



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

INACTIVACIÓN DE LA ENZIMA POLIFENOL OXIDASA EN UN ADEREZO DE AGUACATE, MEDIANTE UN TRATAMIENTO TÉRMICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

MARISOL OLVERA CALDERÓN

ASESORA:

DRA. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **TESIS**

Inactivación de la enzima polifenol oxidasa en un aderezo de aguacate mediante un tratamiento térmico

Que presenta la pasante: **Marisol Olvera Calderón**

Con número de cuenta: **30319458-1** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de marzo de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Francisco Montiel Sosa	
VOCAL	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	
SECRETARIO	IA. Ana María Soto Bautista	
1er SUPLENTE	M. en C. Víctor Manuel Avalos Avila	
2do SUPLENTE	M. en C. Araceli Ulloa Saaverdra	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).

HHH/pm



Agradecimientos

En primer lugar agradezco a **Dios Todo Poderoso**, por dejarme vivir y cumplir metas, gracias por la inteligencia que me das, porque puedo desarrollarme en todos los aspectos de vida. Gracias por darme unos padres maravillosos. Gracias Bendito Tú Dios Nuestro desde Siempre y hasta Siempre.

Agradezco a la fuente de inspiración para poder cumplir este proyecto: mi hermosa familia, en especial a mis padres **José Rosario Olvera Morales** y **Sonia Calderón Guevara**, ya que han puesto su plena confianza en mí, y me han brindado los medios para convertirme en lo que soy hoy, gracias por sus sabios consejos, que son inmensamente útiles, gracias que nunca me han dejado caer y siempre están en los momentos más difíciles, gracias por darme la oportunidad de realizarme profesionalmente porque siempre me han dado lo necesario para seguir adelante, y lo más importante gracias por el gran AMOR que me han dado a mí y a mis hermanos, ya que es el motor que nos mueve todos los días. Simplemente ¡GRACIAS!

A mis hermanos: **José Luis y Lupita** por estar siempre conmigo, por su gran apoyo y paciencia, por estar en los momentos buenos y con mayor intensidad en los malos.

A mi pequeña familia: **Mi hermano Antonio y su esposa Lizet**, porque siempre han estado ahí, por sus consejos y experiencia, y por ser mis mejores amigos.

A mis sobrinas: **Ximena Saray y Dulce María**, por ser la alegría de mi vida, son las que me demuestran todos los días que el miedo no existe, y su inocencia me inspira para seguir adelante.

A mi novio: **José Carmelo**, por llegar a revolucionar mi vida, por apoyarme a salir adelante, por su amor que me da cada día, por enseñarme que los objetivos se logran con dedicación y disciplina, gracias por estar a mi lado.

A mi segunda familia:

- Mi tía **Francisca Olvera** por estar siempre cuidándonos y al pendiente de nosotros, por su amor de madre; y en especial dedico esta tesis a mi tío **Alfredo Aguiñaga**, que aunque ya no esta con nosotros, pero desde el cielo nos sigue cuidando, por su gran amor y por sus grandes consejos que nunca faltaron, por enseñarme a siempre seguir adelante y ser fuerte, que “nada ni nadie nos debilite”.
- A mis primos: **Alfredo, Brenda y Paty**, por ser mis hermanos que siempre han estado atentos a todo momento de mi vida, por ser personas que incondicionalmente me brindan su ayuda siempre, por sus cuidados en todo este tiempo.
- A **Marco y Sofí**, por ser los nuevos integrantes de la familia, por su gran amor y apoyo.



Agradecimientos



A mis amigos de la universidad, "**el patan club**" Nancy Yazmin y Guadalupe, por ser una parte importante de mi vida, por compartir grandes momentos, de felicidad, desveladas de fiesta y de angustia, por todos los momentos. A Maricela, Lety, Ivonne y Linda, por cada una de las vivencias, apoyo, y cada cosa que vivimos juntas.

A mis amigos del trabajo: **Eder, Carlos, Gaby, Bety**, por enseñarme grandes cosas, y por insistir en los momentos que desisto, por dejarme entrar en su vida.

