ANALISIS MICROBIOLOGICOS

Durante el almacenamiento no se presentó crecimiento microbiano, ni el medio de cuenta total ni en el de hongos y levaduras. Por lo que se consideró que las pulpas son microbiológicamente estables y que las barreras utilizadas en las formulaciones impiden el crecimiento microbiano, principal causante del deterioro de los alimentos.

6.4 ANALISIS SENSORIALES

Las evaluaciones sensoriales practicadas a las pulpas, dieron como resultado una preferencia por la formulación almacenada a 10°C y que tiene un pH de 4.5. Y mayor rechazo a la formulación almacenada a 35°C con el mismo pH, posiblemente por tener un sabor más ácido.

A su vez, las evaluaciones sensoriales también dieron como

FIG. No.21 COMPORTAMIENTO DE LOS AZUCARES REDUCTORES
 TOTALES EN LA PULPA CON pH 3.5 ALMACENADA 90 DIAS.

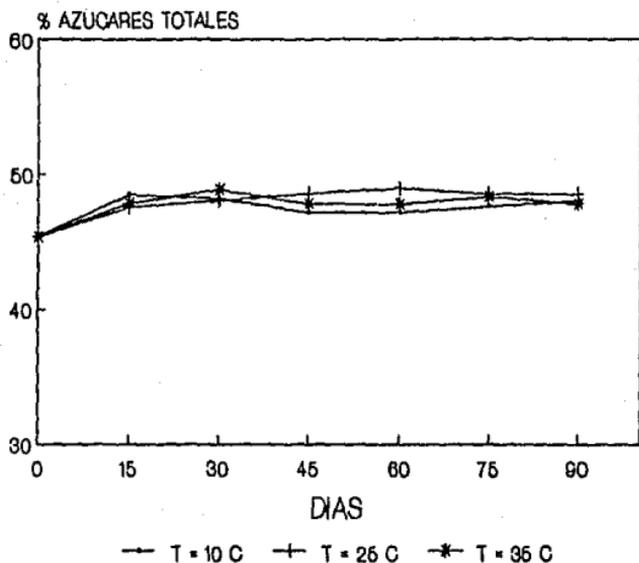
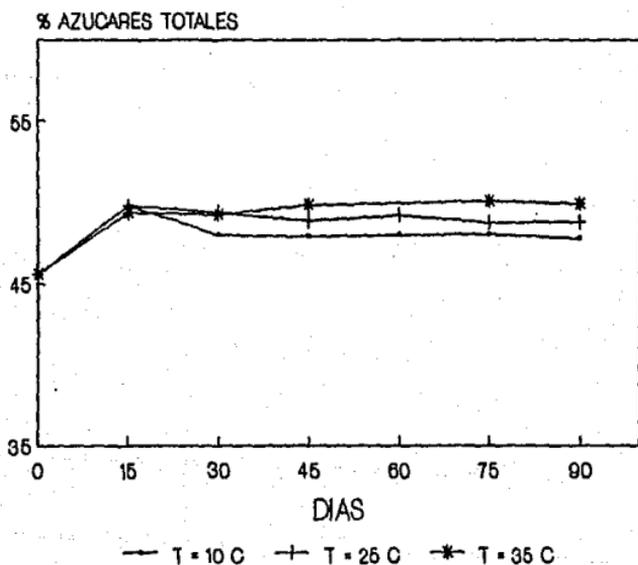


FIG. No.22 COMPORTAMIENTO DE LOS AZUCARES REDUCTORES
 TOTALES EN LA PULPA CON pH 4.5 ALMACENADA 90 DIAS.



resultado que las formulaciones almacenadas estaban bastante lejos de parecerse a las formulaciones recién preparadas. Las que posiblemente se asemejarían más, serían las que estuvieron almacenadas a 10°C con un pH 4.5. Y las que menos, las almacenadas a 35°C y con pH 4.5. Pues hay que recalcar que ninguna de las formulaciones recién preparadas tienen el 100% del sabor del zapote negro, ya que lo pierde un poco al añadirle ácido cítrico a las formulaciones, que tienen valores de pH menores que los que tiene el zapote negro (pH=6.0), y que son más dulces por la adición de sacarosa y glucosa. También hay que hacer notar que las pulpas con pH 4.5 tienen una mayor aceptación con excepción de la almacenada a 35°C, que fue la menor aceptada.

No hubo mucha aceptación de las pulpas al finalizar el almacenamiento debido a que dichas pulpas adquirieron un sabor desagradable a causa de la concentración de sorbato de potasio, que enmascaró el delicado sabor del zapote negro, y que le dio a las pulpas o formulaciones un sabor particular.

