



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ESTABILIZACIÓN DE PULPA DE MANZANA  
MEDIANTE FACTORES COMBINADOS”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

P R E S E N T A:

**ISALDY MEDINA RÍOS**



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA

MÉXICO, D. F.

2002



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 esta 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.

**Paginación**

**Discontinua**

**JURADO ASIGNADO:**

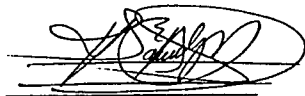
**PRESIDENTE:** PROF. FRANCISCA ITURBE CHIÑAS  
**VOCAL:** PROF. MARÍA DE LOS ÁNGELES VALDIVIA LÓPEZ  
**SECRETARIO:** PROF. HERMILO SÁNCHEZ PINEDA  
**1ER. SUPLENTE:** PROF. AMANDA GÁLVEZ MARISCAL  
**2º. SUPLENTE:** PROF. LUIS ORLANDO ABRAJÁN VILLASEÑOR

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL. UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE  
BIOTECNOLOGÍA. DEPARTAMENTO DE BIOPROCESOS.

**ASESOR:**

M. EN C. HERMILO SÁNCHEZ PINEDA



---

**SUSTENTANTE:**

ISALDY MEDINA RÍOS



---

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme ser parte de su comunidad universitaria y formarme como profesionista. Agradezco los momentos y las experiencias inolvidables que pasé en lo que han sido los mejores años de mi vida.

A la Facultad de Química y sus profesores por darme la visión y las herramientas necesarias para desempeñarme como una profesional de los alimentos.

Al Departamento de Bioprocesos de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (IPN), por abrirme sus puertas en los momentos difíciles y proporcionarme las facilidades para la realización de este proyecto.

A la Universidad McGill (Montreal, Canadá), sus profesores y mis compañeros de clase, por brindarme la oportunidad de afrontar retos y realizar actividades complementarias que contribuyeron en gran medida a mi desarrollo profesional.

Al M.C. Hermilo Sánchez Pineda, por su apoyo, su tiempo, su asesoría, sus consejos y sobre todo por su paciencia.

A los profesores Fanny Iturbe y Ma. de los Angeles Valdivia, por sus enriquecedoras observaciones y enseñanzas.

A la profesora Susana Flores, por su cariño y por enseñarme a disfrutar de las cosas más difíciles de la carrera y aprender de ellas.

A René de los Ríos, por su ayuda y valioso apoyo para la realización de este trabajo.

A Lucy Cuevas y Ana Fuentes por darme la oportunidad de iniciar mi carrera profesional, creer en mí y por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias.

## DEDICO EL PRESENTE TRABAJO A :

Dios, por darme la serenidad en los momentos difíciles.

Mi mami, por su amor, confianza, comprensión, apoyo y porque ha sido un ejemplo de fortaleza, perseverancia y dedicación, por guiarme y darme la calidad de tiempo, los valores, los consejos para ser una persona completa, realizada y feliz.

Mi abue, por transmitirme su sabiduría, sentimientos y experiencias, pero sobre todo por estar a mi lado dándome su amor y cuidados en los años más importantes de mi formación y educación.

Carluca, por su gran amistad, sinceridad y cariño; por ser "mi hermana" y mi paño de lágrimas.

Mis amigos entrañables, con los que compartí los malos, los buenos y los mejores momentos, con los que sigo compartiendo mis experiencias y estoy segura que seguirán a mi lado durante toda mi vida. Gracias por su amistad, cariño y apoyo. Los quiero mucho: Almillá, Anjalí, Grace, Karlita Chacón, Ranuca, Tigger, Predi y Karla G.

Ger, por su cariño, comprensión, confianza y apoyo incondicional.

Mi tío Juan José, por ser un ejemplo de perseverancia, inteligencia, visión y éxito.

Mi tía Tere, por demostrarme que la excelencia existe a base de esfuerzo, trabajo y tenacidad.

La familia Rojas Jiménez (Lupita, Ramón, Carla y Tayde), por recibirme en su hogar y darme su cariño.

Yola y Fernando, por su cariño y haberme brindado su hospitalidad. Mil gracias.

Y a todas aquellas personas que me dieron algún consejo o alguna palabra de aliento y que contribuyeron en mi formación académica, profesional y humana.

**INDICE GENERAL**

	Página
INDICE DE TABLAS	iv
INDICE DE FIGURAS	v
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. OBJETIVOS	5
3.1 Objetivo general	5
3.2 Objetivos específicos	5
IV. ANTECEDENTES	6
4.1 Aspectos Económicos	6
4.1.1 Producción	6
4.1.2 Consumo y Comercialización	10
4.1.3 Exportaciones e Importaciones	12
4.2 Aspectos Técnicos y Científicos	14
4.2.1 Oscurecimiento enzimático en alimentos	14
4.2.1.1 Generalidades	14
4.2.1.2 Actividad de PPO en manzana	16
4.2.1.3 Inhibición del oscurecimiento enzimático	17
4.2.2 Tecnología de Factores Combinados (TFC)	23
4.2.2.1 Aspectos Generales	23
4.2.2.2 Factores utilizados en la tecnología de métodos combinados	25
4.2.2.3 Aplicación de la TFC en frutas de alta humedad	31

V. METODOLOGÍA	33
5.1 Desarrollo experimental	33
5.2 Métodos de Análisis	40
5.2.1 Actividad de agua	40
5.2.2 Humedad	40
5.2.3 Sólidos solubles	40
5.2.4 Acidez titulable	41
5.2.5 pH	41
5.2.6 Azúcares reductores	41
5.2.7 Sulfitos residuales	42
5.2.8 Ácido ascórbico	42
5.2.9 Análisis microbiológico	42
5.2.10 Color	43
5.2.11 Análisis estadístico	44
VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS	45
6.1 Caracterización de materia prima	45
6.2 Análisis fisicoquímicos	47
6.2.1 Sólidos solubles	47
6.2.2 Azúcares reductores directos, totales y sacarosa	49
6.2.3 Humedad	54
6.2.4 Actividad de agua	49
6.2.5 Acidez y pH	58
6.2.6 Sulfitos	61
6.2.7 Ácido ascórbico	65
6.2.8 Ácido cítrico y sorbato de potasio	70
6.3 Análisis microbiológicos	71
6.4. Análisis estadístico del color	73



VII. CONCLUSIONES	83
BIBLIOGRAFÍA	84
ANEXO I Fórmulas para la determinación de Azúcares Reductores en pulpa de frutas.	90
ANEXO II Análisis estadístico de luminosidad en pulpa de manzana	91
ANEXO III Análisis estadístico de cromaticidad en pulpa de manzana	93
ANEXO IV Análisis estadístico de tonalidad en pulpa de manzana	95

## INDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1.	Factores aplicables en la Tecnología de Factores Combinados	26
Tabla 2.	Actividad de agua y crecimiento de microorganismos en los alimentos	27
Tabla 3.	Fórmulas químicas y contenido de SO <sub>2</sub> de los sulfitos más importantes	38
Tabla 4.	Formulaciones utilizadas en la elaboración de pulpa de manzana por TFC	38
Tabla 5a.	Características de la materia prima	45
Tabla 5b.	Costos de formulación por kilogramo de pulpa	46
Tabla 6.	% de sólidos solubles de pulpa de manzana durante el almacenamiento	48
Tabla 7.	% de Azúcares Reductores Directos en pulpa de manzana	50
Tabla 8.	% de Azúcares Reductores Totales en pulpa de manzana	52
Tabla 9.	% de sacarosa en pulpa de manzana	53
Tabla 10.	% de humedad en pulpa de manzana durante el almacenamiento	55
Tabla 11.	Valores de aw de pulpa de manzana durante el almacenamiento	57
Tabla 12.	% de acidez (ácido cítrico) en pulpa de manzana durante el almacenamiento	59
Tabla 13.	pH de pulpa de manzana durante el almacenamiento	59
Tabla 14.	Análisis microbiológicos iniciales y finales de pulpa de manzana conservada por TFC	71
Tabla 15.	Luminosidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento	75
Tabla 16.	Cromaticidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento	77
Tabla 17.	Tonalidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento	79

## INDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Estados productores de manzana en México (1995-1999)	8
Figura 2.	Superficie sembrada y cosechada de manzana (1995-1999)	8
Figura 3.	Volumen de producción nacional de manzana (1995-1999)	9
Figura 4.	Exportaciones de manzana (1996-1999)	13
Figura 5.	Importaciones de manzana (1994,1996-1999)	13
Figura 6.	Reacción de oscurecimiento enzimático en alimentos	15
Figura 7.	Sustratos fenólicos de polifenoloxidasa presentes en manzana	17
Figura 8.	Mecanismo de inhibición del oscurecimiento enzimático por sulfitos	20
Figura 9.	Isoterma de sorción de humedad típica de un alimento	26
Figura 10.	Velocidad relativa de diversas reacciones de deterioro en función de la actividad de agua	28
Figura 11.	Diagrama de flujo para la elaboración de pulpa de manzana mediante factores combinados	35
Figura 12.	Comportamiento promedio de los sólidos solubles en pulpa de manzana	48
Figura 13.	Comportamiento promedio de ARD de pulpa de manzana durante el almacenamiento	50
Figura 14.	Comportamiento promedio de ART en pulpa de manzana durante el almacenamiento	52
Figura 15.	Comportamiento promedio de sacarosa en pulpa de manzana durante el almacenamiento	53
Figura 16.	Comportamiento promedio de la humedad en pulpas de manzana durante el almacenamiento	55

Figura 17.	Comportamiento promedio de la aw en pulpa de manzana durante el almacenamiento	57
Figura 18.	Comportamiento promedio de la acidez de pulpa de manzana durante el almacenamiento	60
Figura 19.	Comportamiento promedio del pH de pulpa de manzana durante el almacenamiento	60
Figura 20.	Disminución de SO <sub>2</sub> en pulpa de manzana durante el almacenamiento	62
Figura 21.	Cinética de disminución de SO <sub>2</sub> en pulpa de manzana durante el almacenamiento	62
Figura 22.	Disminución de ácido ascórbico en pulpa de manzana durante el almacenamiento	66
Figura 23.	Efecto antioxidante de los sulfitos sobre el ácido ascórbico	66
Figura 24.	Cinética de disminución del AA en pulpa de manzana	69
Figura 25.	Comportamiento promedio de la luminosidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento	75
Figura 26.	Comportamiento promedio de la cromaticidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento	77
Figura 27.	Tonalidad de pulpas de manzana durante el almacenamiento	79

## I. RESUMEN

Considerando la gran cantidad de fruta que se desperdicia por no cumplir con especificaciones de tamaño y forma, pero que es adecuada para la industrialización, se ha estudiado la factibilidad de conservarla por la Tecnología de Factores Combinados.

En este estudio se aplicó dicha tecnología para elaborar 10 diferentes formulaciones de pulpa de manzana (*Malus sylvestris*) y se evaluó su comportamiento durante un período de almacenamiento de 6 meses a temperatura ambiente. Los factores utilizados fueron depresión de aw, tratamiento térmico (escaldado a 92°C/5 minutos) y adición de conservadores químicos como sorbato de potasio (1000 ppm); ácido cítrico (3000 ppm); y tres diferentes concentraciones tanto de ácido ascórbico (200, 300 y 400 ppm) como de sulfitos (100, 200 y 300 ppm).

Las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno contenidas en cubetas de plástico. Se analizaron las características fisicoquímicas (pH, acidez, humedad, °Brix, azúcares reductores, aw, sulfitos, ácido ascórbico) y microbiológicas (mesofílicos aerobios, mohos y levaduras), así como el cambio de color.

Todas las muestras presentaron comportamientos similares de las variables fisicoquímicas; hubo una disminución en el contenido de humedad, aw, sulfitos y ácido ascórbico; los sólidos solubles aumentaron ligeramente, los azúcares reductores directos aumentaron con relación a la disminución de sacarosa y el pH y acidez se mantuvieron relativamente constantes. En todas las formulaciones con sulfitos el color de las pulpas fue aceptable; por el contrario, la aplicación de sólo ácido ascórbico aumentó el oscurecimiento, mientras que la combinación de ácido

ascórbico y sulfitos concentraciones bajas, produjo un efecto sinérgico positivo en el control del oscurecimiento del producto.

Las formulaciones en donde se consiguió obtener un color aceptable correspondiente a una pulpa de manzana mínimamente procesada después del tiempo de estudio, fueron aquellas que contenían metabisulfito de sodio. Al no haber diferencia significativa entre las concentraciones, se recomienda utilizar las formulaciones con 100 ppm de sulfitos y la combinación de 200 ppm de ácido ascórbico con 200 ppm de sulfitos.

Los resultados microbiológicos indicaron inocuidad del producto durante el período de almacenamiento, por lo que se concluye que el método desarrollado permite obtener pulpa de manzana de buena calidad, estable fisicoquímica y microbiológicamente por lo menos durante 6 meses a temperatura ambiente, lo cual la hace una tecnología factible a bajo costo para su conservación sobre todo para pequeños y medianos productores.

## II. INTRODUCCIÓN

Entre los problemas que enfrentan los países en desarrollo, uno de los más importantes es la ausencia de una eficiente integración entre la producción y el consumo de productos perecederos, como es el caso de las frutas. Por lo que es necesario aplicar técnicas de conservación alternas a la refrigeración, congelación, enlatado y otros métodos costosos que implican la utilización de energía.

Las pérdidas de frutas en muchos países iberoamericanos varían entre 10 y 40% debido a la carencia de infraestructura para preservarlas (Alzamora, 1997).

La conservación de puré o pulpa de fruta por el método de factores combinados se basa en inhibir el desarrollo bacteriano así como también de hongos y levaduras por la acción combinada de distintos factores, como actividad de agua, pH, adición de conservadores químicos y tratamiento térmico, entre otros, que además previenen la alteración del alimento por la acción de enzimas y reacciones químicas (Treviño y col., 1994).

Esta metodología permite la obtención de productos sensorialmente aceptables, de alta calidad y capaces de conservarse a temperatura ambiente durante un almacenamiento prolongado. Además, es una tecnología muy económica y fácilmente aplicable en los sitios de producción, lo que beneficiaría de manera importante a los pequeños y medianos productores que no cuentan con la infraestructura necesaria para el almacenamiento de sus productos o la rápida comercialización de los mismos. Lo anterior se traduce en una reducción de las pérdidas post-cosecha.

Adicionalmente, es importante señalar que materia prima de difícil comercialización en fresco, debido a defectos de color y tamaño, puede ser aprovechada mediante esta tecnología de conservación, obteniéndose un producto de buena calidad durante largos períodos sin importar la estacionalidad de la materia prima.

Por otra parte, los productos adquieren un valor agregado por ser una materia prima estable a temperatura ambiente que puede utilizarse para su procesamiento posterior, aplicándose en confitería, panificación, repostería, productos lácteos y fermentados, jaleas, mermeladas y bebidas de fruta (Leistner, 1999).

Con base en lo anterior, la justificación de este proyecto radica en proponer un método de conservación de manzana en forma de pulpa, utilizando la tecnología de factores combinados, evaluar la estabilidad de 10 diferentes formulaciones mediante el análisis de características fisicoquímicas y microbiológicas y explicar con antecedentes y fundamentos químicos el comportamiento de las muestras durante seis meses de almacenamiento a temperatura ambiente.



### III. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer las condiciones adecuadas para obtener pulpa de manzana fisicoquímica y microbiológicamente estable durante seis meses a temperatura ambiente mediante la Tecnología de Factores Combinados, proponiendo de esta forma, un método de conservación económico y sencillo de implementar.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar la Tecnología de Factores Combinados con el fin de obtener un producto estable durante seis meses a temperatura ambiente, para su posterior procesamiento como materia prima.
- Proponer distintas formulaciones de pulpa de manzana variando las concentraciones de ácido ascórbico y sulfitos, analizar su comportamiento y explicar químicamente los cambios producidos en las formulaciones durante el tiempo de estudio.
- Determinar la estabilidad de las diferentes muestras por medio de análisis fisicoquímicos, microbiológicos y de color durante el almacenamiento y con base en lo anterior, recomendar las mejores condiciones para obtener una pulpa de manzana con características de un producto mínimamente procesado y de buena calidad.

## IV. ANTECEDENTES

### 4.1 ASPECTOS ECONÓMICOS

La manzana es uno de los frutos más antiguos del mundo, que gracias a su enorme adaptabilidad, logró dispersarse a diversas regiones de tal forma, que actualmente está entre los principales frutos más comercializados del mundo. Las especies de manzana, *Malus sylvestris*, tienen sus orígenes en el sudoeste de Asia en el área comprendida entre el Mar Caspio hasta el Mar Negro.

En nuestro país, la manzana fue introducida con la colonización a principios del siglo XVII, y hoy día ocupa un lugar importante (sexto lugar en producción con el 4.2% del volumen total de los productos frutícolas y un consumo de 6.5 kg por persona al año (SAGAR, 2000).

Hay cientos de especies de manzana, aproximadamente 20 tipos diferentes son conocidas comercialmente en los Estados Unidos, pero sólo 14 especies cubren el 90% de la producción de ese país. Mundialmente, 5 especies son las más representativas: *Red Delicious*, *Golden Delicious*, *McIntosh*, *Rome Beauty* y *Granny Smith* (Williams y col., 1992).

#### 4.1.1 Producción

La producción de manzana en México se realiza en 24 estados; sin embargo, solamente en seis se concentra más del 90% de la superficie sembrada y cosechada, siendo por orden de importancia: Chihuahua, Durango, Coahuila, Puebla, Nuevo León y Oaxaca (figura 1) (SAGAR, 2000).

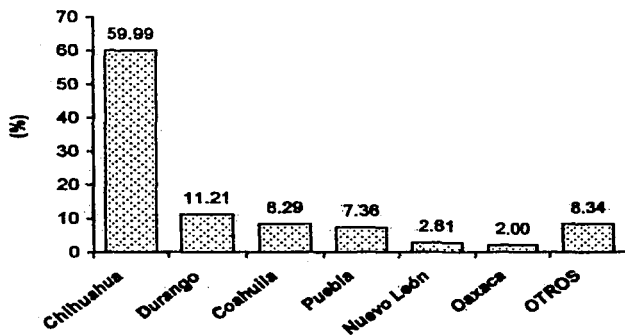
Los datos sobre superficie sembrada durante el período 1995-1999 señalan que hubo una disminución de aproximadamente 6000 hectáreas, sin embargo, la superficie cosechada aumentó sobre todo en el último año (SAGAR, 2000). Lo anterior señala la reducción que ha tenido la superficie siniestrada (figura 2).

En cuanto al volumen de producción nacional de manzana, 1997 fue el año donde se obtuvo la mayor cantidad de toneladas, alrededor de 630 mil; pero desafortunadamente, en los años subsecuentes la producción bajó entre 400 y 450 mil toneladas (figura 3) (SAGAR, 2000).