A la UNAM, la máxima casa de estudios, por abrirme sus puertas, por prepararme a mí y a muchos jóvenes académicamente para ser profesionales competitivos y de alto desempeño.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, por ser la institución que abre las puertas al conocimiento y especializarlo en las ingenierías y químicas, por los grandes momentos vividos, por los días de clases, exámenes, seminarios, fiestas quincenales, quemas de bata, es decir en todo momento.

Al laboratorio de Biotecnología, por darme la oportunidad de desarrollar éste proyecto, por todas las facilidades brindadas para el desarrollo de éste.

A la Dra. Susana Patricia Miranda, por la confianza y dedicación brindada para el desarrollo de este proyecto, por su paciencia que nunca se vio limitada, por entender los pequeños detalles presentes.

Al LEM de ingeniería en alimentos, por apoyo brindado, en el uso de equipos y por la asesoría del personal que siempre estuvo presente.

Este proyecto se lo ofrezco de todo corazón, a todos ustedes que has sido piezas clave para su realización.

Marisol Olvera Calderón

Ingeniería en Alimentos



Agradecimientos



Al apoyo PAPIIME PE203211 “Innovación y fortalecimiento a la enseñanza Teórico-Práctico de la Biotecnología para Asignaturas Terminales de las Ciencias Biológicas”, por el apoyo financiero para la realización de este trabajo.



Índice general

Índice de general	I
Índice de cuadros	VI
Índice de figuras	VIII
Resumen	1
Introducción	3

CAPITULO I. MARCO TEÓRICO

1.1 Aguacate	6
1.1.1 Valor nutritivo	6
1.1.2 Variedades de aguacate.....	7
1.1.3 Producción	8
1.1.4 Comercialización.....	9
1.1.5 Subproductos del aguacate.....	10
1.2 Dispersiones alimentarias	11
1.2.1 Emulsiones	12
1.2.2 Potencializadores del sabor	16
1.3 Alteración de los alimentos	16
1.3.1 Factores que intervienen en la alteración de los alimentos	17



1.3.2 Causas de alteración de los alimentos	18
1.4 Pardeamiento enzimático	21
1.4.1 El pardeamiento en los órganos vegetales	21
1.4.2 Pardeamiento y tratamientos tecnológicos	22
1.4.3 Mecanismos de pardeamiento.....	22
1.4.4 Reacciones de pardeamiento	24
1.4.5 Compuestos fenólicos, sustratos naturales de las PPO	26
1.4.6 Control del pardeamiento	27
1.5 Principios básicos de transferencia de calor	30
1.5.1 Tratamientos térmicos.....	30
1.5.2 Mecanismos de transferencia de calor	31
1.5.3 Transmisión de calor en procesado de alimentos	31
1.5.3.1 Ejemplos de transmisión de calor en el procesado de alimentos	32
1.5.4 Pasteurización	33
1.5.4.1 Elección de las condiciones de pasteurización	35
1.5.4.2 Equipos empleados en la pasteurización de líquidos sin envasar	35
1.5.4.3 Equipos empleados en la pasteurización de productos envasados	43
1.6 Análisis sensorial.....	44
1.6.1 Pruebas afectivas o ensayos hedónicos.....	44
1.6.2 Pruebas discriminativas	45
1.6.3 Pruebas descriptivas.....	46



CAPITULO II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general	49
2.2 Objetivos particulares	49
2.2.1 Objetivo particular 1	49
2.2.1.1 Hipótesis 1.....	49
2.2.2 Objetivo particular 2	50
2.2.3 Objetivo particular 3	50