En el cuadro No.21 se muestran el promedio de las calificaciones de las muestras dadas por los jueces, como se puede apreciar la preferencia de aquellas va disminuyendo según aumenta la temperatura de almacenamiento. Y en las tablas subsecuentes se muestran los análisis de varianza de cada uno de parámetros a analizar en la evaluación sensorial.

CUADRO No. 21 RESULTADOS DE LA EVALUACION SENSORIAL

Pulpa pH 3.5	Patrón	10°C	25°C	35°C
Sabor a zapote	6.23	5.53	5.49	5.00
Dulzor	6.10	5.66	4.95	4.88
Acidez	6.78	5.10	4.52	4.18
Pulpa pH 4.5				
Sabor a zapote	7.43	5.68	5.60	3.65
Dulzor	7.29	6.70	5.47	3.80
Acidez	6.81	5.53	4.82	4.17

ANALISIS DE VARIANZA DE LA EVALUACION SENSORIAL

CUADRO No. 22 ANALISIS DEL SABOR.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F CAL	P
Fórmula	1	.34810	.348100	0.055	.8169
Temp.	3	265.60100	88.533667	14.068	.0000
Fórm-Temp.	3	125.39450	41.798167	6.628	.0002
Error	392	2472.2448	6.3056746		

CUADRO No. 23 ANALISIS DE LA ACIDEZ.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F CAL	P
Fórmula	1	1.50663	1.50663	.245	.6259
Temp.	3	352.67702	117.55901	19.147	.0000
Fórm-Temp.	3	18.904484	6.3014948	1.026	.3808
Error	388	2382.3037	6.1399580		

CUADRO NO. 24 ANALISIS DEL DULZOR.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F CAL	P
Fórmula	1	1.68599	1.68599	.277	.6046
Temp.	3	399.16084	133.05361	21.856	.0000
Fórm-Temp.	3	103.10346	34.367820	5.645	.0009
Error	391	2380.3061	6.0877395		

VII. CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES

- 1) El objetivo se cumplió debido a que se logró obtener un producto (pulpa de zapote negro) con un valor de actividad de agua aproximada al 0.90 (0.897 y 0.903), con una humedad del 30% y pH de 3.5 y 4.5.
- 2) Se obtuvieron inicialmente productos con sabor, color y textura agradables. aunque debido a que el sabor del zapote negro es muy delicado, dichos productos no tenían muy marcado el sabor de la fruta.
- 3) La estabilidad fisicoquímica de las pulpas desarrolladas, estuvo influenciada principalmente por los días de almacenamiento, y poco por la temperatura.
- 4) La estabilidad microbiológica no tuvo influencia por las temperaturas ni por los días de almacenamiento.
- 5) Las pulpas presentaron un ligera separación de fases, hecho que puede deberse a una sinéresis en el producto; se recomienda que en un trabajo futuro se analice la utilización de emulsificantes o estabilizantes que evite este fenómeno.
- 6) Durante el almacenamiento las pulpas adquieren un sabor un poco desagradable debido a que el sabor del zapote negro se pierde en gran medida, aunque no totalmente. Y es muy marcado el sabor del sorbato de potasio; por lo que, se recomienda la utilización de un porcentaje menor del conservador.
- 7) También se recomienda el uso de otro ácido en este caso, para disminuir el pH, ya que el ácido cítrico enmascara un poco el sabor del zapote negro.
- 8) Las pruebas sensoriales demostraron que existe una diferencia significativa entre las formulaciones recién preparadas y las almacenadas, principalmente a las temperaturas de 25° y 35° C. Siendo la pulpa más agradable con pH 3.5 y almacenada a 10° C.

- 9) La vida de anaquel de ambas fórmulas es de aproximadamente de dos a dos meses y medio en refrigeración (10°), y de un mes y medio a dos meses a temperatura ambiente (25°). A 35° C no se recomienda su uso. Estos tiempos fueron fijados de acuerdo a las características organolépticas que presentaban las pulpas según fuese pasando el tiempo de almacenamiento.
- 10) Las pulpas elaboradas sirven como un producto intermedio en la elaboración de jarabes para preparar agua, yoghurt, helado, etc.