En el aspecto de producción comercial, las variedades que mayormente destacan en nuestro país son:

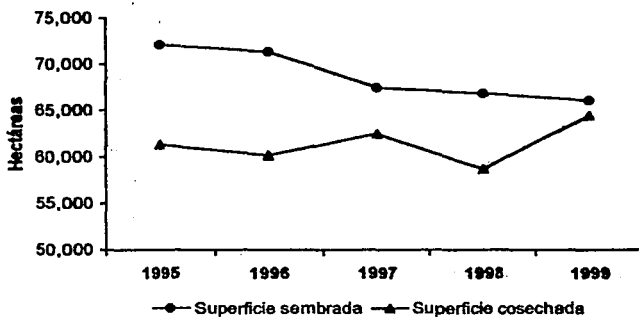
- *Golden Delicious*: Fruto poco resistente a la manipulación, de cáscara amarillo intenso en plena maduración. Su pulpa es de color blanca cremosa, compacta, muy dulce, ácida y medianamente aromática. Su cosecha se lleva a cabo entre los meses de agosto a octubre.
- *Red Delicious*: Tamaño variable (de grande a muy grande), cáscara delgada, lisa y brillante, de color rojo. Su pulpa es blanca y verdosa, fina, fundente, azucarada, agridulce, jugosa y perfumada. La época de cosecha es en los meses de septiembre a noviembre.
- *Rome Beauty*: Fruto grueso, de forma esferoidal, cáscara gruesa, amarilla verdosa, pulpa blanca o crema, no muy compacta, poco o medianamente succulenta, poco dulce, poco ácida, poco aromática, de mediana a escasa característica gustativa (Claridades Agropecuarias, 1995).

**Figura 1. Estados Productores de Manzana en México (1995-1999)**



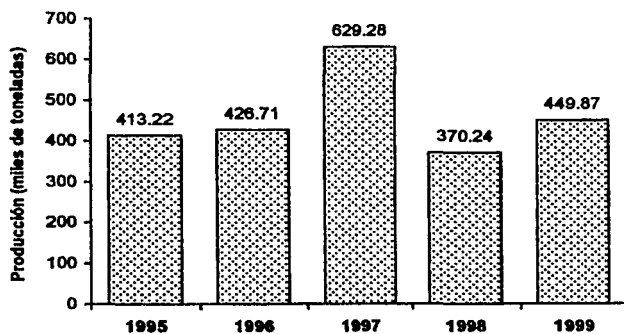
Fuente: SAGAR, 2000

**Figura 2. Superficie sembrada y cosechada de manzana (1995-1999)**



Fuente: SAGAR, 2000

**Figura 3. Volumen de producción nacional de manzana (1995-1999)**



Fuente: SAGAR, 2000

#### 4.1.2 Consumo y comercialización

De acuerdo a la forma de consumo se distinguen tres grupos: manzanas para consumo en fresco, para cocinar y para la agroindustria (sidra, jugos y deshidratada). En otros países, ciertas especies, son cosechadas única y exclusivamente para su procesamiento, como es el caso de la manzana *York Imperial* (Claridades Agropecuarias, 1995).

De las manzanas producidas para consumo en fresco, un cierto porcentaje se destina al procesamiento, ya sea por defectos de color, forma o tamaño. La manzana *Red Delicious* es firme, dulce y jugosa, por lo que tiene un gran rendimiento en la producción de jugo de excelente calidad, por el contrario, no se recomienda su uso en la producción de pulpas y salsas debido a que la textura y color obtenidos no son de calidad deseable.

Por otra parte, la especie *Golden Delicious* además de producir un jugo de manzana de calidad, puede procesarse para la obtención de salsas y rebanadas de muy buena calidad.

La calidad de la manzana procesada depende de las condiciones de la materia prima (daños físicos, maduración, firmeza, color, sólidos solubles, ácidos y otros compuestos químicos presentes en la fruta, como taninos) (Williams y col., 1992).

En México, el consumo y comercialización de la manzana es principalmente en fresco. Se considera que del total de la producción, se destina a este fin del 70 al 75%, mientras que el restante 30-25% es para uso industrial.

Con respecto al uso industrial, hay varios productos que se derivan del procesamiento de manzana, como la obtención de ácido málico, empleado en la industria farmacéutica y en la alimentaria como sustituto del ácido cítrico; producción de jugos concentrados y congelados, para la elaboración de bebidas refrescantes de origen natural al regenerarlas con agua; elaboración de pastas de manzana; mermeladas y productos azucarados para uso en repostería y panificación; fabricación de vinos, vinagre y aguardientes, entre otros.

Las plazas que comercializan el 65% del total del producto nacional son el Distrito Federal, Guadalajara y Monterrey, las cuales redistribuyen a otros estados. El resto de la producción se comercializa a través de los tres principales estados productores, en donde se consume un 20% aproximadamente, mientras que el sobrante se traslada a otras plazas (Claridades Agropecuarias, 1995).

Para contar con producto disponible durante todo el año, las manzanas son almacenadas en temperaturas de refrigeración dependiendo el cultivar, aunque también en la mayoría de los países industrializados y los grandes productores utilizan el almacenamiento por atmósferas controladas, que consisten en modificar la atmósfera controlando la concentración de oxígeno y dióxido de carbono en conjunción con bajas temperaturas. Por ejemplo, se utilizan de 2-3% de  $O_2$  y 1-2% de  $CO_2$  y temperaturas entre cero y  $5^{\circ}C$  (Ramaswamy & Raghavan, 1997).

En algunos lugares de producción, estos tipos de almacenamiento son de difícil implementación ya que resultan costosos y poco accesibles, sobre todo para los pequeños productores; los cuales tienen que comercializar el producto inmediatamente después de su cosecha, lo que se traduce como una pérdida económica, puesto que tienen que reducir el precio del producto para lograr la

distribución inmediata antes del deterioro de la fruta. Por lo anterior, es importante proponer una tecnología sencilla de implementar y económicamente factible para conservar la manzana en los lugares de producción, lo que además de reducir pérdidas en la comercialización, producirá un valor agregado al producto de procesamiento final.

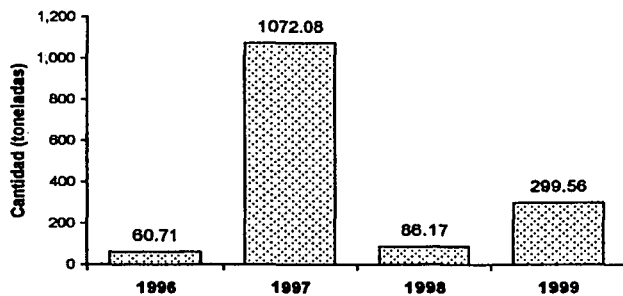
#### **4.1.3 Exportaciones e importaciones**

En el sector de las exportaciones, la manzana juega un papel irrelevante comparado con las importaciones, pero se ha incrementado de manera importante en los últimos años. De acuerdo al período 1996-1999, los volúmenes enviados al extranjero fueron de 1,518.53 toneladas (figura 4), comparado con 469.45 toneladas exportadas en 1990-1994 (SECOFI, 2000).

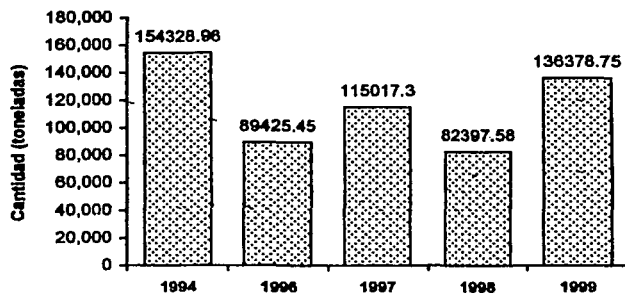
Las importaciones de manzana provienen de Estados Unidos principalmente y en menor medida de Nueva Zelanda, Canadá y Chile. Las compras al exterior mantenían un crecimiento constante en el período 1989-1994, pero para 1995, con la devaluación de la moneda nacional, la importación disminuyó alrededor de un 47% (Claridades Agropecuarias, 1995).

Para el período de 1996-1999 las importaciones se mantuvieron entre 82 mil y 136 mil toneladas (figura 5) (SECOFI, 2000).



**Figura 4. Exportaciones de manzana  
(1996-1999)**

Fuente: SECOFI, 2000

**Figura 5. Importaciones de manzana  
(1994,1996-1999)**

Fuente: SECOFI, 2000

## 4.2 ASPECTOS TÉCNICOS Y CIENTÍFICOS DE LA CONSERVACIÓN DE FRUTAS

### 4.2.1 Oscurecimiento enzimático en alimentos

#### 4.2.1.1 Generalidades

Uno de los índices más importantes para evaluar la calidad sensorial de los alimentos es el color, característica fundamental para su comercialización y consumo.

El oscurecimiento enzimático es uno de los principales problemas para el procesamiento y comercialización de una gran cantidad de alimentos, especialmente frutas como manzana, pera, durazno, plátano y uva; vegetales como papa, champiñón, berenjena, aguacate y lechuga; productos marinos como camarón, langosta y cangrejo.

Este proceso consiste en la modificación del color natural por la formación de pigmentos oscuros producidos al dañarse el tejido celular; este fenómeno es catalizado por enzimas y generalmente se considera indeseable. Incluso puede modificar las características organolépticas del producto, lo que ocasiona una vida de anaquel menor, reducción del valor en el mercado y en algunos casos el fin de su comercialización. Sin embargo, en productos como té, café, cacao, tabaco o sidra, el pardeamiento enzimático es esencial para la formación de colores y desarrollo de aromas característicos.

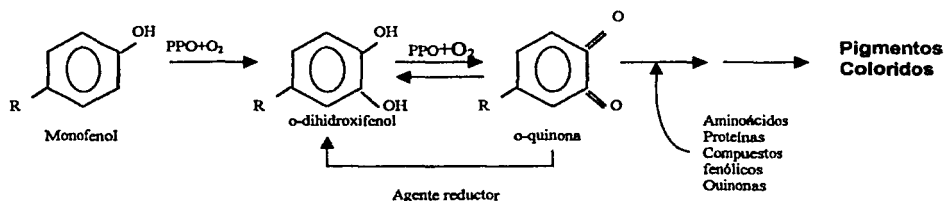
El sistema enzimático responsable del oscurecimiento se conoce como Polifenol Oxidasa (PPO). Este complejo enzimático incluye todas las enzimas capaces de oxidar compuestos fenólicos a orto-quinonas. Su nombre bioquímico es o-difenol oxireductasa, y cataliza dos tipos de reacciones: la ortohidroxilación de fenoles

monohidroxilados (actividad cresolasa), y la oxidación de fenoles dihidroxilados a las correspondientes o-quinonas (actividad catecolasa). Finalmente, las ortoquinonas se polimerizan por oxidación produciendo pigmentos de alto peso molecular conocidos como melaninas (figura 6) (Dondero y col., 1985). Naturalmente, las frutas y vegetales contienen los substratos fenólicos en compartimentos celulares separados del complejo PPO por lo que la reacción de oscurecimiento no se lleva a cabo, pero cuando el producto sufre un daño mecánico, el oscurecimiento se produce.

El pH óptimo de las PPO es entre 5.0 y 7.0; a pH menor de 3.0, su actividad se afecta irreversiblemente (Dondero y col. 1985).

El complejo enzimático es termolábil y puede ser inhibido por ácidos, ácidos fenólicos, agentes quelantes, agentes reductores, compuestos que reaccionen con el sustrato o con los productos de la reacción enzimática (Sapers, 1993).

Para que la reacción enzimática se lleve a cabo se requiere la presencia de oxígeno y cobre en el tejido celular dañado, el cual actúa como grupo prostético de la polifenoloxidasasa (Fennema, 1993).



**Figura 6.** Reacción de oscurecimiento enzimático en alimentos  
Fuente: Sapers, 1993.

#### 4.2.1.2 Actividad de polifenoloxidasa en manzana

Chávez y Tomas (1972), extrajeron y purificaron la PPO de manzanas, y encontraron que la concentración de la enzima es mucho mayor en el endocarpio y en la cáscara que en el mesocarpio de la fruta.

Almeida y Nogueira (1995), determinaron la actividad de PPO para diferentes cultivares de manzana (*Ana, Fuji, Gala y Golden*), de los cuales encontraron valores entre 3.0 y 6.3 unidades de actividad/mL. Estos valores de actividad enzimática se consideran bajos comparándolos con los que se encontraron para plátano (68.5 unidades/mL) y para champiñón (84.3 unidades/mL).

Los substratos naturales de PPO que se encuentran con mayor frecuencia en frutas son: el ácido clorogénico, catequina y epicatequina. En manzana, el substrato que se encuentra en mayor proporción es el ácido clorogénico (0.2-0.5 mg/g) según Coseteng y Lee, 1987. Además, se ha reportado presencia de epicatequina y otros compuestos fenólicos como esculetina y dihidroquercetina (figura 7) (Shanon y Pratt, 1967).

La cantidad de compuestos fenólicos y la actividad de la PPO están relacionados con el grado de madurez de la manzana y el tipo de cultivar. Coseteng y Lee (1987), reportaron que las concentraciones de ácido clorogénico y de compuestos fenólicos disminuyen en las primeras etapas de maduración, y se mantienen con pequeños cambios después de la cosecha bajo condiciones de refrigeración.

Por otra parte, Sapers y Douglas (1987) evaluaron 6 diferentes tipos de manzana, y encontraron que las especies *Red Delicious* y *Stayman* se oscurecen más rápidamente, mientras que la *Granny Smith* fue la que tuvo la menor rapidez de oscurecimiento enzimático.

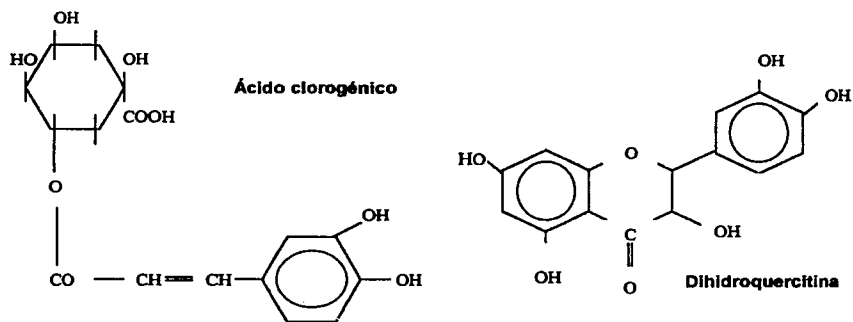


Figura 7. Sustratos fenólicos de polifenoloxidasas presentes en manzana  
Fuente: Dondero y col., 1985 y Shannon & Pratt, 1967.

#### 4.2.1.3 Inhibición del oscurecimiento enzimático

Existen varios métodos de inhibición del oscurecimiento enzimático durante el procesamiento de alimentos, pero para elegir la alternativa más efectiva para controlarlo se deben considerar razones de costo, toxicidad, tipo de producto y proceso, así como efectos en sabor, color y textura. Los más utilizados son los siguientes:

a. *Tratamiento térmico.* El escaldado es uno de los métodos más sencillos y efectivos para inactivar la PPO y otras enzimas a través de la desnaturalización con calor. Puede realizarse por inmersión en agua o por aplicación de vapor directo (Dondero y col. 1985).

Sin embargo, es recomendable que la temperatura y tiempo de escaldado se establezcan de acuerdo a las características del producto, ya que se puede afectar irreversiblemente su sabor y textura si el tratamiento térmico es muy severo, sobre todo en alimentos mínimamente procesados.

El tratamiento térmico que se recomienda para inactivar la PPO varía según el producto y su presentación (entero, trozos, rebanadas, pulpa). Por ejemplo, para inhibir totalmente la actividad enzimática en plátano se requiere una temperatura de 90°C por 2 minutos (Almeida y Nogueira, 1995). Por otra parte, Dimick y col., (1951) reportaron en manzana un 96% de inactivación a 90°C durante 10 segundos; mientras que Mortoya y col. (1997), reportaron para el cultivar *Starking Delicious* una inactivación total a 95°C durante 5 minutos.

Almeida y Nogueira (1995), propusieron varios tratamientos combinados para inhibir la actividad enzimática de PPO en manzanas, obteniendo que el más eficiente era el que incluía la combinación de ácido ascórbico, ácido cítrico, metabisulfito de sodio y tratamiento térmico con un porcentaje de inhibición cercano al 100%; mientras que el menos efectivo era el tratamiento con ácido ascórbico y EDTA. Además, encontraron que la PPO de manzana *Golden* es muy sensible y es inhibida más fácilmente que la de los otros tipos estudiados.

Es posible retardar la oxidación enzimática de compuestos fenólicos con el empleo de temperaturas de refrigeración; sin embargo, durante la elaboración de pulpas, purés y jugos no clarificados, en los cuales el tejido celular es dañado considerablemente, las bajas temperaturas no son suficientes para inhibir la actividad de PPO: por lo que es recomendable un tratamiento térmico casi inmediatamente después de la molienda del producto para evitar la oxidación (Montoya y col., 1997).

*b. Exclusión de oxígeno.* Este método de inhibición tiene la ventaja de no impartir efectos adversos sobre las características sensoriales del producto. Sin embargo, es limitado, ya que la oxidación ocurrirá inmediatamente después que el vegetal se ponga nuevamente en contacto con el aire.

La desoxigenación puede efectuarse por inmersión del producto en salmuera, jarabe, utilización de nitrógeno o mediante una reacción secuestrante de oxígeno utilizando ácido ascórbico o el complejo enzimático glucosa oxidasa/catalasa (Dondero y col. 1985). También se puede impedir la oxidación cubriendo el alimento con surfactantes (McEvily & Iyengar, 1992).

Estos procesos pueden resultar poco prácticos y costosos, por lo que se ha optado por el uso de agentes químicos.

c. *Sulfitos*. Los sulfitos reducen las o-quinonas producidas por la PPO, evitando su condensación para producir melaninas (coloridas), mediante la formación de difenoles (incolores). También son inhibidores del oscurecimiento no enzimático reaccionando con grupos carbonilo de intermediarios de la reacción de Maillard, previniendo así la formación de pigmentos (figura 8).

Los sulfitos empleados en alimentos son: dióxido de azufre, sulfito de sodio, bisulfito y metabisulfito de sodio o potasio (Ough, 1993):



Figura 8. Mecanismo de inhibición del oscurecimiento enzimático por sulfitos.  
Fuente: Dondero y col., 1985.



Además de prevenir el oscurecimiento, los sulfitos controlan el crecimiento de microorganismos y son antioxidantes muy efectivos.

Cuando son empleados en altas concentraciones, pueden ser corrosivos, impartir olores y sabores indeseables, además de destruir la tiamina (Ough, 1993). Lo anterior puede ser evitado, utilizando otros agentes como ácido cítrico y ascórbico para poder reducir la cantidad de sulfitos en la formulación.

Los sulfitos reaccionan fácilmente con azúcares reductores, aldehídos, cetonas y proteínas para formar varios compuestos sulfatados. En alimentos con pH menor a 4.0, el  $\text{SO}_2$  se volatiliza con facilidad; y durante el almacenamiento se conserva una mínima cantidad de sulfito inorgánico (Wedzicha, 1984).

No obstante, se ha restringido su uso en alimentos debido a que se ha encontrado que individuos asmáticos sensibles a los sulfitos presentan reacciones adversas que se manifiestan por episodios severos de asma. Adicionalmente, han sido implicados desde irritación en piel hasta diarrea (IFT, 1993).

*d. Ácidos orgánicos.* La adición de ácido cítrico, málico o fosfórico, permite disminuir el pH del medio a un valor menor a 3.0, inhibiendo de este modo la actividad de la enzima en forma irreversible.