CAPITULO III. Materiales y métodos

3.1 Cuadro metodológico	52
3.2 Actividades preliminares	53
3.2.1 Actividad preliminar 1. Formulación de aderezo de aguacate.....	53
3.2.2 Actividad preliminar 2. Evaluación sensorial.....	55
3.3 Desarrollo metodológico.....	56
3.3.1 Objetivo particular 1	56
3.3.1.1 Establecer las condiciones de tratamiento térmico para la inactivación de la polifenol oxidasa (PPO) y eliminación de la carga microbiana en aderezo de aguacate	56
3.3.1.2 Determinación de la PPO en aderezo de aguacate tratado térmicamente	58
3.3.1.3 Determinación de la carga microbiana en aderezo de aguacate tratado térmicamente	61
3.3.2 Objetivo particular 2	64



3.3.2.1 Aplicación de tratamiento térmico en un intercambiador de calor de superficie raspada en aderezo de aguacate, empleando las condiciones establecidas	64
3.3.2.2 Determinación de la PPO en aderezo de aguacate tratado térmicamente	66
3.3.2.3 Determinación de la carga microbiana en aderezo de aguacate tratado térmicamente	66
3.3.3 Objetivo particular 3	67
3.3.3.1 Determinación de la PPO en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico	67
3.3.3.2 Determinación de la carga microbiana en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico.....	68
3.3.3.3 Determinación de las propiedades fisicoquímicas en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico	68

CAPITULO IV. Resultados y discusión

4.1 Actividades preliminares	74
4.1.1 Formulación de aderezo de aguacate.....	74
4.1.2 Evaluación sensorial.....	74
4.2 Objetivos particulares	75
4.2.1 Objetivo particular 1	75
4.2.1.1 Condiciones de tratamiento térmico para la inactivación de la PPO y eliminación de la carga microbiana en aderezo de aguacate	75
4.2.1.2 PPO en aderezo de aguacate tratado térmicamente	76
4.2.1.3 Carga microbiana en aderezo de aguacate tratado térmicamente	79
4.2.2 Objetivo particular 2	81



4.2.2.1 PPO en aderezo de aguacate tratado térmicamente en un ISR	81
4.2.2.2 Carga microbiana en aderezo de aguacate tratado térmicamente en un ISR	82
4.2.3 Objetivo particular 3	82
4.2.3.1 PPO en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico en la evaluación de vida útil del producto.....	82
4.2.3.2 Carga microbiana en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico en la evaluación de vida útil del producto	86
4.2.3.3 Propiedades fisicoquímicas del aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico en la evaluación de vida útil del producto	87
CONCLUSIONES.....	94
ANEXOS	96
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98



Índice de cuadros

Cuadro 1.1 Composición nutrimental del aguacate	6
Cuadro 1.2 Contenido de vitaminas y minerales en aguacate	7
Cuadro 1.3 Tipos de dispersiones	12
Cuadro 1.4 Tipos de emulsionantes	15
Cuadro 1.5 Vida útil de almacenamiento de tejidos vegetales y animales	17
Cuadro 2.1 Niveles de variación de tratamiento térmico	49
Cuadro 3.1 Formulación de aderezo de aguacate	53
Cuadro 3.2 Parámetros a evaluar en la prueba sensorial	56
Cuadro 3.3 Niveles de variación	56
Cuadro 3.4 Normas para realización de pruebas microbiológicas	62
Cuadro 3.5 Agar microbiológico	62
Cuadro 3.6 Condiciones de inoculación	63
Cuadro 3.7 Registro de absorbancia	67
Cuadro 3.8 Registro de crecimiento de microorganismos	68
Cuadro 3.9 Registro de pH	69
Cuadro 3.10 Registro de estabilidad	71
Cuadro 3.11 Registro parámetros de color	72
Cuadro 4.1 Porcentaje de aceptación de aderezos de aguacate	74
Cuadro 4.2 Resultados de absorbancia en aderezo de aguacate a diferentes condiciones de tratamiento térmico	76