VIII. BIBIOGRAFIA

VIII. BIBLIOGRAFIA

- 1) Alvarez, Héctor. 1981 Diccionario de Herbolaria (Plantas curativas de la A a la Z). 4a. Edición. Editorial Posada. México.
- 2) Arana E., Ramón. 1988. Desarrollo de Frijol de Humedad Intermedia. Depto. de Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia, España.
- 3) Avena, R., Leyva, J., y Merson, R. 1988, Estabilización de Duraznos por el Método de Factores Combinados. Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos, No. 1. Desarrollo de Alimentos de Humedad Intermedia Importantes para Iberoamérica. CYTED-D. pp 3-9.
- 4) Badui, Salvador. 1986. Química de los Alimentos. Alhambra Mexicana. México.
- 5) Belitz, H., y Grosch, W. 1985. Química de los Alimentos. pp 3-5. Acribia S.A., España.
- 6) Benmergui, E., FerroFontan, C., y Chirife, J. 1979. The Prediction on Water Activity in Aqueous Solutions in Connection with Intermediate Moisture Foods. I. Aw Prediction en Single Aqueous Electrolyte Solutions. J. Pd. Technol., 14:625-637.
- 7) Beuchat, Larry. 1983. Influence of Water Activity on Growth, Metabolic Activities and Survival of Yeasts and Molds. J. Food Protection, 46(2):135-142.
- 8) Bolin, H.R., King, A.D., y Stafford, A.E. 1980. Sorbic Acid Loss from High Moisture Prunes. J. Pd. Sci., 45(5).
- 9) Bor Shiun, L., y Jasper Guy, W. 1975. Commercial Fruit Processing, The AVI Publishing Company, Inc., U.S.A.
- 10) Bor Shiun, L., y Jasper Guy, W. 1975. Commercial Vegetable Processing', The AVI Publishing Company, Inc., U.S.A.
- 11) Brimelow, C.I.B. 1985. A Pragmatic Approach to the Development

- of New Intermediate Moisture Food. pp 405-419. En Properties of Water in Foods, (Eds) D. Simatos and J.L. Mutton, Martinus Nijhoff Publishers, Darchercht, Noruega.
- 12) Brockmann, Maxwell. 1970. Development on Intermediate Foods for Military Use. Food Technology, 24(8):896-900.
 - 13) Cadden, Ann Marie. 1988. Moisture Sorption Characteristics of Several Foods Fibers. J. Fd. Scie., 53(4):1150-1155.
 - 14) Chirife, J. 1982. Principios de la Deshidratación Osmótica de de Frutas. Anales. Asoc. Quim., Argentina, 70:913-932.
 - 15) Chirife, J. 1990. Avances en la Preservación de Alimentos. Curso, Universidad de las Américas, Puebla, enero.
 - 16) Chirife, J., y FerroFontan, C. 1982. Water Activity of Fresh Foods. J. Fd. Scie., 47(2):661-663.
 - 17) Chirife, J., Resnik, S., y FerroFontan, R., 1985. Applications of Ross' Equation for Prediction of Water Activity in Intermediate Moisture Food Systems Containing a Non-solute Solid. J. Fd. Technol., 20:773-779.
 - 18) Cuaderno de Información Básica. México, 1976. Tomada de la bibliografía No.19.
 - 19) De León, Ma. Teresa. 1984, Procesamiento Térmico de Dulce de de Zapote Negro. Q.F.B. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM.
 - 20) De Ritter, Elmer. 1976. Stability Characteristics of Vitamins Vitamins in Processed Foods. Fd. Technol., (1):48-51.
 - 21) Duckworth, R.B. Frutas y Verduras. 1968. Edit. Acribia, España.
 - 22) Erickson, L.E. 1984. Recent Developments in IMF. J. Fd. Protection 45(5):484-491.
 - 23) Fennema, Owen. 1982. Introducción a la Ciencia de los Alimentos. pp 16, 26-43. Ed. Reverté, S.A. España.
 - 24) Franks, Félix. 1982. Water Activity as a Measure of Biological