El ácido cítrico es ampliamente utilizado, además porque tiene la capacidad de acomplejar al cobre, el cual funciona como cofactor en la reacción enzimática, además de tener un efecto sinergista con el ácido ascórbico (Doores, 1993).

Por su parte, el ácido ascórbico presenta un mecanismo de acción que se basa en reducir las quinonas a sus o-difenoles originales.

Sin embargo, su acción no es permanente y su producto de degradación, el ácido dehidroascórbico es precursor del oscurecimiento químico (Dondero y col., 1985).

*e. Compuestos sulfhidrílos.* Cistina, cisteína, tiocarbamida y tioamidas, actúan como inhibidores porque son capaces de adicionarse a las quinonas formando tioéteres incoloros, o bien reducen las quinonas a los o-difenoles originales (Iyengar y McEvily, 1992). Sin embargo, la cisteína tiene la desventaja de impartir olores y sabores indeseables a los productos.

*f. Otros inhibidores.* *Enzimas* como la o-metiltransferasa cataliza la metilación de sustratos fenólicos específicos para PPO en presencia de un donador metálico, inhibiendo así su acción. La 3,4-protocatequico oxigenasa cataliza la ortofisión de sustratos fenólicos en ácidos dibásicos no susceptibles a oxidaciones y polimerizaciones (Sapers, 1993). La desventaja de utilizar enzimas como inhibidores del oscurecimiento es que es un método muy costoso.

Los *sustratos fenólicos* actúan como inhibidores competitivos, siendo el ácido cinámico el más efectivo, siguiendo el ácido cumárico, ácido felúrico, ácido m-cumárico y ácido benzoico (Iyengar y McEvily, 1992).

El dióxido de carbono provoca una disminución sobre la actividad de PPO a través de un mecanismo de inhibición competitivo y reversible.

Agentes acomplejantes como ciclodextrinas y quitosán actúan sobre sustratos o productos de la catálisis enzimática previniendo la formación de pigmentos (McEvely, 1992).

La PPO también puede inactivarse con energía: rayos X, rayos catódicos, ultrasonido, rayos ultravioleta, radiaciones de alta frecuencia y microondas (Dondero y col., 1985).

#### **4.2.2 Tecnología de Factores Combinados (TFC)**

##### **4.2.2.1 Aspectos generales**

La estabilidad microbiológica y la seguridad de la mayoría de los alimentos se basa en una combinación de varios factores, también llamados barreras, las cuales los microorganismos presentes en el alimentos no deben sobrepasar (Leistner, 1994).

El efecto de estos factores combinados es muy importante en un alimento estable, ya que controlan por una parte el aspecto microbiológico y la producción de toxinas; y por otra, los procesos de fermentación en caso de ser necesarios durante la producción o el almacenamiento del producto.

Un fenómeno importante que debe considerarse en la conservación de alimentos es la homeostasis de los microorganismos. La homeostasis es la tendencia a la adaptación o estabilización dentro del ambiente normal de los organismos (Leistner & Gorris, 1995).

Si la homeostasis o equilibrio interno de los microorganismos es alterado por factores de conservación en un alimento, éstos no se multiplican, pueden mantenerse en la fase lag de crecimiento, o no sobrevivir a las condiciones adversas del medio antes de que su homeostasis sea reestablecida (Leistner, 1997).

Por lo tanto, la conservación de alimentos se basa en la alteración de la homeostasis de los microorganismos en los alimentos de manera temporal o permanente.

La supervivencia de los microorganismos dependerá de la carga inicial, naturaleza y concentración de los nutrimentos aportados por el alimento y de la intensidad de cada una de las barreras durante la elaboración o el almacenamiento (Sánchez, 1991).

El concepto de Tecnología de Barreras o Factores Combinados se fundamenta en el conocimiento apropiado de las interacciones complejas que se dan en la aplicación de temperatura, actividad de agua, pH, potencial redox, entre otras, para lograr la estabilidad de los alimentos (Leistner, 1997).

En alimentos conservados por TFC, existe la posibilidad que diversos factores no sólo tengan un efecto aditivo, sino que tengan la capacidad de actuar sinérgicamente. Un efecto sinérgico puede interpretarse de manera que cada factor ataque un blanco específico; por ejemplo, la membrana celular, DNA, sistemas enzimáticos, pH, potencial químico, mecanismo osmorregulador, etc.

Por lo tanto, es mucho más eficiente en la conservación de alimentos emplear varios factores en niveles bajos, que un solo factor en condiciones drásticas, que además puede afectar la calidad sensorial del producto.

En países industrializados la TFC se aplica principalmente para alimentos mínimamente procesados, mientras que en países en vías de desarrollo se aplica en la conservación de alimentos a temperatura ambiente (Leistner, 2000).

#### 4.2.2.2 Factores utilizados en la Tecnología de Métodos Combinados

Los factores o barreras usadas para la conservación de alimentos pueden aplicarse como parte del proceso, o bien, como un paso adicional del mismo.

Según Leistner (1999), actualmente se conocen más de 50 factores de uso potencial en alimentos (tabla 1), pero los más utilizados en la estabilización de frutas mínimamente procesados son los siguientes:

a) *aw*: El agua es el componente principal en la mayoría de los alimentos; contribuye en forma determinante en características de textura, apariencia, sabor y estabilidad. Es un factor importante en el deterioro de alimentos por el papel que desempeña en diferentes reacciones químicas y enzimáticas, así como en el desarrollo microbiano (Fennema, 1993). La actividad de agua está relacionada con el contenido de humedad de un alimento (a temperatura constante) por medio de una isoterma de sorción (figura 9). Los productos frescos perecederos tienen *aw* altas, normalmente superiores a 0.98, mientras que alimentos secos y estables presentan valores por debajo de 0.6 (tabla 2).

De acuerdo a Martínez y col. (1999), la *aw* es un factor clave para el crecimiento microbiano, producción de toxinas y resistencia al calor de los microorganismos. Los microorganismos son sensibles al estado del agua del medio y existen valores de *aw* límites por debajo de los cuales no pueden permanecer metabólicamente activos, es decir, no pueden multiplicarse, esporular o producir metabolitos.

Tabla 1. Factores aplicables en la tecnología de factores combinados

Temperatura	Aumento o disminución
pH	Aumento o disminución
Actividad de agua	Disminución
Potencial químico	Aumento o disminución
Atmósferas modificadas	Nitrógeno, bióxido de carbono, oxígeno
Empaques	Asépticos, al vacío, activos, consumibles
Presión	Alta
Radiación	Microondas, UV, irradiación
Otros procesos físicos	Mano-termosonificación, pulsos de alto campo eléctrico, pulsos de campo magnético-oscilatorio, energía de radiofrecuencia, inactivación fotodinámica
Microestructura	Emulsión, fermentación (salchichas), maduración (quesos)
Flora competitiva	Bacterias ácido-lácticas
Conservadores	Ácidos orgánicos, lactato, acetato, sorbato, ascorbato, fosfatos, propilenglicol, productos de la reacción de Maillard, etanol, especias, extractos, nitritos, nitratos, sulfitos, ozono, cloro, antioxidantes, antibióticos, bacteriocinas.

Fuente: Adaptado de Leistner (1999).

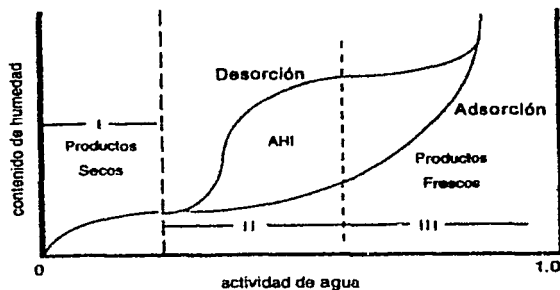


Figura 9. Isoterma de sorción de humedad típica de un alimento

Fuente: Welti y Vergara, 1997.

Tabla 2. Actividad de agua y crecimiento de microorganismos en los alimentos

Intervalo de aw	Microorganismos inhibidos por aw más baja del intervalo	Alimentos comprendidos en el intervalo
1.00-0.95	<i>Pseudomonas</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Shigella</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , algunas levaduras	Alimentos altamente perecederos (frescos), frutas enlatadas, verduras, carne, pescado, leche, salchichas cocidas y pan; alimentos que contienen hasta 40% de sacarosa o 7% de NaCl.
0.95-0.91	<i>Salmonella</i> , <i>Vibrio parahemolyticus</i> , <i>C. botulinum</i> , <i>Serratia</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , algunos mohos y levaduras ( <i>Rhodotorula</i> , <i>Pichia</i> )	Algunos quesos, carne curada, algunos zumos de frutas concentrados; alimentos que contienen 55 % de sacarosa o 12 % de NaCl.
0.91-0.87	Mayoría de levaduras ( <i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Hansenula</i> ), <i>Micrococcus</i>	Embutidos fermentados, dulces esponjosos, quesos secos, margarina; alimentos con 65% de sacarosa o 15% NaCl.
0.87-0.80	Mayoría de mohos ( <i>Penicillium</i> micotoxigénicos), <i>S. aureus</i> , mayoría de <i>Saccharomyces sp.</i>	Mayoría de zumos de frutas concentrados, leche condensada edulcorada, jarabe de chocolate, jarabe de arce y frutas, harina, arroz, legumbres con 15-17% de humedad, tarta de fruta, pasta de azúcar
0.80-0.75	Mayoría de bacterias halófilas, <i>Aspergillus</i> micotoxigénicos	Compota, mermelada, mazapán, frutas glaseadas, algunos pasteles de gelatina
0.75-0.65	Mohos xerofílicos ( <i>Aspergillus</i> , <i>A.candidus</i> , <i>Wallemia sebi</i> ), <i>Saccharomyces bisporus</i>	Productos de avena con 10% de humedad, dulce de chocolate, pasteles de gelatina, jaleas, melazas, azúcar de caña sin refinar, algunas frutas desecadas, frutos en nuez
0.65-0.60	Levaduras osmofílicas ( <i>Saccharomyces rouxii</i> ), pocos mohos ( <i>Aspergillus echinulatus</i> , <i>Monascus bisporus</i> )	Frutas secas con 15-20% de humedad, algunos tofus y caramelos, miel.
0.50	No proliferación microbiana	Pastas con 12% y especias con 10% de humedad
0.40	No proliferación microbiana	Polvo de huevo entero con 5% de humedad
0.30	No proliferación microbiana	Galletas, cortezas de pan con 3-5% de humedad
0.20	No proliferación microbiana	Leche entera en polvo, verduras desecadas, palomitas de maíz (2-5% de humedad)

Fuente: Fennema, 1993.

El límite inferior de actividad de agua para el crecimiento microbiano es 0.90 para la mayoría de las bacterias, exceptuando *S. aureus* que puede crecer a aw de 0.86 en aerobiosis; 0.87 para la mayoría de levaduras y 0.80 para los hongos. Las bacterias halófilas, levaduras osmófilas y hongos serófilos pueden crecer a aw superiores a 0.60.

La aw puede reducirse por deshidratación o por adición de solutos depresores como sales y azúcares.

Además de su efecto sobre los microorganismos, la aw también influye en la estabilidad y calidad química de los alimentos. Las cinéticas de reacciones de oxidación de lípidos, oscurecimiento no enzimático, degradación de vitaminas y pigmentos y cambios enzimáticos son altamente dependientes del contenido en humedad y aw de los sistemas alimentarios (figura 10).

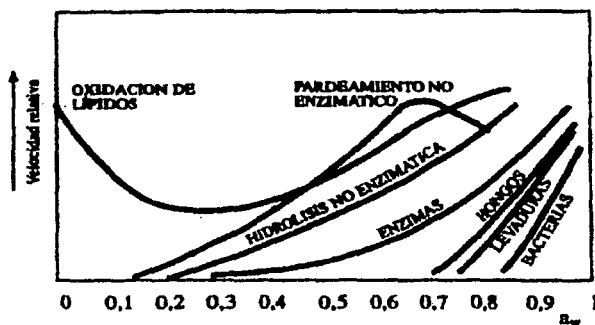


Figura 10. Velocidad relativa de diversas reacciones de deterioro en función de la actividad de agua. (Martínez y col., 1999).



*b) Tratamiento térmico.* El principal propósito es inactivar las enzimas que pueden provocar problemas de calidad durante el almacenamiento, además de una reducción importante en la flora microbiana. El calor provoca una inactivación de los microorganismos mediante la alteración de los mecanismos de transporte, de la semipermeabilidad de las membranas citoplasmáticas y por tanto la pérdida de iones, aminoácidos y componentes del ácido nucleico (Alzamora, 1999).

*c) pH.* El pH afecta la conformación de las proteínas, la síntesis enzimática y los productos finales del metabolismo de los microorganismos. Las bacterias, en general, requieren un intervalo de pH externo entre 4 y 9 para poder crecer, mientras que los hongos y las levaduras tienen mayor tolerancia, pudiendo desarrollarse en los intervalos de pH externo de 1.4-11 y 1.5-8, respectivamente (Alzamora, 1997).

Utilizar la disminución del pH como único factor de conservación no resulta factible debido a la alteración sensorial significativa que se produciría en el alimento. La acidificación de frutas se hace regularmente con ácido cítrico o fosfórico (Leistner, 1999).

Los niveles utilizados varían de acuerdo a las características de la materia prima. Por lo general se busca ajustar el pH entre 3.1 y 3.7, por una parte, para no afectar las características sensoriales, y por otra para garantizar el efecto aditivo de la acidificación.

*d) Antimicrobianos.* Generalmente se utiliza sorbato de potasio o benzoato de sodio en combinación con pequeñas cantidades de sulfitos (Leistner, 2000). El ácido sórbico y su sal el sorbato de potasio son ampliamente usados como conservadores antimicrobianos en alimentos. Aunque tienen actividad contra levaduras y hongos,

también se usan para controlar el crecimiento bacteriano en el caso de alimentos de humedad intermedia y de alta humedad.

El ácido sórbico ha sido ampliamente utilizado como un factor antimicrobiano muy eficiente en alimentos conservados mediante Tecnología de Métodos Combinados (Gerschenson y col., 1986).

El dióxido de azufre, se ha utilizado como conservador de los alimentos desde hace mucho tiempo. Las formas más comúnmente utilizadas son el dióxido de azufre gaseoso y los sulfitos sódico o potásico, bisulfito o metabisulfito, (Fennema, 1993).

Los sulfitos además de ser agentes antimicrobianos, inhiben reacciones enzimáticas, actúan como antioxidantes previniendo el cambio de color de los productos y evitan la oxidación de otros compuestos presentes como la vitamina C (Bogh-Sorensen, 1997). Reacciona fácilmente, y por tanto se pierde fácilmente durante el almacenamiento.

La intensidad de los factores utilizados debe ser controlada y establecida de acuerdo al producto, al proceso y al tipo de almacenamiento, ya que, un mismo factor puede tener efectos positivos y negativos en el producto dependiendo de su intensidad de uso. Para frutas frescas, mantenerlas a temperaturas de refrigeración (4-5°C), es un factor de conservación muy eficiente, pero si se someten a temperaturas menores pueden sufrir daño por frío.

Otro ejemplo de uso/abuso de factores es el empleo de sulfitos; en cantidades pequeñas son excelentes antimicrobianos, antioxidantes, inhibidores del oscurecimiento enzimático y no enzimático, pero si se añaden en concentraciones

altas, pueden impartir un sabor metálico indeseable al producto, además de promover efectos alérgicos en personas asmáticas sensibles (IFT, 1986).

#### 4.2.2.3 Aplicación de la TFC en frutas de alta humedad

En los últimos 20 años han ocurrido importantes desarrollos de tecnologías simples basadas en combinación de factores antimicrobianos como las formulaciones de frutas de humedad intermedia estables a temperatura ambiente. Esta tecnología ha sido aplicada extensamente en frutas tropicales y subtropicales de Asia (Alzamora, 1997).

Las frutas de humedad intermedia basan su estabilidad primordialmente en el control de la actividad de agua ( $a_w=0.60-0.90$ ) para prevenir el deterioro por bacterias y adicionalmente cuentan con conservadores para evitar el deterioro por hongos y levaduras, así como el deterioro químico.

Su preparación involucra una primera etapa de incorporación del humectante y del conservador, seguida de una etapa de deshidratación en corriente de aire para lograr el valor deseado de  $a_w$ . Las frutas de humedad intermedia comparadas con los productos totalmente deshidratados, presentan una mejor retención del sabor original y textura (Leistner, 1994).

Sin embargo, la aplicación de las tecnologías de humedad intermedia a frutas está limitada por consideraciones sensoriales, ya que el uso de altas concentraciones de soluto y/o el alto grado de secado requeridos para disminuir la  $a_w$  a valores microbiológicamente seguros alteran significativamente el sabor y aroma de la fruta (Alzamora, 1997).

Una alternativa a las frutas de humedad intermedia, son las frutas de alta humedad, estabilizadas en rangos de aw de 0.90-0.97. Con estos valores de actividad de agua, las propiedades físicas del producto (textura, apariencia, sabor, etc.) no son modificadas de manera importante (Alzamora, y col., 1989). La Tecnología de Factores Combinados aplicada a frutas de alta humedad se ha experimentado en Latinoamérica como mango, papaya, piña, plátano, chicozapote y durazno (Alzamora y col. 1993).

De acuerdo con Leistner (1999), la TFC aplicada a frutas de alta humedad, es un método de conservación económico, permite ahorrar energía (estables a temperatura ambiente), sencillo y puede implementarse en los lugares de producción.

## V. METODOLOGÍA

### 5.1 DESARROLLO EXPERIMENTAL

La conservación de manzana se realizó mediante la obtención de pulpa por la Tecnología de Factores Combinados, que consiste en combinar distintos parámetros en condiciones moderadas, consiguiéndose la estabilización del producto sin dañar considerablemente sus características sensoriales.

Con base en investigaciones previas sobre la estabilización de frutas a temperatura ambiente, se estableció el proceso representado en la figura 11, donde los factores de conservación fueron los siguientes:

- Tratamiento térmico
- Disminución de la actividad de agua
- Acidificación
- Adición de conservadores (sorbato de potasio, metabisulfito de sodio y ácido ascórbico)

La manzana utilizada es una variedad local de Acaxochitlán, Hidalgo. Fue adquirida directamente con el productor del fruto. Tiene un período de cosecha de solamente dos meses al año (julio-agosto). Antes de ser procesada, fue almacenada en lugar limpio, seco y a temperatura ambiente durante aproximadamente un mes hasta que alcanzara la madurez óptima de proceso.

Sus características físicas son muy variables, ya que presenta un color rojo no uniforme, rayada o con coloraciones amarillas y anaranjadas.

Esta variedad de manzana es muy difícil de comercializar debido a su estacionalidad tan corta y a la poca uniformidad que presenta en su color. Sin embargo, tiene un sabor dulce, ligeramente ácido, una firmeza y textura excelentes para el procesamiento.

Durante la selección de las manzanas, se eliminaron aquellas que presentaran daños físicos como golpes o magulladuras provocadas por la manipulación y el transporte del producto, sobremaduración, así como el deterioro por insectos y microorganismos.

Las manzanas fueron lavadas con agua corriente y detergente para remover impurezas de la cáscara tales como basura, polvo y otros contaminantes. Posteriormente fueron sumergidas en agua potable con 1.5 ppm de cloro para eliminar microorganismos que pudieran quedar adheridos al pedúnculo, donde la limpieza es más difícil de realizar.

La fruta fue pelada y descorazonada manualmente. Esta parte del proceso se realizó rápidamente, y en lotes pequeños (ocho manzanas), las cuales se sumergieron en agua potable posterior al pelado, todo esto con el fin de evitar el oscurecimiento previo al escaldado.

Las manzanas se cortaron en cubos de 1 cm de lado en una cortadora de frutas y hortalizas *Hobart*; posteriormente fueron escaldados dentro de un escaldador de acero inoxidable con capacidad de 10 L. El tiempo de escaldado fue de 5 minutos a temperatura de ebullición (92°C). Se han reportado diversos tiempos de escaldado en manzanas, sin embargo, para inactivar la polifenoloxidasas en casi un 100% se recomienda utilizar las condiciones anteriormente mencionadas (Montoya y col., 1997).

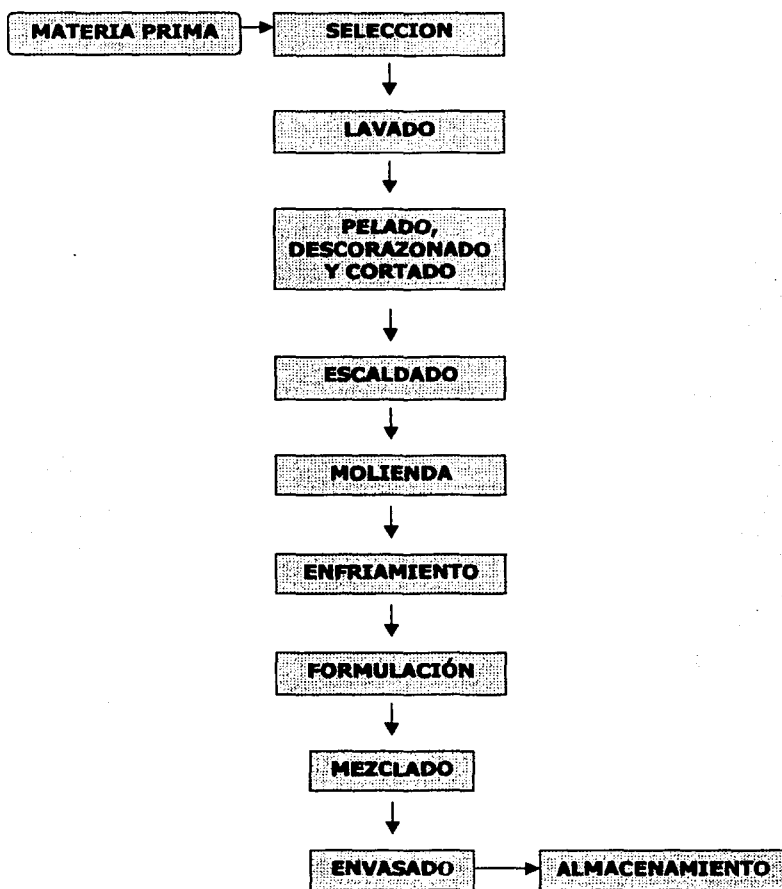


Figura 11. Diagrama de flujo para la elaboración de pulpa de manzana mediante factores combinados.

La molienda de los trozos de manzana se realizó en una licuadora semi-industrial *Miss Blend* de 12 L de capacidad a una sola velocidad hasta lograr una pulpa uniforme, aproximadamente durante dos minutos.

La pulpa se sometió a un enfriamiento hasta 30-35°C para evitar que los sulfitos al disolverse en el sistema se evaporaran como dióxido de azufre, y al mismo tiempo favorecer la integración completa de los ingredientes. Una vez obtenida la pulpa, se determinaron los rendimientos del proceso, considerando las diferentes proporciones del fruto (cáscara, corazón y pulpa).

Se busca obtener un producto estable con una actividad de agua alrededor de 0.96., por lo que, utilizando las ecuaciones de Ross y Norrish (Welti y Vergara, 1997), se calculó la cantidad de sacarosa a añadir en las formulaciones, dando como resultado un porcentaje cercano al 40%.

Para la formulación de las pulpas, se utilizó azúcar refinada comercial, otros investigadores prefieren utilizar glucosa o fructosa ya que, según Alzamora (1997), las moléculas más pequeñas, en ese caso los monosacáridos, tienen mayor capacidad de disminuir la  $a_w$  que la sacarosa en la misma proporción.

Generalmente se utiliza ácido cítrico para ajustar el pH del sistema según las condiciones del proceso y la fruta con la que se trabaje. Por ejemplo, para conservación de mango por TFC, Rojas y cols., (1994) utilizaron 0.5%. En todas las formulaciones se eligió adicionar el 0.3% de ácido cítrico, puesto que la manzana presenta cierta acidez en estado natural.



El ácido sórbico/sorbato de potasio es un antimicrobiano que se usa ampliamente en la conservación de frutas. Se han hecho estudios de estabilización por TFC de mango, plátano, papaya y piña, (Rojas y col., 1994; Salazar y col., 1990; Argaiz y col., 1991), en donde la cantidad de este antimicrobiano varía entre 0.1-0.3%. En todas las formulaciones se añadió 0.1% de sorbato de potasio, valor que se encuentra dentro de los límites estipulados por el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (1999).

El ácido ascórbico (AA), se adicionó principalmente para inhibir el oscurecimiento enzimático en concentraciones de 200 a 400 ppm. Por lo general, se utilizan en cantidades que varían entre 150 y 600 ppm. Se combinan y evaporan fácilmente durante el proceso y almacenamiento, por lo que siempre se busca adicionar una cantidad mayor de la que se desea que permanezca en el producto.

De acuerdo al Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (1999), en conservas y preparados de fruta, sólo se permite un máximo de 100 ppm de sulfitos totales. Como fuente de sulfitos se utilizó metabisulfito de sodio (MBS) de acuerdo al rendimiento de la tabla 3 para tener 100, 200 y 300 ppm de  $SO_2$  en la pulpa de manzana.

El ácido cítrico, el sorbato de potasio, el ácido ascórbico y el metabisulfito de sodio se mezclaron previamente con la sacarosa para favorecer la dispersión homogénea y se adicionaron por infusión seca a la pulpa de manzana. Se realizaron 10 diferentes formulaciones, las cuales se presentan en la tabla 4.

Tabla 3. Fórmulas químicas y contenido de  $\text{SO}_2$  de los sulfitos más importantes.  
Fuente: Luck y Martín, 1995.

Compuesto	Fórmula	Contenido activo de $\text{SO}_2$
Dióxido de azufre	$\text{SO}_2$	100.0 %
Sulfito de sodio anhidro	$\text{Na}_2\text{SO}_3$	50.82 %
Sulfito de sodio heptahidratado	$\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	25.41 %
Bisulfito de sodio	$\text{NaHSO}_3$	61.56 %
Metabisulfito de sodio	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$	67.39 %
Metabisulfito de potasio	$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$	57.68 %
Sulfito de calcio	$\text{CaSO}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	64.00 %

Tabla 4. Formulaciones utilizadas en la elaboración de pulpa de manzana por TFC.

Muestra (2)	Pulpa (%)1	Sacarosa (%)1	AA (ppm)	$\text{SO}_2$ (ppm)
S40.(control)	60	40	----	----
A2	60	40	200	----
A3	60	40	300	----
A4	60	40	400	----
M1	60	40	----	100
M2	60	40	----	200
M3	60	40	----	300
A2M2	60	40	200	200
A3M2	60	40	300	200
A4M2	60	40	400	200

AA: Ácido ascórbico

$\text{SO}_2$ : Dióxido de azufre

- (1) Se tomó como 100% la mezcla de pulpa y sacarosa, y con base en ésta, se añadieron los demás conservadores.
- (2) Las claves de las distintas formulaciones están relacionadas con la característica del aditivo que varía en las diferentes pulpas: para el ácido ascórbico la letra "A" y para metabisulfito de sodio la letra "M", los números indican la cantidad del ingrediente presente en la muestra multiplicada por cien (ppm).
- (3) Cabe mencionar que todos los reactivos utilizados fueron grado analítico.

El mezclado de ingredientes se realizó de manera suave y continua hasta su perfecta dispersión, aproximadamente durante 5 minutos.

Las pulpas obtenidas se envasaron en bolsas de polietileno (envase primario), introducidas en recipientes de plástico rígido con capacidad de 5 Kg (envase secundario) con tapa hermética.

La duración del estudio de estabilidad fue de seis meses a temperatura ambiente, dentro de los cuales se realizaron los análisis fisicoquímicos (2 veces al mes), microbiológicos y de color (1 vez al mes). Los lotes fueron de 3.0 kg cada uno. Para cada lote, se tomaron 800 g de pulpa y se almacenaron por separado para el muestreo microbiológico.

## 5.2 MÉTODOS DE ANÁLISIS

El comportamiento de las pulpas de manzana fue monitoreado durante 6 meses mediante análisis fisicoquímicos, microbiológicos y de color.

### 5.2.1 Actividad de agua

Se determinó por duplicado utilizando un psicrómetro electrónico *DECAGON CX-1*, el cual mide la  $a_w$  con base en la temperatura de bulbo húmedo. La muestra se coloca dentro de una cámara en la que se permite que alcance el equilibrio con la atmósfera que le rodea. Dentro de la cámara se encuentra un termopar que es enfriado y sobre el cual se condensa el vapor de agua generado por la atmósfera misma y la muestra. Posteriormente se provoca la evaporación del agua condensada sobre el termopar y la velocidad de evaporación se relaciona con la humedad relativa de la atmósfera en equilibrio con la muestra. A partir de dicha humedad el aparato registra directamente la  $a_w$  de la muestra (Welti y Vergara, 1997).

### 5.2.2 Humedad

La determinación se efectuó en una estufa convencional a una temperatura de 85-90°C hasta peso constante. Se realizó por duplicado utilizando 5 g de muestra (A.O.A.C., 1990).

### 5.2.3 Sólidos solubles (°Brix)

Los °Brix se determinaron directamente en un refractómetro *ATAGO Palette PR-200* a temperatura ambiente, (entre 23 y 25°C)

#### 5.2.4 Acidez titulable

Se determinó por el método 22.061, A.O.A.C.(1990), que consiste en una titulación ácido-base empleando NaOH 0.1 N en presencia de fenofaleína como indicador. Se pesaron 3 g de muestra y se diluyeron con 30 mL de agua destilada. La determinación se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como % de ácido cítrico, ya que es el acidificante utilizado en la formulación.

#### 5.2.5 pH

Por duplicado, se tomaron 5 g de muestra, se realizó una dilución al 20% p/v con agua destilada, y se agitó durante 10 minutos. La lectura se realizó en un potenciómetro digital *Orion Research* previamente calibrado con soluciones reguladoras de pH 4 y 7 (Pearson, 1976).

#### 5.2.6 Azúcares reductores

La determinación se llevó a cabo siguiendo el método de Lane-Eynon por triplicado. Se basa en la capacidad reductora de los azúcares con grupos aldehído y cetónico libres sobre un compuesto cúprico en medio alcalino (31.034, A.O.A.C. (1990)). Para la determinación de azúcares reductores totales se realizó una hidrólisis con ácido cítrico a ebullición durante 5 minutos. Los resultados se calcularon según las fórmulas reportadas en el Anexo II, y expresados en % en base seca.

### 5.2.7 Sulfitos residuales

El análisis de sulfitos totales empleado, se basa en una destilación selectiva seguida de una titulación yodométrica redox, según el método propuesto por De Vries y col. (1986) para alimentos. La determinación se realizó por duplicado con opción a tercería, y los resultados se expresaron en ppm de sulfitos totales.

### 5.2.8 Ácido ascórbico

Se analizó utilizando el método 43.064 de la A.O.A.C (1990) para la determinación de vitamina C. Consiste en una titulación en medio ácido con una solución estandarizada de 2,6-diclorofenol indofenol que es un indicador redox colorido (azul). El ácido ascórbico reduce el indicador, y al punto final de la titulación, se observa una coloración rosa pálido que debe persistir de 5 a 10 segundos. La determinación se realizó por triplicado. Los resultados fueron expresados en ppm de ácido ascórbico.

### 5.2.9 Análisis microbiológico

La estabilidad microbiológica fue analizada mensualmente mediante la estimación de mohos y levaduras (NOM-111-SSA1-1994) y mesofílicos aerobios (NOM-092-SSA-1994).

La preparación y dilución de las muestras se realizó de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994.

Las determinaciones microbiológicas para cada dilución se realizaron por duplicado.

### 5.2.10 Color

Para realizar la medición del color se utilizó un colorímetro triestímulo *Hunter Lab D25-PC2*, en donde un haz de luz blanca incide en la muestra con un ángulo de  $45^\circ$  y es reflejado de forma perpendicular a la superficie de la muestra (luz difusa). El haz de luz pasa después por los tres filtros X, Y, Z y es medido por la fotocélula o detector. Los valores X, Y, Z, son convertidos automáticamente por el equipo en coordenadas L, a, b.

Las mediciones se realizaron por duplicado y los resultados L, a, b, fueron analizados mediante una conversión a coordenadas cilíndricas (L, H, C), donde L es la claridad, H es la tonalidad y C es la cromaticidad o saturación (Calvo y Durán, 1997).

Las variables antes mencionadas están definidas por las siguientes ecuaciones:

$$C = (a^2 + b^2)^{1/2} \quad (1)$$

$$H = \arctan b/a \quad (2)$$

### 5.2.11 Análisis estadístico

Para determinar diferencias significativas entre las muestras, fue necesario analizar estadísticamente los valores de los parámetros que conforman el color de las muestras (*L*, *C* y *H*).

Para este efecto, se utilizó un Análisis de Varianza de tres factores (formulación, tiempo y repeticiones). Se argumentó la hipótesis nula ( $H_0$ ) que todas las formulaciones eran iguales, y una hipótesis alterna ( $H_a$ ) de que por lo menos una muestra fuera diferente del resto.

Posteriormente se aplicó el Método de la Mínima Diferencia Significativa, en donde se pudieron comparar todas las formulaciones para cada uno de los parámetros del color.

El porcentaje de confianza se tomó del 95% por ser resultados de tipo experimental sujetos a errores comunes.



## VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 6.1 CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA

Se realizaron algunas pruebas fisicoquímicas del tipo de manzana utilizada para caracterizar la materia prima y tener un parámetro de comparación con respecto al producto final. Los datos obtenidos se presentan en la tabla 5a.

Las características fisicoquímicas varían según el tipo de cultivar y del estado de maduración, por ejemplo, para la variedad *Starking Delicious*, Montoya y col. (1997) encontraron un pH de 3.5, acidez de 0.28% y °Brix de 11.4%, mientras que para la variedad *Red Delicious* reportaron 11% de °Brix. Bojorquez (1997) señala 10 mg/100 g de vitamina C en manzana, mientras que para la manzana roja rallada de Hidalgo se obtuvo una cantidad 1.15 mg/100 g solamente.

El valor obtenido para la materia prima se aproxima más al intervalo de aw reportado por Chirife y Ferro Fontan (1982) (0.975 a 0.988).

Tabla 5a. Características de la materia prima

PARÁMETRO	MANZANA ROJA RALLADA
aw	0.971
pH	3.87
Humedad (%)	83.42
Sólidos solubles (° Brix)	14.2
Acidez (% ácido cítrico)	0.12
Ácido ascórbico (mg/100 g)	11.5

Los rendimientos promedio del proceso de elaboración de pulpa de manzana fueron: 68.05% de pulpa, 17.09% de cáscara, 7% de corazón y 7.86% de merma.

Considerando el rendimiento del proceso, se calculó el costo por kilogramo de pulpa. Posteriormente, se obtuvo el costo de las diferentes formulaciones (tabla 5b); en donde se aprecia que el costo es aportado en su mayoría por los precios de la manzana y de la azúcar refinada. Al utilizarse cantidades tan pequeñas de los diferentes aditivos, las diferencias entre las formulaciones son muy pequeñas.

Tabla 5b. Costos de formulación por kilogramo de pulpa

<i>Ingredientes</i>	<i>\$/KG</i>	<i>S40</i>		<i>A2</i>		<i>A3</i>		<i>A4</i>		<i>M1</i>	
		<i>%</i>	<i>\$form</i>	<i>%</i>	<i>\$form</i>	<i>%</i>	<i>\$form</i>	<i>%</i>	<i>\$form</i>	<i>%</i>	<i>\$form</i>
Pulpa manzana	18.40	60.00	11.00	60.00	10.99	60.00	10.99	60.00	10.99	60.00	10.99
Azúcar refinada	6.80	40.00	2.71	40.00	2.71	40.00	2.71	40.00	2.71	40.00	2.71
Ac.cítrico	13.34	0.30	0.04	0.30	0.04	0.30	0.04	0.30	0.04	0.30	0.04
Sorbaro K	46.92	0.10	0.05	0.10	0.05	0.10	0.05	0.10	0.05	0.10	0.05
Ac.ascórbico	62.56	0.00	0.00	0.02	0.01	0.03	0.02	0.04	0.02	0.00	0.00
m-bisulfito Na	189.95	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02
<b>TOTAL</b>			13.79		13.80		13.81		13.81		13.81

<i>Ingredientes</i>	<i>\$/KG</i>	<i>M2</i>		<i>M3</i>		<i>A2M2</i>		<i>A3M2</i>		<i>A4M2</i>	
		<i>%</i>	<i>\$form</i>	<i>%</i>	<i>\$form</i>	<i>%</i>	<i>\$form</i>	<i>%</i>	<i>\$form</i>	<i>%</i>	<i>\$form</i>
Pulpa manzana	18.40	60.00	10.99	60.00	10.99	60.00	10.99	60.00	10.99	60.00	10.99
Azúcar refinada	6.80	40.00	2.71	40.00	2.71	40.00	2.71	40.00	2.71	40.00	2.71
Ac.cítrico	13.34	0.30	0.04	0.30	0.04	0.30	0.04	0.30	0.04	0.30	0.04
Sorbaro K	46.92	0.10	0.05	0.10	0.05	0.10	0.05	0.10	0.05	0.10	0.05
Ac.ascórbico	62.56	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.01	0.03	0.02	0.04	0.02
m-bisulfito Na	189.95	0.02	0.04	0.03	0.06	0.02	0.04	0.02	0.04	0.02	0.04
<b>TOTAL</b>			13.83		13.84		13.84		13.84		13.85

## 6.2 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

### 6.2.1 Sólidos solubles

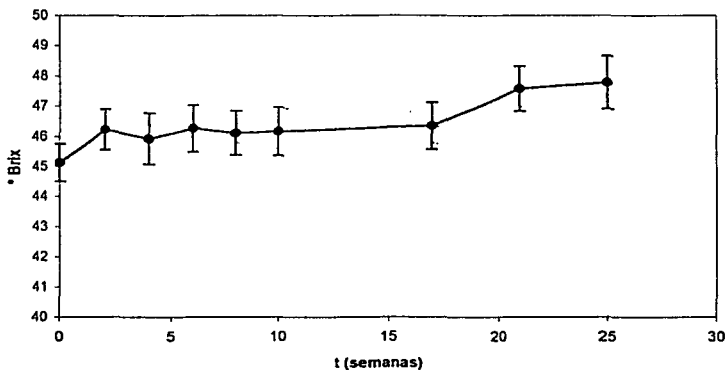
Se observó que durante las primeras semanas de almacenamiento las variaciones en el contenido de sólidos solubles es mínima (tabla 6); lo mismo fue reportado por Treviño y col. (1994), Rojas y col. (1991) para puré de mango; Ulate y Velázquez (1994) y Avena y col. (1988) para pulpa de piña y duraznos respectivamente, estabilizados por factores combinados. Aunque cabe señalar que después de la semana 18, se observó un ligero aumento en los grados Brix (figura 12), lo que podría relacionarse con la disminución de humedad de las pulpas durante el almacenamiento. Al haber menor cantidad de agua, la concentración de sólidos en el sistema aumenta.