- Viability and Quality Control. Cereal Foods World, 27(9): 403-407.
- 25) Frazier, W.C. y Westhoff, D.C. 1978. Microbiología de los Alimentos. 3a. edición. Edit. Acribia, S.A. España.
 - 26) Gerschenson, L., Alzamora, y S., Chirife, J., 1986. Stability of Sorbic Acid in Model Systems of Reduced Water Activity; Sugar Solutions. J. Fd. Scie., 51(4):1028-1031.
 - 27) Gerschenson, L., Alzamora, S., y Chirife, J. 1986. Technical Note; Kinetics of Sorbic Acid Loss Durin Storage of Peaches Preserved by Combined Factors. J. Fd. Technol., 21:517-519.
 - 28) Gould, G.W., Brown, M.H., y Fletcher, B.C., 1983. Mechanis of Action of Food Preservation Procedures. Food Microbiology, pp.67-81.
 - 29) González Hermosillo, R., Virginia. 1989. Conservación de Pulpas de Plátano por Métodos Combinados, Q.F.B. Tesis de Licenciatura. Universidad La Salle.
 - 30) Hilsheiner, R., y Hauschild, A. 1985. A Modified Method for Ascertaining Water Activities within Defined Limits. J. Fd. Protection, 48(4):325-326.
 - 31) Horner, K.J., y Anagnostopoulos, G.D. 1973. Combined Effects of Water Activity, pH and Temperature on the Growth and Spoilage Potential of Fungi. J. Appl. Bact., 36:427-436.
 - 32) Inventario Frutícula, CONAFRUT, 1987.
 - 33) Jayaraman, K.S. 1980. Development of Intermediate Moisture Tropical Fruit and Vegetable Products—Technological Problems and Prospects. pp 175-1981. En Food Preservation by Moisture Control. (Eds) C.C. Seow Elsevier. Applie Science. London and New York.
 - 34) Kanade, P.B., y Pai, J.S. 1988. Moisture Sorption Method for Hygroscopic Samples Using a Modified Proximity Equilibration Cell. J. Fd. Sci., 53(4):1218-1219.

- 35) Kanterewicz, R., Chirife, J., y Amato, E. 1985. Preservation of Concentred Cheese Whey by Combined Factors. (50): 1629-1632.
- 36) Karel, Marcus. Principles of Food Science. 1975. Water Activity and Food Preservation. Parte II. (Eds) Marcus Karel, Owen R. Fennema, Daryl B. Lund, Marce Dekker, Inc. New York.
- 37) Karmas, Endel. 1980. Techniques for Measurement of Moisture Content of Foods. Food Technology, 34(4):52-59.
- 38) Karmas, E. 1981. Measurement of Moisture Conten. Cereal Foods World, 26(7):332-334.
- 39) Labuza, T.P. 1968. Sorption Phenomena in Foods. Fd. Technol., 22:15.
- 40) Lang, K.W., y Steinberg, M.P. 1980. Calculation of Moisture Content of a Formulated Food System to Any Given Water Activity. J. Fd. Sci., 45:1228-1230.
- 41) Leistner, Lothar. 1987. Shelf-Stable Products and Intermediate Moisture Foods Based on Meat. Capítulo 13. pp. 295-395. En Water Activity: Theory and Applications to Food. (Eds) Louis B. Rockland and Larry R. Beuchat. Marcel Dekker, Inc. New York and Israel.
- 42) Levi, A., Gagel, S., y Juven, B. 1983. Intermediate Moisture Tropical Fruit Products for Developing Countries. I. Technological Data on Papaya. J. Fd. Technol., 18:667-685.
- 43) Levi, A., Gagel, S., y Juven, B. 1985. Intermediate Moisture Tropical Fruit Products for Developing Countries. II. Quality Characteristics of Papaya. J. Fd. Technol., 20:163-175.
- 44) Lomauro, C.J., Bakshi, A.S., y Labuza, T.P. 1985., Evaluation of Food Moisture Sorption Isotherm Equations. Part I: Fruit, Vegetable and Meat Products. Lebensm.-Wiss.u.-Technol., 18: 111-117.
- 45) Manual de Técnicas de Laboratorio para el Análisis de

- Alimentos. 1985. Depto. de Ciencias y Tecnología de Alimentos. pp. 129-130. 2a. Edición. División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos. México.
- 46) Martínez, N. 1969. Las Plantas Medicinales de México. Edit. Bota, México, 1969, p.493. Tomada de la bibliografía No.59.
- 47) Marvin, L. 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. APHA. (Ed) Speck. Washington, D.C.
- 48) Mendieta, R., y Del Amo, S. 1981. Plantas Medicinales del Estado de Yucatán. p.135. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, C.E.C.S.A. México.
- 49) Merino, Carlos. 1979. Cúrese con la Fruta. Edit. Libro-Mex. México.
- 50) Mowlah, G., Takano, K., Kamoi, I., y Obara, T. 1983. Water Transport Mechanism and some Aspects of Quality Changes During Air Dehydration of Bananas. Lebensm.-Wiss.u.-Technol., 16: 103-107.
- 51) Norrish, R.S. 1966. A Equation for the Activity Coefficients and Equilibrium Relative Humidities of Water in Confectionary Syrups. J. Fd. Technol. 1:25-39.
- 52) Nury, F.S., y Bolin, H.R. 1962. Colorimetric Assay for Potassium Sorbate in Dried Fruits. J. Fd. Sci., 27(4): 370-372.
- 53) Pacheco, L. 1982. El Zapote Prieto. Comunicado No.51 sobre Recursos Bióticos Potenciales del País, Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. México, 1982. Tomada de la bibliografía No. 18.
- 54) Peleg, M. 1988. An Empirical Model for the Description of Moisture Sorption Curves. J. Fd. Sci., 53(4):1216-1219.
- 55) Poponoe, W. 1920. Manual of Tropical and Subtropical Fruits. pp. 370-373. Mcmillan, N.Y. Tomada de la bibliografía No.58.
- 56) Potter, Norman. 1978. Deshidratación y Concentración de