La cuantificación de sólidos solubles se utiliza por lo general, para determinar la cantidad de azúcar en un producto. Sin embargo en el caso de la pulpa estabilizada, los sólidos solubles están dados por la sacarosa adicionada, y los azúcares propios de la materia prima (fructosa, sacarosa, glucosa), los carbohidratos de reserva (almidones), los estructurales (celulosa) y las pectinas.

Tabla 6. % de sólidos solubles de pulpa de manzana durante el almacenamiento

Muestras	tiempo (semanas)								
	0	2	4	6	8	10	17	21	25
S40	45.4	45.8	45.6	45.9	45.9	45.9	46.3	47.0	47.3
A2	44.2	44.8	44.4	45.0	44.8	44.7	45.0	46.5	46.5
A3	45.4	45.5	44.6	45.0	44.9	44.9	45.0	46.5	46.5
A4	45.5	46.2	45.6	45.9	46.0	46.0	46.2	48.0	47.9
M1		46.8	46.5	46.8	46.8	46.8	46.8	48.2	48.9
M2		46.5	46.5	46.8	46.7	46.5	46.8	47.8	48.6
M3		46.5	46.5	46.8	46.6	46.7	46.8	48.6	47.9
A2M2		47.0	46.8	47.1	46.8	47.1	47.3	48.2	48.7
A3M2		46.5	46.2	46.5	46.2	46.5	46.3	47.8	47.2
A4M2		46.6	46.5	46.8	46.3	46.5	46.9	47.1	48.2
Media	45.1	46.2	45.9	46.3	46.1	46.2	46.3	47.6	47.8
Desv.est.	0.6	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.7	0.9

Figura 12. Comportamiento promedio de los sólidos solubles en pulpa de manzana



### 6.2.2 Azúcares reductores directos, totales y sacarosa

Los azúcares reductores directos (ARD) representan el porcentaje de azúcares reductores presentes en la pulpa sin someterla a ningún proceso que pudiera dañar la estructura de los carbohidratos.

En la figura 13 se aprecia un aumento progresivo de los ARD a lo largo del almacenamiento. Esto se debe a que el producto tiene un pH ácido que favorece la hidrólisis de la sacarosa, produciendo monosacáridos con capacidad reductora.

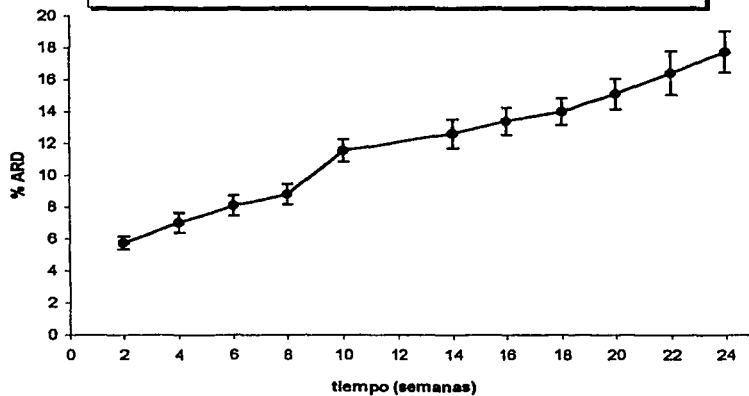
Estos resultados se corroboraron con los reportados por Treviño y col. (1994) para pulpa de mango, en donde los ARD aumentaron al doble durante 4 meses. En este caso, los ARD presentaron un incremento promedio de 3 veces su valor inicial durante los seis meses de almacenamiento (tabla 7).

Los azúcares reductores totales (ART) son el resultado del porcentaje de reductores obtenidos después de una hidrólisis ácido-térmica inducida de acuerdo a la metodología 5.2.6. En la figura 14, se observa el comportamiento promedio de los ART, en donde se aprecia muy poca variación de los mismos durante el almacenamiento. Esto se debe a que los ART deben permanecer constantes con respecto al tiempo, ya que al hidrolizar en cualquier momento la muestra, se cuantifica la cantidad total de azúcares en forma de azúcares reductores (ARD + los obtenidos de la hidrólisis de la sacarosa).

Tabla 7. % de Azúcares Reductores Directos en pulpa de manzana durante el almacenamiento (base seca)

Muestras	tiempo (semanas)										
	2	4	6	8	10	14	16	18	20	22	24
S40	6.17	7.00	8.44	9.71	12.19	14.71	14.67	15.20	16.38	18.04	18.91
A2	5.00	5.86	7.41	7.53	10.06	11.26	12.03	13.10	14.04	13.31	14.84
A3	5.23	6.49	8.06	8.39	11.70	12.37	13.34	15.05	16.51	18.02	18.84
A4	5.85	7.60	9.04	9.10	12.50	12.74	13.81	14.94	16.02	16.05	16.78
M1	6.02	7.31	6.59	9.25	11.42	12.76	13.72	13.96	15.31	16.46	17.20
M2	6.23	7.86	8.60	8.98	11.81	12.95	14.45	13.51	14.91	15.84	18.56
M3	6.00	7.73	8.78	9.17	12.05	12.93	13.71	14.17	15.16	17.23	18.94
A2M2	5.52	6.87	7.51	8.43	11.00	12.08	12.51	13.51	13.89	17.08	17.99
A3M2	5.70	6.69	7.92	8.26	11.27	12.31	12.78	12.92	14.38	15.94	17.11
A4M2	5.66	6.68	7.85	9.07	11.13	11.81	12.69	13.26	14.28	15.95	18.01
Media	5.74	7.01	8.02	8.79	11.52	12.59	13.37	13.96	15.09	16.39	17.72
Desv.est.	0.40	0.62	0.73	0.63	0.70	0.92	0.86	0.85	0.96	1.37	1.28

Figura 13. Comportamiento promedio de ARD en pulpa de manzana durante el almacenamiento



Treviño y col. (1994) no encontró variaciones considerables para mango y plátano respectivamente, mientras que Méndez y col. (1989), reportaron un aumento en los ART, el cual atribuyen a la presencia de ácido ascórbico, ya que puede combinarse químicamente durante el almacenamiento y al hidrolizarse de la misma manera que los azúcares, el compuesto formado podría tener también capacidad reductora. En el presente estudio, no se observó tal efecto (tabla 8).

Teóricamente, la sacarosa debe disminuir cerca de la mitad del aumento de los ARD. En este caso, los ARD aumentaron en promedio 12%; por lo que se esperaba obtener una disminución en la cantidad de sacarosa alrededor de 6 unidades porcentuales, sin embargo, el decremento total de sacarosa fue entre 10 y 15% (tabla 9). La tendencia descendente de la cantidad de sacarosa se aprecia en la figura 15. Es posible que al ser una hidrólisis muy agresiva y no selectiva, se haya cuantificado una cantidad superior de ART por hidrólisis de otros polisacáridos estructurales presentes en las pulpas, como por ejemplo: restos de pectinas y celulosa.

Tabla 8. % de Azúcares Reductores Totales en pulpa de manzana durante el almacenamiento (base seca)

Muestras	tiempo (semanas)										
	2	4	6	8	10	14	16	18	20	22	24
S40	71.26	64.80	61.12	64.85	75.01	67.50	72.64	71.15	69.17	72.42	71.68
A2	70.99	69.28	64.99	63.61	74.56	70.05	71.53	71.68	70.67	71.42	71.07
A3	71.97	70.80	66.70	60.61	77.08	73.06	73.16	74.73	75.78	75.07	75.10
A4	69.05	69.30	70.72	63.10	77.88	74.68	72.46	73.25	71.54	71.38	69.08
M1	72.88	72.95	65.83	68.32	74.91	73.67	75.20	68.89	70.93	67.70	68.46
M2	73.89	74.59	64.96	65.38	73.25	74.42	71.70	70.67	67.32	70.94	68.86
M3	72.72	72.67	66.28	64.37	78.37	76.59	73.30	73.54	70.34	70.28	70.44
A2M2	72.08	72.38	59.65	67.94	77.31	76.40	72.39	71.70	68.25	71.54	71.54
A3M2	73.31	69.31	65.66	65.20	79.93	76.78	75.31	67.32	70.02	73.24	67.99
A4M2	75.22	69.34	65.24	69.18	76.15	76.19	72.91	71.81	66.47	71.45	71.29
Media	72.34	70.54	65.11	65.26	76.45	73.93	73.06	71.47	70.05	71.54	70.55
Desv.est.	1.70	2.77	3.02	2.62	2.04	3.06	1.29	2.18	2.59	1.91	2.10

Figura 14. Comportamiento promedio de Azúcares Reductores Totales en pulpa de manzana durante el almacenamiento

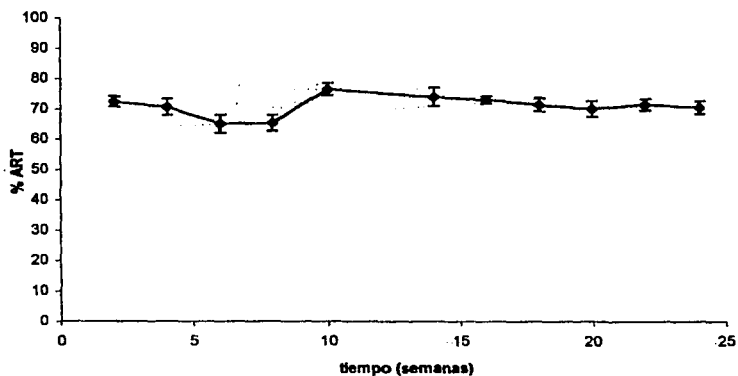
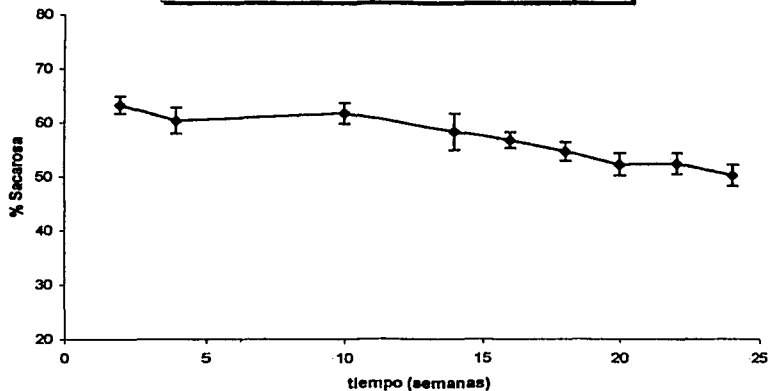




Tabla 9. % de sacarosa en pulpa de manzana durante el almacenamiento (base seca)

Muestras	tiempo (semanas)								
	2	4	10	14	16	18	20	22	24
S40	61.83	54.92	59.68	50.15	55.08	53.15	50.15	51.66	50.13
A2	62.69	60.24	61.27	55.85	56.52	55.65	53.80	55.21	53.41
A3	63.41	61.09	62.10	57.66	56.82	56.70	56.30	54.19	53.45
A4	60.04	58.62	62.11	58.84	55.72	55.39	52.74	52.57	49.69
M1	63.51	62.37	60.31	57.86	58.41	52.18	52.84	48.68	48.71
M2	64.28	63.40	58.37	58.40	54.39	54.30	49.79	52.35	47.78
M3	63.38	61.69	63.00	60.48	56.61	56.40	52.42	50.39	48.93
A2M2	63.24	62.24	62.99	61.11	56.89	55.28	51.63	51.74	50.87
A3M2	64.23	59.49	65.23	61.25	59.40	51.69	52.86	54.44	48.33
A4M2	66.09	59.53	61.77	61.16	57.21	55.63	49.58	52.72	50.62
Media	63.27	60.36	61.68	58.28	56.70	54.64	52.21	52.39	50.19
Desv.est.	1.59	2.43	1.93	3.38	1.47	1.75	2.05	1.95	1.97

Figura 15. Comportamiento promedio de sacarosa en pulpa de manzana durante el almacenamiento



### 6.2.3 Humedad

La disminución de humedad fue de aproximadamente 10% a lo largo del almacenamiento, la mayor parte del decremento se llevó a cabo sobre todo en los primeros dos meses, para después estabilizarse entre 43 y 45% (tabla 10, figura 16). Esto se debe a la capacidad que tienen los azúcares de solubilizarse y atrapar el agua libre del sistema, además, el empaque primario (polipropileno) es semipermeable por lo que debe considerarse la pérdida de agua por evaporación durante el almacenamiento.

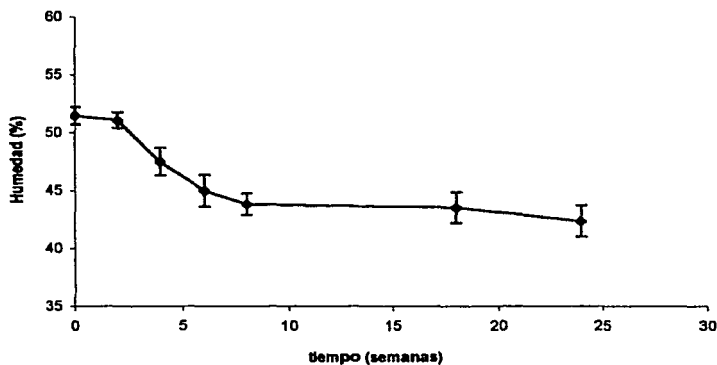
Treviño y col, (1994) y Elguezabal y col. (1994) reportaron comportamientos similares para mango, piña y tamarindo conservados mediante factores combinados. Sin embargo, no sólo los azúcares presentes afectan el comportamiento de la humedad, sino también los ingredientes adicionales, y las posibles interacciones entre ellos; por ejemplo, Rojas y col. (1994) observaron la mayor disminución de humedad en los primeros 15-días de almacenamiento para mango estabilizado por TFC sin adición de sacarosa.

Tabla 10. % de Humedad en pulpa de manzana durante el almacenamiento

Muestras	tiempo (semanas)						
	0	2	4	6	8	18	24
S40	51.77	51.62	48.71	44.13	44.04	43.31	43.11
A2	52.31	51.97	48.70	47.01	45.23	45.26	40.55
A3	51.23	52.05	47.82	46.60	44.59	45.90	44.49
A4	50.57	49.94	48.38	45.70	43.81	44.21	40.64
M1	—	50.51	47.15	44.13	43.93	41.64	40.70
M2	—	50.89	48.35	43.89	42.67	42.22	42.38
M3	—	50.87	47.50	44.92	42.86	43.79	42.45
A2M2	—	50.45	46.52	42.45	43.13	42.74	42.64
A3M2	—	51.42	46.68	45.19	42.74	42.67	42.66
A4M2	—	51.13	44.97	45.56	44.95	43.35	43.86
Media	51.47	51.08	47.48	44.96	43.80	43.51	42.35
Desv. est.	0.75	0.69	1.18	1.36	0.93	1.33	1.35

\* La desviación estándar total de las determinaciones por duplicado fue  $< \delta = 1.43$

Figura 16. Comportamiento promedio de la humedad en pulpas de manzana durante el almacenamiento



#### 6.2.4 Actividad de agua

Uno de los factores más importantes aplicados en la TFC es la disminución de actividad de agua del sistema. En este caso, la  $a_w$  de las pulpas disminuyó entre 0.008 y 0.0019 unidades, lo cual, en términos de actividad de agua representa un decremento significativo en la estabilidad del alimento (tabla 11).

Los resultados promedio de  $a_w$  obtenidos en las pulpas de manzana estuvieron en un rango de 0.909 y 0.923; por lo que las formulaciones propuestas se ubican dentro de los alimentos de alta humedad ( $a_w = 0.9-0.97$ ), en donde las características físicas como apariencia y textura son modificadas en mínima proporción con respecto al producto original (Alzamora, 1989), lo cual era uno de los principales objetivos.

Normalmente, un producto con valores de  $a_w$  alrededor de 0.90 es susceptible al deterioro microbiológico producido por gran variedad de microorganismos, pero en este caso, además del abatimiento del  $a_w$ , existen los factores de conservación adicionales que involucran la disminución del pH, la cual es una barrera muy importante para el desarrollo de microorganismos y el uso de sorbato de potasio, conservador muy eficaz a pH's ácidos en la inhibición de mohos y levaduras, microorganismos de gran importancia en productos de fruta con alta concentración de azúcar y pH bajo.

En la figura 17 se observa el comportamiento promedio de las muestras durante el almacenamiento en donde claramente se aprecia su disminución progresiva. Este efecto depresor producido por la sacarosa se atribuye a su solubilización en donde se va incorporando el agua disponible del sistema, además, la hidrólisis paulatina también contribuye, ya que, que según Alzamora (1997), la glucosa y la fructosa son

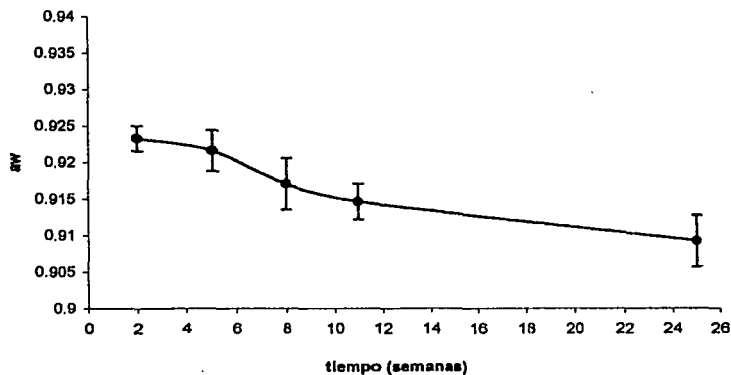
capaces de atrapar mayor cantidad de agua libre y de esta manera abaitir en mayor medida la actividad de agua del sistema.

**Tabla 11.** Valores de aw de pulpa de manzana durante el almacenamiento

Muestras	tiempo (semanas)				
	2	5	8	11	25
<b>S40</b>	0.924	0.923	0.914	0.911	0.906
<b>A2</b>	0.925	0.924	0.924	0.920	0.917
<b>A3</b>	0.926	0.925	0.921	0.916	0.914
<b>A4</b>	0.923	0.921	0.921	0.915	0.908
<b>M1</b>	0.923	0.922	0.916	0.916	0.910
<b>M2</b>	0.923	0.922	0.918	0.915	0.907
<b>M3</b>	0.924	0.922	0.917	0.913	0.905
<b>A2M2</b>	0.922	0.921	0.914	0.915	0.910
<b>A3M2</b>	0.923	0.922	0.917	0.916	0.909
<b>A4M2</b>	0.920	0.915	0.912	0.911	0.909
<i>Media</i>	0.923	0.922	0.917	0.915	0.909
<i>Desv. est.</i>	0.002	0.003	0.004	0.003	0.004

\* La desviación estándar total de las determinaciones por duplicado fue  $< \delta = 0.008$

**Figura 17.** Comportamiento promedio de la aw en pulpa de manzana durante el almacenamiento.



### 6.2.5 Acidez y pH

Los valores de acidez se mantuvieron prácticamente constantes, alrededor de 0.45% (ácido cítrico) (tabla 12, figura 18). Mientras que, en el pH, se observa en la figura 18 un incremento en los valores de todos los lotes en las primeras diez semanas, para posteriormente disminuir alrededor de los valores iniciales, manteniéndose entre 3.2 y 3.3. El aumento inicial promedio fue de 0.4 unidades de pH, es posible que esto se deba al período que tarda el sistema en encontrar un equilibrio entre los componentes para después estabilizarse (tabla 13, figura 19).

De igual forma, en varios estudios de estabilización de pulpa de frutas por TFC, ambos parámetros han sido registrados con variaciones mínimas (Avena y col., 1988; Rojas y col., 1990, Elguezabal y col., 1994 y Rojas y col., 1994). Algunos investigadores han reportado una disminución del pH; Rojas y col. (1991) para puré de mango, y Sánchez (1991) para puré de plátano, éste último atribuyendo la disminución a la probable formación de ácido sórbico por reacción del sorbato de potasio con agua y a la formación de iones hidronio a partir de la solubilización de la sal de sulfito de sodio añadida al puré.

Ambos parámetros son indicadores de la estabilidad microbiológica de las pulpas de manzana. Un aumento de acidez, se traduciría en cambios en la composición del sistema por la producción de ácidos orgánicos, por lo general atribuibles a los productos de la fermentación de azúcares por los microorganismos. En el caso de Treviño (1994), reportó que la acidez en puré de mango disminuyó notablemente (alrededor de 0.12%), lo que se relacionó con el aumento de mohos y levaduras de 10 a 500 UFC.

Tabla 12. % de acidez (ácido cítrico) en pulpa de manzana durante el almacenamiento

Muestras	tiempo (semanas)							
	2	4	6	8	10	17	21	25
S40	0.43	0.43	0.44	0.44	0.44	0.44	0.38	0.41
A2	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41
A3	0.42	0.42	0.42	0.43	0.40	0.44	0.39	0.43
A4	0.43	0.42	0.43	0.44	0.45	0.43	0.40	0.44
M1	0.45	0.45	0.45	0.44	0.43	0.47	0.44	0.45
M2	0.43	0.47	0.42	0.46	0.43	0.44	0.42	0.45
M3	0.46	0.46	0.45	0.46	0.45	0.47	0.41	0.46
A2M2	0.45	0.45	0.43	0.45	0.43	0.46	0.41	0.42
A3M2	0.43	0.42	0.44	0.43	0.48	0.46	0.41	0.43
A4M2	0.45	0.46	0.44	0.44	0.45	0.46	0.40	0.44
Media	0.43	0.43	0.43	0.44	0.43	0.45	0.40	0.43
Desv.est.	0.02	0.03	0.02	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03

\* La desviación estándar total de las determinaciones por triplicado fue  $< \delta = 0.03$

Tabla 13. pH de pulpa de manzana durante el almacenamiento

Muestras	tiempo (semanas)						
	2	4	6	8	10	16	26
S40	3.15	3.26	3.37	3.60	3.67	3.33	3.16
A2	3.25	3.38	3.40	3.67	3.69	3.40	3.24
A3	3.16	3.28	3.38	3.49	3.56	3.30	3.20
A4	3.19	3.36	3.41	3.47	3.53	3.33	3.20
M1	3.17	3.33	3.40	3.50	3.58	3.34	3.16
M2	3.21	3.33	3.38	3.71	3.72	3.37	3.17
M3	3.16	3.36	3.35	3.63	3.66	3.37	3.16
A2M2	3.18	3.40	3.39	3.73	3.75	3.39	3.20
A3M2	3.22	3.41	3.46	3.72	3.75	3.41	3.19
A4M2	3.25	3.42	3.46	3.62	3.68	3.41	3.19
Media	3.09	3.41	3.64	4.01	4.24	4.51	5.26
Desv.est.	0.36	0.20	0.78	1.33	1.91	3.81	6.88

\* La desviación estándar total de las determinaciones por duplicado fue  $< \delta = 0.02$

Figura 18. Comportamiento promedio de la acidez de pulpa de manzana durante el almacenamiento

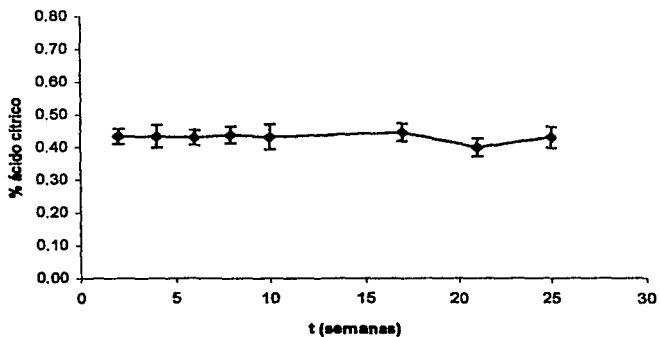
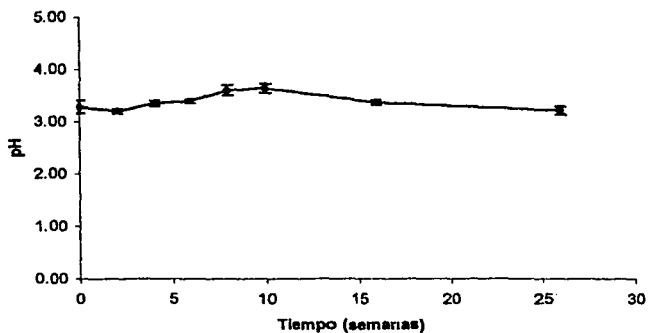


Figura 19. Comportamiento promedio del pH de pulpa de manzana durante el almacenamiento





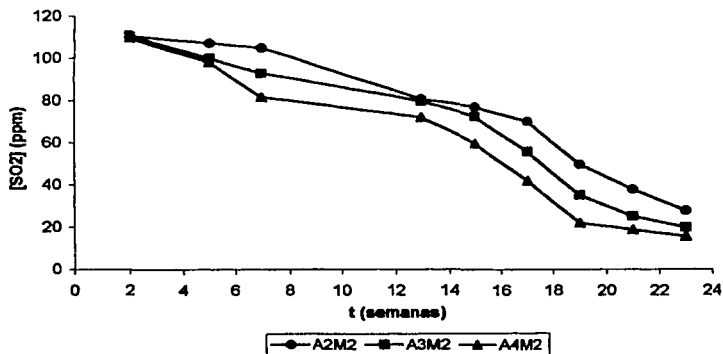
### 6.2.6 Sulfitos

Los sulfitos son muy inestables en sistemas alimenticios, se evaporan fácilmente como dióxido de azufre, pero el producto conserva una apariencia aceptable, como fue en el caso de las muestras estudiadas. En un período de 6 meses, el porcentaje de disminución de sulfitos fue por lo menos de 75%. La mayor degradación de sulfitos se presentó en la muestra que contenía la concentración más alta de vitamina C (figura 20). Lo anterior, probablemente debido a la facilidad con la que reaccionan los sulfitos con el grupo cetónico del ácido dehidroascórbico en solución (Ough, 1993).

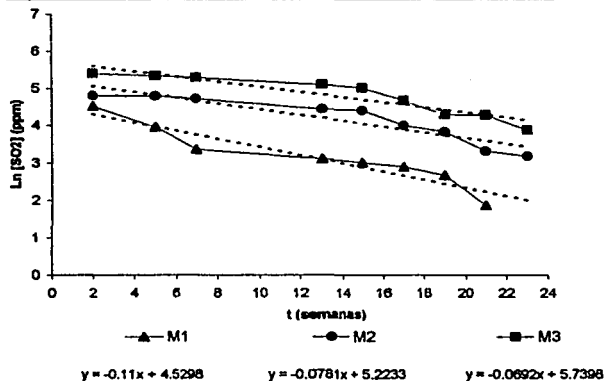
Rojas y col. (1991), reportaron una pérdida de sulfitos del 80% en puré de mango conservado por TFC en los primeros 3 meses, mientras que Argaiz y col. (1991), encontraron una disminución del 60% en piña y papaya tan sólo en las primeras cuatro semanas para después permanecer relativamente constante.

La figura 21 muestra que la pérdida de sulfitos puede modelarse como una cinética de primer orden con constantes de velocidad de  $11 \times 10^{-2}$ ,  $7.81 \times 10^{-2}$  y  $6.92 \times 10^{-2}$  días<sup>-1</sup> para 100, 200 y 300 ppm de sulfitos iniciales, respectivamente. La velocidad tan grande de degradación de SO<sub>2</sub> puede deberse en gran parte a la volatilización, que se favorece en alimentos con pH ácido (menor a 4). Stadtman (1948) propuso que la cinética de degradación del SO<sub>2</sub> en condiciones anaeróbicas de almacenamiento era de primer orden; por su parte, Argaiz y col. (1991) comprobaron que en presencia de oxígeno la reacción también era de primer orden con constantes de velocidad de degradación de sulfitos menores que las calculadas en el presente trabajo ( $2.9$  y  $3.2 \times 10^{-2}$  días<sup>-1</sup>).

**Figura 20. Disminución de SO<sub>2</sub> en pulpa de manzana durante el almacenamiento**



**Figura 21. Cinética de disminución de SO<sub>2</sub> en pulpa de manzana durante el almacenamiento**



Lo anterior puede deberse a que los sistemas estudiados son diferentes, ya que la pérdida de sulfitos en un alimento depende de la naturaleza química del mismo, el tipo de proceso usado, la longitud y condiciones de almacenamiento, así como del nivel de adición.

Las muestras que conservaron una mejor apariencia durante el almacenamiento, fueron aquellas que contenían metabisulfito de sodio (M1, M2, M3, A2M2, A3M2 y A4M2); lo anterior, se corroboró con los resultados de color reportados posteriormente.

Los sulfitos actúan de varias maneras en el control del oscurecimiento; pueden reaccionar reduciendo el oxígeno molecular presente en el sistema evitando su disponibilidad en reacciones oxidativas, tienen la capacidad de combinarse con las ortoquinonas y otros intermediarios de la reacción de oscurecimiento enzimático, en caso de que se presentara la reactivación de alguna actividad de polifenoloxidas previniendo de esta manera la formación de compuestos coloridos (figura 8) (Almeida y Nogueira, 1995), además fácilmente se pueden combinar con compuestos carbonílicos señalados como precursores del oscurecimiento no enzimático (azúcares reductores, carbonilos simples, dicarbonilos,  $\alpha$ - $\beta$  carbonilo insaturado) formando hidroxisulfonatos y otros compuestos derivados muy estables. Actúan bloqueando el grupo carbonilo del azúcar evitando las reacciones típicas de oscurecimiento no enzimático (Eskin, 1990). Por otro lado, también se ha reportado que los sulfitos son capaces de reaccionar con los pigmentos o melanoidinas produciendo un "efecto blanqueador" mediante la reducción de la intensidad de color (McWeeny y col., 1974 y Stadtman, 1948).

Adicionalmente, los sulfitos presentan propiedades antimicrobianas. Las bacterias son más sensibles a los sulfitos que los mohos y levaduras. Los sulfitos actúan principalmente a nivel de los enlaces disulfuro de aminoácidos azufrados ocasionando cambios conformacionales en enzimas además de reaccionar con el ATP celular. Se cree que también interaccionan con la membrana plasmática bloqueando el transporte celular, destruyen nutrimentos e inhiben la glicólisis y el metabolismo en general (Ough, 1993).

La Food Drug Administration (FDA) ha propuesto 300 y 2000 ppm como niveles máximos de sulfitos residuales en jugos de frutas y frutas deshidratadas, respectivamente (Sapers, 1993), mientras que, de acuerdo al Reglamento de Bienes y Servicios (1999), se permite un máximo de 100 ppm de sulfitos residuales en productos de fruta.

Las muestras que contenían inicialmente 200 ppm de sulfitos presentan una cantidad residual de 100 ppm después de 2 meses de almacenamiento, mientras que para la muestra con 400 ppm iniciales de  $SO_2$ , se requieren aproximadamente 5 meses para alcanzar los niveles permitidos por la legislación mexicana.

Se conoce también que el dióxido de azufre puede afectar la calidad del producto en cuanto al sabor, ya que puede proporcionar un sabor metálico y/o un olor pungente. En concentraciones bajas, es probable que no se detecten dichas características, sin embargo, el aditivo puede interactuar con los compuestos volátiles del alimento y afectar el sabor.

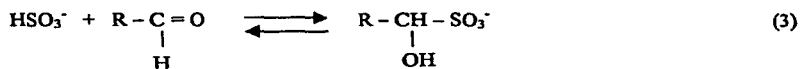
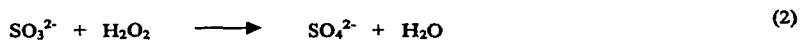
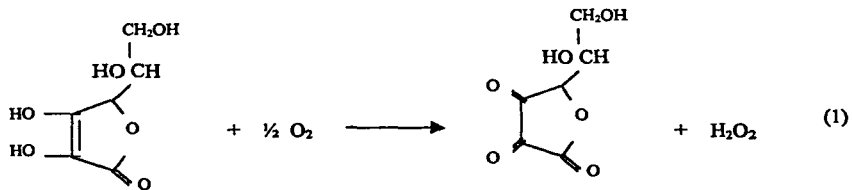
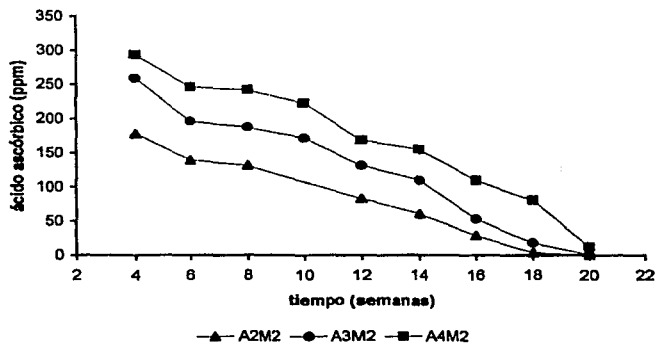
### 6.2.7 Ácido ascórbico

El ácido ascórbico actúa como secuestrante de radicales libres previniendo la oxidación, y tiene la capacidad de combinarse con las quinonas producidas en la reacción de oscurecimiento enzimático, reduciéndolas a sus o-difenoles originales, previniendo la subsecuente polimerización (Dondero y col., 1985). Adicionalmente, se ha reportado que a concentraciones altas, es capaz de inhibir directamente a la polifenoloxidasas.

El contenido de ácido ascórbico en las muestras sin sulfitos (A2, A3 y A4) disminuyó drásticamente, ya que a partir del segundo mes no fue posible detectarlo con el método utilizado, sin embargo, en aquellas que contenían metabisulfito de sodio (A2M2, A3M2 y A4M2), el ácido ascórbico fue disminuyendo más lentamente (figura 22).

Stadtman (1948) menciona que estudios realizados comprueban que el uso de  $\text{SO}_2$  disminuye la degradación de ácido ascórbico en jugos y concentrados de fruta. El efecto anterior podría explicarse ya sea porque los sulfitos reaccionan más fácilmente con el oxígeno molecular, o ya sea por la reacción de la figura 23 en donde los sulfitos impiden la degradación del ácido ascórbico el cual es muy inestable, se oxida rápidamente formando ácido dehidroascórbico (1), los sulfitos se combinan rápidamente con el peróxido de hidrógeno producido en la reacción evitando la subsecuente oxidación del ácido dehidroascórbico (2). Además, el dióxido de azufre estabiliza el ácido dehidroascórbico reaccionando con los enlaces cetónicos formando ácido hidroxisulfónico (3) (Ouhg, 1993).

**Figura 22.** Disminución de ácido ascórbico en pulpa de manzana durante el almacenamiento



**Figura 23.** Efecto antioxidante de los sulfitos sobre el ácido ascórbico  
Fuente: Ough, 1993.

Adicionalmente, Wedzicha, (1984) reportó que los compuestos oxo-sulfurados inactivan a la enzima ascorbato-oxidasa, responsable de la pérdida de ácido ascórbico en tejido macerado. Esta enzima está presente en la mayoría de los tejidos vegetales.

Avena y Merson (1987) detectaron que la pérdida de ácido ascórbico tiende a seguir dos reacciones de primer orden consecutivas: la primera dependiente del oxígeno disuelto en la pulpa, ésta prosigue hasta que el oxígeno disponible se agota; y la segunda, sigue un mecanismo anaeróbico.

En este caso, se encontró un comportamiento similar (figura 24), en donde se aprecian dos cinéticas de primer orden para cada concentración de ácido ascórbico. La primera etapa se ubicó en las primeras 14 semanas, donde las constantes de velocidad fueron  $9.93$ ,  $7.96$  y  $7.65 \times 10^{-2}$  días<sup>-1</sup> para 200, 300 y 400 ppm respectivamente, mientras que la segunda etapa fue mucho más rápida registrándose constantes de velocidad de  $73.29$ ,  $78.63$  y  $52.95 \times 10^{-2}$  días<sup>-1</sup> para las mismas concentraciones anteriormente mencionadas.

En las muestras con ambos aditivos, después de 3 meses, el ácido ascórbico había disminuido entre 56 y 58%, mientras que a los 5 meses la cantidad residual fue de menos del 0.3% para 300 ppm y 3.3% para 400 ppm de vitamina C inicial.

Elguezabal y col. (1994), detectaron pérdidas entre 90 y 95% para piña, parchita y tamarindo conservadas por TFC. Por su parte, Rojas y col. (1991) reportaron 80% de disminución de ácido ascórbico para mango, ambos durante 6 meses de almacenamiento. El ácido ascórbico es muy susceptible de sufrir deterioro químico debido a la temperatura, la concentración de sales o azúcares, el pH, la concentración de oxígeno y la presencia de luz (Ulate y Velázquez, 1994).

Debido a la estricta legislación en cuanto al uso de sulfitos en alimentos, una alternativa que se manejado dentro de los últimos años para inhibir el oscurecimiento enzimático, es la utilización del ácido ascórbico o sus derivados, sobre todo en aquellos procesos donde no exista un tratamiento térmico o las condiciones necesarias para eliminar una parte de los sulfitos adicionados.

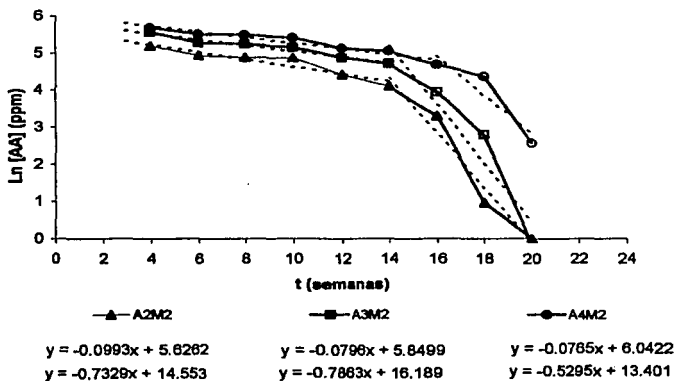
Sin embargo, el ácido ascórbico también está asociado a producir oscurecimiento de tipo no enzimático por si mismo. Se conoce que en presencia de oxígeno, el ácido ascórbico tiende a formar compuestos dicarbonílicos e intermediarios similares a los producidos en las reacciones de degradación de azúcares (Maillard y caramelización) como el furfural, etil-glioxal, L-xilosona, 3-deoxypentosa y 2-ceto-3-deoxi-L-pentono- $\gamma$ -lactona. (McWeeny y col., 1974).