- Alimentos. Capítulo 10. pp. 261-321. La Ciencia de los Alimentos. Edutex. México.
- 57) Purcallas, Pedro. 1986. Fruticultura Práctica. pp. 77-79. Diana, México.
 - 58) Ranzanna Tatta, S. 1980. Handbook of Analysis and Quality Control for Fruit and Vegetable Products. 2a. Edición. MacGraw-Hill. Publishing Company Limited. New Delhi.
 - 59) Robach, M.C. 1980. Use of Preservatives to Control Microorganisms in Food. Food Technol., (10):81-84.
 - 60) Rockland, L.B. 1969. Water Activity and Storage Stability. 23:10.
 - 61) Rockland, L.B., y Nishi S. 1980. Influence of Water Activity on Food Product Quality and Stability. Fd. Technol., (4): 42-50.
 - 62) Rockland, L.B., y Stewart, G.F. Water Activity and Estimation Foods Systems. pp. 4-42. En Water Activity: Influences on Food Quality. (Eds Rockland y Stewart Academic Press. U.S.A.
 - 63) Rogachev, V.I. y Kislenko, I.J. 1973. Combined Methods of Decreasing Water Activity in Fruits under Preservation. Acta Alimentaria, 2(3):245-250.
 - 64) Ross, K.D. 1975. Estimation of Water Activity Intermediate Moisture Foods. Fd. Technol. 29:26-34.
 - 65) Ruiz A., Ma. Elena Bertha. 1978. Cambios Fisiológicos durante la Maduración del Zapote Negro (*Diospyros ebenaster*). Q.B.P., Tesis, E.N.C.B., I.P.N., México.
 - 66) Samuel, M. 1965. Water in Foods. Capítulo 18, p 249-259. En The Relation of Microbial Spoilage to Water Activity of Foods. The AVI Publishing Company, Inc., U.S.A.
 - 67) Scorza, O.C., Chirife, J., Cattaneo, P., Vigo, M.S., Bertoni, M.S., Bertoni, M.H. y Sarrailh, P. 1981. Factores que Condicionan el Crecimiento Microbiano en Alimentos de Humedad

- Intermedia. La Alimentación Latinoamericana, 127(2):62-67.
- 68) Scott, V.N. y Bernard, D.T. 1983. Influence of Temperatura on the Measurement of Water Activity of Food and Salt Systems. J. Fd. Sci., 48:552-554.
- 69) Singhik, L. y Buelow, F.H. 1983. Storage Stability of Intermediate Moisture Apples Kinetics of Quality Change. J. Fd. Sci., 48:939-944.
- 70) Sofos, J.N., Pierson, M.D., Blocher, J.C. y Busta, F.F. 1986. Mode of Action of Sorbic Acid on Bacterial Cells and Spores. International Journal of Food Microbiology, 3:1-17.
- 71) Tabla de Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos, Instituto Nacional de la Nutrición, México, 1987.
- 72) Taoukis, P.S., Breene, W.M. y Labuza, T.P. 1988. Intermediate-Moisture Foods. pp. 91-121. Capítulo 4. En Advances in Cereal Science and Technology. Vol. IX. American Association of Cereal Chemists. U.S.A.
- 73) Troller, John. 1980. Influence of Water Activity on Microorganisms in Foods. Food Technology, (5):76-80.
- 74) Troller, J. 1983. Methods to Measure Water Activity. J. Fd. Protection, 46(2):129-134.
- 75) Varios Autores. 1966. Food Irradiation. International Atomic Energy Agenci. Viena.
- 76) Vigo, M.S., Chirife, J., Scorza, O.C., Cattaneo, P., Bertoni, M.H. y Sarrailh, P. ANO, Estudios sobre Alimentos Tradicionales de Humedad Intermedia Elaborados en la Argentina. Determinación de la Actividad Acuosa, pH, Humedad y Sólidos Solubles. Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment., 21(1): 91-99.