Como se explicó anteriormente, la degradación de ácido ascórbico puede llevarse a cabo en presencia de oxígeno y en condiciones anaeróbicas, ambas producen compuestos precursores de pigmentos (Eskin, 1990). En presencia de oxígeno el ácido ascórbico se transforma principalmente en hidroxifurfural, aunque se han aislado 17 productos de degradación incluyendo ácido 2,3-dicetogulónico (3,4 enediol). Después de la degradación aeróbica, procede la anaeróbica en donde el principal compuesto producido es el furfural (Eskin, 1990).

El pH es un factor importante en estas reacciones, según Eskin (1990), el pH ácido favorece el oscurecimiento en jugos de frutas. Por ejemplo, pH de 3.4 en jugo de naranja.



**Figura 24. Cinética de disminución del AA en pulpa de manzana durante el almacenamiento**



### 6.2.8 Ácido cítrico y sorbato de potasio

Aunque en este estudio no se determinó la variación del ácido cítrico y sorbato de potasio, cabe mencionar su funcionalidad y comportamiento químico durante el almacenamiento.

El ácido cítrico cumple una doble función: disminuye el pH del medio e inhibe a la polifenoloxidasas mediante el acomplejamiento de su grupo prostético, el cobre en el sitio activo de la enzima (Iyengar y McEvily, 1992). Además tiene un efecto sinérgico con el ácido ascórbico para inhibir el oscurecimiento.

El sorbato de potasio actúa contra hongos y levaduras principalmente, aunque también tiene actividad bactericida en alimentos de humedad intermedia. Se ha reportado la degradación del ácido sórbico durante el almacenamiento de frutas por factores combinados, tal disminución sigue una cinética de reacción de primer orden, y es fundamentalmente la auto-oxidación del compuesto en solución acuosa producida por la cantidad de oxígeno presente, iones metálicos, luz, sales, pH, material de empaque y temperatura. (Yáñez y col., 1989; Gerschenson y col., 1986).

Un incremento en el pH disminuye la velocidad de degradación en soluciones acuosas, ya que el pKa del ácido sórbico es de 4.76, por lo que se sugiere que solamente las moléculas no disociadas son susceptibles a la degradación (Rojas y col., 1991; Sofos y Busta, 1993).

La combinación de sorbato de potasio con acidificantes - en este caso ácido cítrico y ascórbico -, mejoran la estabilidad de almacenamiento en productos de frutas (Alli y

Kermasha, 1989). Adicionalmente, el efecto antimicrobiano del sorbato se incrementa en presencia de ascorbato y dióxido de azufre (Sofos y Busta, 1993).

### 6.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Al no haber una norma específica para purés o pulpas de frutas, se tomó como referencia la NOM-093-SSA-1994 (Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos), en donde se estipula para salsas y purés cocidos máximo permisible de 5000 UFC/g de mesofílicos aerobios y 50 UFC/g de coliformes totales. Sin embargo, esta norma no establece un valor para mohos y levaduras.

Los resultados son expresados de acuerdo a la metodología utilizada. El valor más pequeño que puede detectarse es la presencia de una colonia en la dilución  $10^{-1}$ , por lo que, el valor de  $<10$  UFC/g, indica la ausencia de colonias en dicha dilución.

Se observó un aumento de mesofílicos aerobios y mohos y levaduras, sobre todo en las muestras que carecen de uno o dos factores presentes en otras formulaciones, lo cual corrobora la importancia de la interacción de todos los factores utilizados, así como de los niveles de uso aplicados (tabla 14).

La interacción de la reducción de la  $a_w$  y la disminución del pH es importante ya que la estabilidad microbiológica está muy relacionada con la cantidad de agua disponible en el alimento, así como del pH del medio. Por ejemplo, si se reduce el pH por debajo del óptimo de crecimiento, se puede incrementar el  $a_w$  mínima requerida para evitar la proliferación microbiana (Alzamora, 1997).

Por lo tanto se puede decir que las diez formulaciones estudiadas fueron estables microbiológicamente durante el almacenamiento, ya que en ninguno de los casos se obtuvieron cuentas microbianas de riesgo.

**Tabla 14.** Análisis microbiológicos iniciales y finales de pulpa de manzana conservada mediante factores combinados

ANÁLISIS Muestra	INICIAL		FINAL	
	Mesofílicos (UFC/g)	Mohos y Levaduras (UFC/g)	Mesofílicos (UFC/g)	Mohos y Levaduras (UFC/g)
S40	20	20	100	50
A2	20	20	50	<10
A3	<10	<10	60	20
A4	<10	<10	60	<10
M1	<10	<10	40	<10
M2	<10	20	30	<10
M3	<10	<10	30	<10
A2M2	20	<10	60	20
A3M2	<10	<10	30	<10
A4M2	<10	<10	20	<10

#### 6.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL COLOR

Después de analizar los resultados fisicoquímicos, los comportamientos de todas las formulaciones se observaron muy similares. En cuanto a los análisis microbiológicos, podemos decir que todos los tratamientos son efectivos para mantener la estabilidad microbiológica de las muestras, ya que se conservan dentro de los parámetros aceptados por la norma. Sin embargo, uno de los factores más importantes para determinar la calidad y la aceptación de una pulpa de manzana es el aspecto sensorial, que en este caso, fue determinado por la variación del color de las distintas formulaciones a lo largo del almacenamiento.

El cambio de color fue analizado utilizando el sistema CIELAB, en donde a partir de los valores obtenidos en un colorímetro Hunter en coordenadas rectangulares ( $L$ ,  $a$ ,  $b$ ), se calculan los valores en coordenadas cilíndricas:  $L$  (luminosidad),  $C$  (cromaticidad) y  $H$  (tonalidad), Calvo y Durán (1997).

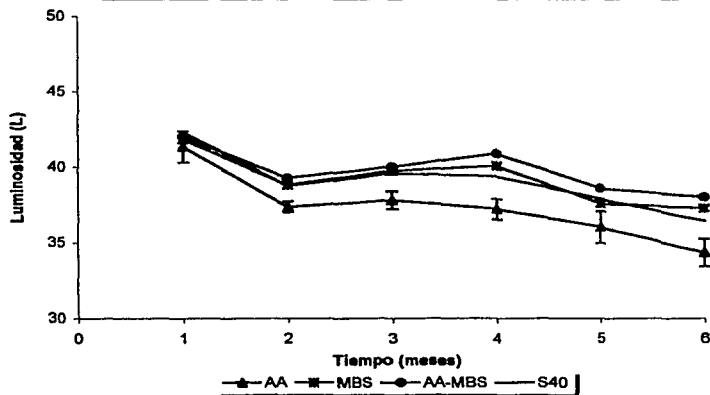
La luminosidad indica la oscuridad o claridad de una muestra, a mayor valor  $L$ , la pulpa es más clara. La cromaticidad, también llamada saturación, está determinada sólo por los valores  $a$  y  $b$  e indica la intensidad del color de la muestra, a mayor valor de  $C$ , el color presenta mayor saturación. La tonalidad define a la gama de colores involucrados en el sistema y corresponde al valor del ángulo en coordenadas polares. Para los valores de 0, 90, 180 y 270 corresponden los colores rojo, amarillo, verde y azul respectivamente.

Los parámetros en coordenadas cilíndricas fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) de tres factores (formulación, mes y repetición) y posteriormente se aplicó el Método de la Mínima Diferencia Significativa (LSD).

La disminución de la luminosidad es indicativo de la existencia de oscurecimiento (Martín y col., 1994). La luminosidad de todas las muestras fue disminuyendo a lo largo del almacenamiento (figura 25), aunque en algunas se observó un decremento mayor que en otras (tabla 15).

Para los datos de luminosidad, no se observó diferencia significativa entre la muestra control (S40) y aquellas que contenían las combinaciones de ácido ascórbico (AA) y metabisulfito de sodio (MBS). Por el contrario dicha diferencia se encontró entre las pulpas que contenían solamente AA y el resto de las formulaciones, en donde la disminución de luminosidad fue mayor. Por otra parte, la muestra que contenían 100 de MBS también presentó diferencia significativa tanto con las muestras con AA como con aquellas que contenían ambos aditivos (Anexo II).

**Figura 25.** Comportamiento promedio de la luminosidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento



**Tabla 15.** Luminosidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento

Muestras	tiempo (meses)					
	1	2	3	4	5	6
<b>S40</b>	42.30	38.75	39.55	39.35	37.80	36.40
<b>A2</b>	40.50	37.20	38.45	37.95	37.10	35.35
<b>A3</b>	41.00	37.10	37.55	36.65	35.00	33.75
<b>A4</b>	42.50	37.75	37.35	36.95	35.90	33.80
<b>M1</b>	40.90	37.65	40.05	39.95	36.85	37.15
<b>M2</b>	41.70	39.60	40.55	40.15	38.95	37.25
<b>M3</b>	42.90	39.10	38.60	41.25	36.90	37.30
<b>A2M2</b>	42.10	39.75	39.75	40.70	38.30	37.20
<b>A3M2</b>	42.40	39.90	40.35	41.20	39.40	37.95
<b>A4M2</b>	41.50	38.10	39.90	40.70	38.05	38.80

\* La desviación estándar total de las determinaciones por duplicado fue  $< \delta = 0.9$

En cuanto a los datos de cromaticidad, la variación para S40 fue ligera a lo largo del almacenamiento. Pero para las muestras que contenían AA, los valores fueron aumentando originando una intensidad de color mayor con respecto al control. Las formulaciones con AA y MBS presentaron una disminución sólo en los últimos dos meses con valores por debajo de los de la muestra S40. En cambio las muestras con 100, 200 y 300 ppm de sulfitos tuvieron resultados de saturación menores que S40 a partir del tercer mes, indicando así una menor intensidad del color (tabla 16, figura 26).

Para los valores de cromaticidad, de acuerdo al Anexo III, no se observó diferencia significativa entre las muestras que contenían MBS (M1, M2 y M3).

Las formulaciones A2, A3, A2M2, A3M2 y A4M2 no presentaron diferencia significativa entre ellas, sin embargo tuvieron una cromaticidad mayor que la muestra de referencia (S40).

La formulación A4 presentó los valores más altos de *C*, aunque no tuvo diferencia significativa con A2, A3 y A3M2. De esta forma, el color más intenso de las muestras se registró para la formulación con 400 ppm de ácido ascórbico, demostrándose que a estos niveles, en lugar de favorecer la conservación del color, se produce un color más intenso, lo cual se relaciona de cierta manera con una coloración más oscura.

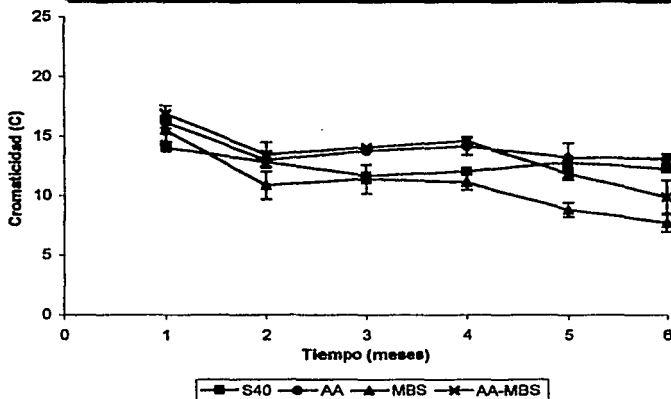


Tabla 16. Cromaticidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento

Muestras	tiempo (meses)					
	1	2	3	4	5	6
<b>S40</b>	14.01	12.96	11.65	12.01	12.80	12.24
<b>A2</b>	15.64	12.44	13.76	13.62	12.66	12.96
<b>A3</b>	16.16	12.81	13.78	13.85	12.28	12.79
<b>A4</b>	16.66	13.63	13.78	14.96	14.59	13.57
<b>M1</b>	14.69	9.73	11.96	10.74	8.22	8.53
<b>M2</b>	15.16	12.04	12.22	10.75	9.40	7.44
<b>M3</b>	16.50	10.83	10.00	11.87	8.85	7.13
<b>A2M2</b>	17.22	13.96	14.08	14.27	11.47	8.51
<b>A3M2</b>	17.31	14.10	14.14	14.90	12.40	9.89
<b>A4M2</b>	16.11	12.32	13.91	14.53	11.60	11.29

\* La desviación estándar total de las determinaciones por duplicado fue  $< \delta = 1.2$

Figura 26. Comportamiento promedio de la cromaticidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento



De acuerdo al Anexo IV, no existe diferencia significativa en la tonalidad de la muestra control y las muestras que contienen AA, sus valores son menores que los de las muestras con MBS. Al ser más cercanos a  $90^\circ$ , indican que el tono que presentan es amarillo-rojizo. Mientras los valores se aproximen hacia  $0^\circ$ , la tonalidad roja influye en el color total de la muestra manifestándose como pardeamiento, en este caso con una coloración amarilla más oscura (Calvo y Durán, 1997). La disminución de tonalidad se manifestó principalmente en los últimos 3 meses de almacenamiento produciendo un oscurecimiento no deseable en el producto. El color observado en estas muestras era amarillo ocre, ligeramente café.

Por el contrario, las muestras con AA si presentaron diferencia significativa con las formulaciones que contenían sulfitos, los valores de éstas últimas se registraron alrededor de  $120^\circ$  (más cercanos a  $180^\circ$ ), lo que corresponde a una tonalidad verde. Su color era claro, típico de pulpa de manzana fresca.

En la figura 27 se muestra la tonalidad promedio de las pulpas de manzana con y sin sulfitos, en donde se aprecia claramente la diferencia entre las muestras.

Los datos a detalle se muestran en la tabla 17.

Figura 27. Tonalidad de pulpas de manzana durante el almacenamiento

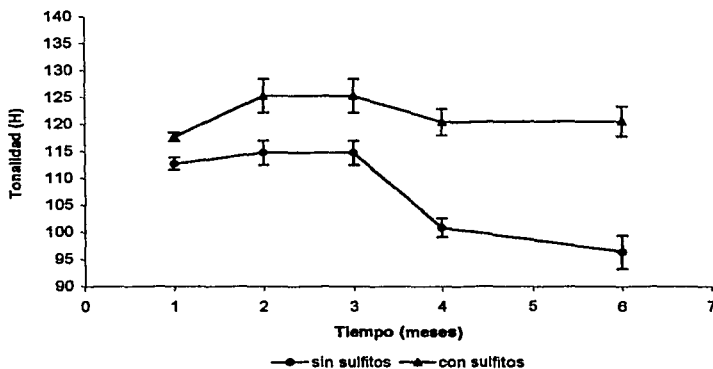


Tabla 17. Tonalidad de pulpa de manzana durante el almacenamiento

Muestras	tiempo (meses)				
	1	2	3	4	6
S40	109.60	115.68	115.68	100.80	96.81
A2	112.96	118.32	118.32	103.37	98.88
A3	111.80	113.46	113.46	100.82	96.74
A4	113.33	112.43	112.43	98.46	93.38
M1	119.36	126.22	126.22	122.06	119.87
M2	117.92	125.54	125.54	121.69	119.84
M3	116.25	127.87	127.87	121.21	125.58
A2M2	116.57	122.27	122.27	118.45	121.54
A3M2	117.90	122.85	122.85	118.03	120.72
A4M2	118.16	126.92	126.92	121.07	116.00

Con base en los análisis de color, el AA no produce efectos positivos en la conservación del color en la pulpa de manzana, por el contrario, disminuye su luminosidad y no presenta diferencia significativa en cuanto a la tonalidad con respecto a la muestra control (S40). Aunque cabe mencionar que si se aprecia diferencia en tonalidad entre 200 y 400 ppm de AA, en donde la muestra con 400 ppm resultó tener el color más oscuro.

Esto puede deberse a que, el AA es muy inestable y por lo general se encuentra en forma de ácido dehidroascórbico, el cual puede degradarse produciendo furfural de acuerdo al punto 6.2.7. Además el ácido ascórbico es menos específico en comparación con los sulfitos, y por lo tanto, penetra insuficientemente en la matriz celular de la fruta (Iyengar y McEvily, 1992).

El ácido ascórbico por su naturaleza química puede sufrir también *Degradación de Strecker* como los azúcares reductores, formando compuestos reductores esenciales para la formación de pigmentos (aldehídos, aminocetonas).

El MBS produjo una luminosidad similar a la muestra control, pero su efecto fue más notorio en la disminución de la cromaticidad y la tonalidad, traduciéndose en una coloración mucho más clara de las formulaciones que contenían sulfitos en comparación con las que no tenían dicho aditivo. De hecho, se percibió un "efecto blanqueador" y una apariencia de mayor frescura de las muestras.

En general, las muestras que no contenían MBS, se oscurecieron a lo largo del almacenamiento. Es poco probable pensar en la reactivación de la actividad enzimática, ya que la PPO además de haber sufrido desnaturalización por tratamiento térmico, el pH del sistema es muy bajo para que actúe sobre los sustratos.

Por otro lado, el oscurecimiento no enzimático es más factible. Aunque la reacción de Maillard no se favorece por las condiciones presentes en las pulpas (pH bajo, temperatura ambiente, bajo contenido de proteínas y/o aminoácidos), es posible que se lleve a cabo. A pH's bajos se favorece la producción del compuesto de Amadori vía bases de Schiff y posteriormente la formación del intermediario 1-2 eneaminol para producir 5-hidroxitimetilfurfural (5-HMF) (Eskin, 1990).

Para la formación de los intermediarios implicados en la producción de furfural y 5-HMF no es necesario contar con aminoácidos, ya que pueden producirse como resultado de deshidrataciones subsecuentes como en el proceso de la caramelización. Al aplicar el tratamiento térmico, no se utilizaron condiciones tan drásticas para alcanzar el punto de fusión de los azúcares y desencadenar un oscurecimiento inminente, sin embargo, la energía de activación y por tanto la reactividad de las moléculas se incrementó, con el tiempo de almacenamiento, la cantidad de agua y los ingredientes de la pulpa, es muy probable que después de las isomerizaciones de los azúcares (transformación de Lobry de Bruyn-Alberda van Eckenstein), se hayan producido deshidrataciones de una manera más lenta dando como resultado los mismos precursores necesarios para la formación de las melanoidinas.

Aunque la muestra M3 (300 ppm de sulfitos) tuvo los valores de tonalidad más altos, se recomienda utilizar la formulación M1 (100 ppm), ya que se apega a la legislación mexicana sobre el uso de sulfitos desde la concentración inicial, eliminando el factor del tiempo de almacenamiento que se necesite para obtener la concentración máxima permisible en el producto. Además, M1 presenta el mismo efecto que las concentraciones de 200 y 300 ppm puesto que no existe diferencia significativa a un nivel del 95% de confianza.

La combinación de AA y MBS en los niveles más bajos de estudio (A2M2) produce una pulpa con características similares de luminosidad, pero tonalidades mucho más claras e intensidad de color menores que la muestra control. Es muy probable que ambos aditivos actúen de manera sinérgica en la estabilidad de la pulpa y la conservación del color, además de que se previene la oxidación del ácido ascórbico de manera importante.

## VII. CONCLUSIONES

- Es posible obtener pulpa de manzana estable fisicoquímica y microbiológicamente por lo menos durante 6 meses a temperatura ambiente mediante la Tecnología de factores combinados.
- Se comprobó el comportamiento de una cinética de degradación de primer orden para sulfitos; en donde su disminución durante el almacenamiento depende de la concentración inicial adicionada.
- El uso de ácido ascórbico en las formulaciones propuestas genera oscurecimiento no enzimático. A concentraciones de 400 ppm produce un oscurecimiento mayor que el de la muestra control.
- El metabisulfito de sodio fue eficaz en la inhibición del oscurecimiento en pulpa de manzana estabilizada por factores combinados, en concentraciones de 100, 200 y 300 ppm de sulfitos adicionados en presencia de ácido cítrico y sorbato de potasio.
- Se recomienda utilizar tanto la formulación M1 (100 ppm sulfitos) como la formulación A2M2 (200 ppm de ácido ascórbico + 200 ppm de sulfitos) por ser aquellas en donde se logró de mejor manera la conservación del color de una pulpa de manzana mínimamente procesada. Además en A2M2 se aprovecha el sinergismo entre ambos aditivos en lo que se refiere al efecto antioxidante, conservador y el control del oscurecimiento enzimático y no enzimático.

## BIBLIOGRAFÍA

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis, 15<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists. E.U.A.

Alli, I. & Kermasha, S. 1989. Use of acidification, low temperatures and sorbates for storage of orange juice. *J. Fd. Sci.*, (54); 674.

Almeida, M. E. & Nogueira, J.N. 1995. The control of polyphenoloxidase activity in fruits and vegetables. *Plant Fd. Human Nut.* (47); 245-256.

Alzamora, S.M. 1997. Alimentos conservados por factores combinados. En: Aguilera, J. M. *Temas en Tecnología de Alimentos*. IPN-CYTED. México, 45-88.

Alzamora, S. M., Tapia, M. S., Argaiz, A. y Welti, J. 1993. Application of combined methods technology in minimally processed fruits. *Fd. Res. Int.* 26; 125.

Alzamora, S.M., Gerschenson, L.N., Cerruti, P., & Rojas, A.M. 1989. Shelf-stable pineapple for long-term non refrigerated storage. *Wess. M. Technol.* 22: 233-236.

Argaiz, A., López-Malo, A. y Welti, J. 1991. Conservación de frutas por factores combinados, papaya y piña. Desarrollo de alimentos de humedad intermedia importantes para Iberoamérica, *Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No. 4*. CYTED-D. México, 9-17.

Avena, R., Leyva, J. y Merson, R. 1988. Estabilización de Duraznos por el Método de Factores Combinados. Desarrollo de alimentos de humedad intermedia importantes para Iberoamérica, *Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No. 1*. CYTED-D. México, 3-9.

Avena, R. y Merson, R. 1987. Cinética de la degradación del ácido ascórbico en puré de mango durante tratamiento térmico y distinta disponibilidad de oxígeno disuelto. *Gestión Tecnológica No. 6*. Dirección General de Institutos Tecnológicos. México, 47-51.

Bogh-Sorensen, Leif. 1997. Description of Hurdles. Food Control Laboratory, Danish Veterinary Service, Denmark, 7-24.



- Bojorquez, M. G. 1997. Composición química de frutas y hortalizas. Curso de Industrialización de Frutas y Hortalizas. Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria. México.
- Calvo, D. y Durán, L. 1997. Propiedades físicas, ópticas y color. En: Aguilera, J.M. Temas en tecnología de alimentos., IPN-CYTED, 261-287.
- Chávez, A. R. y Tomas, J. 1972. Efectos del dióxido de carbono sobre la actividad de la polifenoloxidasas de manzana *Red Delicious*. Rev. ATA 15 (1); 114-121.
- Chirife, J. & Ferro Fontan, C. 1982. Water acitivity of fresh foods. J. Fd. Sci. 47 (2); 661-663.
- Claridades Agropecuarias No. 27. 1995. Manzana. Noviembre. México. 3-14.
- Coseteng, M.Y. & Lee, C.Y. 1987. Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. J. Fd. Sci. 52 (4); 985-989.
- De Vries, J.W., Ge, H., Ebert, F.J., Magnuson, J.M. & Ogawa, M.K. 1986. Analysis for total sulfite in foods by using rapid distillation followed by redox titration. J. Assoc. Anal. Chem. 69 (5), 827-830.
- Dimick, K. P., Ponting, J. D. & Makower, B. 1951. Heat inactivation of polyphenol oxidase in fruit purees. Fd. Tech. (6); 23.
- Dondero, M., Badilla, A., Tarky, W. y Garrido, F. 1985. Antecedentes sobre pardeamiento enzimático en alimentos. Alimentos 10 (2); 32-38.
- Doores. 1993. Organic acids. En: Davidson, M. y Larry, A. Antimicrobials in foods. Marcel Dekker. Inc. U.S.A., 108-111.
- Elguezabal, L., Navarro, P. y Daly, M. 1994. Preservación de tres frutas: piña, parchita y tamarindo, a granel, por métodos combinados. Desarrollo de alimentos de humedad intermedia importantes para Iberoamérica. Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No.2.CYTED--D. México, 62-71.
- Eskin. 1990. Biochemistry of Foods. Academic Press. Inc. 2nd.ed. Canada. 239-295.
- Fennema, O.R. 1993. Química de los Alimentos. Ed. Acribia, 3ª. ed; México, 65-67.

- Gerschenson, L. N., Alzamora, S. M. & Chirife, J. 1986. Stability of sorbic acid in model food systems of reduced water activity: Sugar solutions. *J. Food. Sci.*, 51 (4), 1028-1031.
- Hunter Lab. Manual de operación E.U.A. 1995.  
IFT. 1986. Sulfites as food ingredients. IFT Publishing. Chicago, 47-52.
- Iyengar, R. & McEvily, J. 1992. Anti-browning agents: Alternatives to the use of sulfites in foods. *T. Fd. Sci. & Tech.*, (3), 60-63.
- Leistner, L. 2000. Use of combined preservative factors in foods of developing countries, the microbial safety and quality of food. Aspen Publishers Inc. U.S.A., 294-313.
- Leistner, L. 1999. Combined methods for food preservation. Handbook of food preservation. Ed. By M. Shafiqur Rahman. New Zealand Food Research Institute. Marcel Dekker. U.S.A., 457-485.
- Leistner L. 1997. Introduction to hurdle technology. Federal Centre for Meat Research. Germany, 1-6.
- Leistner, L. & Gorris, G.M. 1995. Food preservation by hurdle technology. *T. Fd. Sci. & Tech.* 6, 41-46.
- Leistner, L. 1994. Food design by hurdle technology. Adalbert Raps Foundation. Germany.
- Lück, E. & Martin, J. 1995. Antimicrobial food additives, characteristics, uses, effects. 2<sup>nd</sup> ed. Ed. Springer. Alemania, 103,111.
- Martin, O., Monsalve-González, A. y Barbosa-Cánovas, G.V. 1994. Transferencia de masa, cambios de textura y reducción de pardeamiento en manzanas procesadas por métodos combinados. Desarrollo de alimentos de humedad intermedia importantes para Iberoamérica. Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No. 2. CYTED-D. México, 1-17.
- Martínez, N., Andrés, A.M., Chiralt, A. y Fito, P. 1999. Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno, IPN-Universidad Politécnica de Valencia, 53-76, 117-135, 139-361.

- McEvily, A.J. 1992. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages, *Crit. Rev. Fd. Sci. & Nut.*, 32 (3); 253-273.
- McWeeny, D.J., Knowles, M. E. & Hearne, J. F. 1974. The Chemistry of non-enzymic browning in foods and its control by sulphites. *J. Sci. Fd. Agric.*, (25), 735-746.
- Montoya, B.L., Robles-Ozuna, L.E., Molina-Sosa, D.M. y Martínez-Télez, M.A. 1997. Inactivación de polifenoloxidasas en fragmentos de manzana por escaldado. *Horticultura Mexicana*, 5 (2); 245-250.
- NOM-092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios, Dirección de Normalización Sanitaria.
- NOM-093-SSA1-1994. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios, Dirección de Normalización Sanitaria.
- NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras para su análisis microbiológico. Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios, Dirección de Normalización Sanitaria.
- NOM-111-SSA1-1994. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios, Dirección de Normalización Sanitaria.
- Ough, C. 1993. Sulfur dioxide and sulfites. In: Davidson, M. & Larry, A. *Antimicrobials in foods*. Marcel Dekker. Inc. U.S.A., 137-145.
- Ramaswamy, H. & Raghavan, V. 1997. *Postharvest technology of fruits and vegetables*. Food Science Textbook, Mc Gill University. Canada. 248.
- Pearson, D. 1976. *Técnicas de laboratorio para análisis de alimentos*. Ed. Acribia, España. 263.
- Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios. 1999. Título VIII. Frutas, hortalizas y sus derivados. Secretaría de Salud. México.

- Rojas, R., Avena, R. y Ortiz, I. 1990. Rebanadas de mango conservadas a temperatura ambiental mediante factores combinados. Desarrollo de alimentos de humedad intermedia importantes para Iberoamérica. Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No. 3. CYTED-D. México, 13-20.
- Rojas, R., Saucedo, A. y Avena, R. 1991. Puré de mango conservado mediante factores combinados. Desarrollo de alimentos de humedad intermedia importantes para Iberoamérica. Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No. 4. CYTED-D. México, 18-25.
- Rojas, R., Quintero, J. S., Rojas, J. C. y Coronado, B. D. 1994. Conservación de puré de mango mediante factores combinados envasado en grandes recipientes sin adición de sacarosa. Preservación de frutas a granel por el Método de Factores Combinados. Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No. 2. CYTED-D. México, 45-51.
- SAGAR. 2000. Datos de producción de manzana. Solicitud vía electrónica. México.
- Salazar, D. E., Tovar, G. B., Gutiérrez, M. P. 1990. Estabilización de pulpa de plátano. Desarrollo de alimentos de humedad intermedia importantes para Iberoamérica. Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No. 3. CYTED-D. México, 13-20.
- Sánchez, H. 1991. Elaboración de puré de plátano por métodos combinados en planta piloto. Escuela Nacional de Fruticultura, S.A.R.H. Tesis.
- Sapers, G.M & Douglas, F.W. 1987. Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. J. Fd. Sci. 52(5); 1258-1262.
- Sapers, G.M. 1993. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants and other means, Fd. Tech. 75-84.
- SECOFI. 2000. Datos nacionales de importación y exportación de manzana. Solicitud vía electrónica. México.
- Shannon, C.T. & Pratt, D.E. 1967. Apple polyphenol oxidase activity in relation to various phenolic compounds. J. Fd. Sci., (32); 479-483.
- Sofos, J. & Busta, F. 1993. Sorbic acid and sorbates. In: Davidson, M. & Larry, A. Antimicrobials in Foods. Marcel Dekker. Inc. U.S.A., 49-77.
- Stadtman, E.R. 1948. Non enzymatic browning in fruit products. Advances in Food Research. 1: 325-371.

Treviño, T. S., Tovar, G. B., Gutiérrez, M. P. y Rodríguez, D. A. 1994. Conservación de puré de mango por el método de factores combinados. Desarrollo de alimentos de humedad intermedia importantes para Iberoamérica. Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No. 2. CYTED-D. México, 35-44.

Ulate, R. J. y Velázquez, C. A. 1994. Evaluación del uso de factores combinados de conservación sobre la estabilidad de pulpa de piña (var. Cayena lisa). Desarrollo de alimentos de humedad intermedia importantes para Iberoamérica. Boletín de Divulgación de los Grupos Mexicanos No. 2. CYTED-D. México. 56-61.

Wedzicha, B. L. 1984. Chemistry of sulfur dioxide in foods. Elsevier Applied Science Publishing. 275-311.

Welti, Ch. J. y Vergara, F. 1997. Actividad de agua. En: Aguilera, J. M. Temas en Tecnología de Alimentos. IPN-CYTED. México, 11-43.

Williams, M. W., Drake, S. R. & Miller, S. S. 1992. Encyclopedia of Food Science and Technology, Apple and apple products. John Wiley & Sons Inc. 86-93.

[www.merck.com.mx](http://www.merck.com.mx) Febrero 2002. Catálogo de productos y precios.

[www.tibaker.com](http://www.tibaker.com) Marzo 2002. Catálogo de productos y precios.

## ANEXO I

FÓRMULAS PARA LA DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN PULPA DE FRUTAS  
BASADO EN EL MÉTODO LANE-EYNON (31.034 A.O.A.C., 1990)

Azúcares reductores directos:

$$\% \text{ARD} = \frac{0.05 \times \text{Volumen final de aforo (mL)} \times 100}{\text{Peso muestra (g)} \times \text{Volumen gastado (mL)}}$$

Azúcares reductores totales:

$$\% \text{ART} = \frac{0.05 \times \text{Volumen final de aforo (mL)} \times \text{dilución (mL)} \times 100}{\text{Peso muestra (g)} \times \text{Volumen gastado (mL)}}$$

Si Vol. Final de aforo = 250 mL, entonces:

$$\% \text{ARD} = \frac{1250}{P \times V}$$

$$\% \text{ART} = \frac{6250}{P \times V}$$

Sacarosa:

$$\% \text{ sacarosa} = (\% \text{ART} - \% \text{ARD}) \times 0.95$$

Azúcares Totales en Pulpa:

$$\% \text{AT} = \% \text{ARD} + \% \text{ sacarosa}$$

## ANEXO II

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LUMINOSIDAD EN PULPAS DE MANZANA

Tabla 2a. Analysis of Varianza. Parámetro LUMINOSIDAD - Tipo III. Suma de cuadrados

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrado medio	Valor F	Nivel sig.
EFFECTO					
A:L.FORMULA	137.10533	9	15.233926	19.034	0.0000
B:L.MES	315.52067	5	63.104133	78.845	0.0000
C:L.RE	0.32033	1	0.320333	0.400	0.5351
RESIDUAL	83.237333	104	0.8003590		
TOTAL (CORREGIDO)	536.18367	119			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Fteo= 1.98

Tabla 2b. Análisis de rangos múltiples para parámetro LUMINOSIDAD por FÓRMULA.

Método: 95 porciento DMS

Nivel Cuenta Promedio DM Grupos homogéneos

A3	12	36.841667	X
A4	12	37.375000	XX
A2	12	37.841667	X
M1	12	38.758333	X
M3	12	39.341667	XX
A4M2	12	39.508333	XX
S40	12	39.583333	XX
A2M2	12	39.633333	XX
M2	12	39.700000	XX
A3M2	12	40.133333	X

Tabla 2c. Análisis de rangos múltiples para LUMINOSIDAD por MES.

Método: 95 por ciento DMS

Nivel	Cuenta	Promedio	DM	Grupos homogéneos
-------	--------	----------	----	-------------------

6	20	36.545000		X
5	20	37.760000		X
2	20	38.450000		X
3	20	39.210000		X
4	20	39.485000		X
1	20	41.780000		X

Tabla 2d. Análisis de rangos múltiples para LUMINOSIDAD por REPETICIÓN.

Método: 95 por ciento DMS

Nivel	Cuenta	Promedio	DM	Grupos homogéneos
-------	--------	----------	----	-------------------

1	60	38.820000		X
2	60	38.923333		X



## ANEXO III

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CROMATICIDAD EN PULPAS DE MANZANA

Tabla 3a. Analysis of Varianza. Parámetro CROMATICIDAD - Tipo III. Suma de cuadrados

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrado medio	Valor F	Nivel sig.
EFFECTO					
A:SS.FORMULA	212.48000	9	23.608889	17.818	0.0000
B:SS.MES	367.91667	5	73.583333	55.533	0.0000
C:SS.RE	0.14700	1	0.147000	0.111	0.7433
RESIDUAL	137.80300	104	1.3250288		
TOTAL (CORREGIDO)	718.34667	119			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Fteo = 1.98

Tabla 3b. Análisis de rangos múltiples para parámetro CROMATICIDAD por FÓRMULA.

Método: 95 porciento DMS

Nivel	Cuenta	Promedio DM	Grupos homogéneos
M1	12	10.558333	X
M3	12	10.650000	X
M2	12	11.183333	XX
S40	12	12.108333	X
A4M2	12	13.141667	X
A2M2	12	13.275000	X
A2	12	13.541667	XX
A3	12	13.625000	XX
A3M2	12	13.841667	XX
A4	12	14.408333	X

Tabla 3c. Análisis de rangos múltiples para TONALIDAD por MES.

Método: 95 por ciento DMS

Nivel	Cuenta	Promedio DM	Grupos homogéneos
6	20	10.430000	X
5	20	11.165000	X
2	20	12.195000	X
3	20	12.935000	X
4	20	13.150000	X
1	20	15.925000	X

Tabla 3d. Análisis de rangos múltiples para TONALIDAD por RESPUESTA.

Método: 95 por ciento DMS

Nivel	Cuenta	Promedio DM	Grupos homogéneos
1	60	12.598333	X
2	60	12.668333	X

## ANEXO IV

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE TONALIDAD EN PULPAS DE MANZANA

Tabla 4a. Analysis of Varianza. Parámetro TONALIDAD – Tipo III. Suma de cuadrados

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrado medio	Valor F	Nivel sig.
<b>EFFECTO</b>					
A:H.FORMULA	8862.1383	9	984.68204	47.780	0.0000
B:H.MES	1312.5137	5	262.50273	12.738	0.0000
C:H.RE	0.3630	1	0.36300	0.018	0.8961
<b>RESIDUAL</b>	<b>2143.2917</b>	<b>104</b>	<b>20.608574</b>		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	<b>12318.307</b>	<b>119</b>			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Fteo= 1.98

Tabla 4b. Análisis de rangos múltiples para parámetro TONALIDAD por FÓRMULA.

Método: 95 por ciento DMS			
Nivel	Cuenta	Promedio DM	Grupos homogéneos
A4	12	103.35000	X
A3	12	104.54167	XX
S40	12	104.84167	XX
A2	12	107.57500	X
A3M2	12	120.44167	X
A4M2	12	121.25833	X
A2M2	12	121.38333	X
M2	12	122.00000	XX
M1	12	123.37500	XX
M3	12	125.40000	X

Tabla 4c. Análisis de rangos múltiples para TONALIDAD por MES.

Método: 95 por ciento DMS

Nivel	Cuenta	Promedio DM	Grupos homogéneos
6	20	110.93500	X
4	20	112.57500	XX
5	20	115.01500	XX
1	20	115.38500	XX
3	20	117.39500	X
2	20	121.19500	X

Nivel	Cuenta	Promedio DM	Grupos homogéneos
6	20	110.93500	X
4	20	112.57500	XX
5	20	115.01500	XX
1	20	115.38500	XX
3	20	117.39500	X
2	20	121.19500	X

Tabla 4d. Análisis de rangos múltiples para TONALIDAD por RESPUESTA.

Método: 95 por ciento DMS

Nivel	Cuenta	Promedio DM	Grupos homogéneos
2	60	115.36167	X
1	60	115.47167	X

Nivel	Cuenta	Promedio DM	Grupos homogéneos
2	60	115.36167	X
1	60	115.47167	X