Cuadro 4.3 Velocidad de reacción de los aderezos tratados térmicamente	78
Cuadro 4.4 Porcentaje de inhibición de los aderezos tratados térmicamente	79
Cuadro 4.5 Carga microbiana en aderezo de aguacate a diferentes condiciones de tratamiento térmico	79
Cuadro 4.6 Resultados de absorbancia en aderezos de aguacate	81
Cuadro 4.7 Carga microbiana en aderezos de aguacate	82
Cuadro 4.8 Resultados de absorbancia en aderezo de aguacate con tratamiento térmico en la evaluación de vida útil del producto	83
Cuadro 4.9 Resultados de absorbancia en aderezo de aguacate sin tratamiento térmico (control) en la evaluación de vida útil del producto	84
Cuadro 4.10 Velocidad de reacción de los aderezos con y sin tratamiento térmico	86
Cuadro 4.11 Resultados de la actividad microbiana en los aderezos de aguacate en su evaluación de vida útil del producto	86
Cuadro 4.12 Resultados de pH de los aderezos con y sin tratamiento térmico	87
Cuadro 4.13 Resultados de estabilidad del aderezo tratado térmicamente	88
Cuadro 4.14 Resultados de estabilidad del aderezo sin tratamiento térmico	89
Cuadro 4.15 Parámetros de color de los aderezos con tratamiento térmico	92
Cuadro 4.16 Parámetros de color de los aderezos sin tratamiento térmico	92



Índice de figuras

Figura 1.1 Variedades de aguacate A) Aguacate Hass; (B) Aguacate Fuerte; (C) Aguacate pinkerton; (D) Aguacate Bacon	7
Figura 1.2 Producción de aguacate en el estado de Michoacán, 2000-2009	8
Figura 1.3 Productos a base de aguacate en industria alimentaria y cosmética	11
Figura 1.4 Dispersión alimentaria	12
Figura 1.5 Esquema de los procesos de floculación, coalescencia y separación en dos fases de una emulsión	13
Figura 1.6 Tipo de emulsiones en el campo de alimentos	13
Figura 1.7 Zona de tensión superficial en una emulsión	14
Figura 1.8 Estado de emulsiones en alimentos	14
Figura 1.9 Reacciones catalizadas por las polifenol oxidasas y lacasas, (1) Hidroxilación de un monofenol en o-difenol; (2) Deshidrogenación de un o-difenol en o-quinona; (3) Deshidrogenación un o- o p-difenol en o- o p-quinona	23
Figura 1.10 Mecanismos de pardeamiento enzimático: reacciones de las o-quinonas con los compuestos fenólicos (reacciones 1 a 3) y con compuestos no fenólicos (reacciones 4 a 8)...	25
Figura 1.11 Ejemplos de figuras ortodifenólicas presentes en las hortalizas	26
Figura 1.12 Inactivación térmica de la fracción termoestable de la hidrolasa acil-lipolítica, lipoxigenasa, polifenoloxidasas y peroxidasa de la patata en función de la temperatura .	27
Figura 1.13 Cambiador de calor trabajando en contracorriente	36
Figura 1.14 Evolución de las temperaturas de producto y fluido calefactor en un proceso en contracorriente	36
Figura 1.15 Cambiador de calor trabajando en paralelo	37
Figura 1.16 Evolución de las temperaturas de producto y fluido calefactor en un proceso en paralelo	37



Figura 1.17 Clasificación de cambiadores de calor más comunes	38
Figura 1.18 (A) Cambiador de calor de placas; (B) Esquema del flujo de fluido entre placas; (C) Vista de las placas para los cambiadores de calor	39
Figura 1.19 Esquema de un cambiador de calor tubular	39
Figura 1.20 Esquema de un cambiador de calor de tubos concéntricos	40
Figura 1.21 (A) Cambiador de calor de tubos concéntricos corrugados	40
Figura 1.22 Cambiador de calor de tubos y carcasa con dos pasos por los tubos	41
Figura 1.23 Cambiador de calor de superficie raspada	42
Figura 1.24 Cambiador de calor por inyección de calor	43
Figura 1.25 Pasteurizador por inmersión en baño de agua	43
Figura 1.26 Esquema de la recirculación de agua en un pasteurizador por lluvia de agua	44
Figura 1.27 Ejemplos de escalas de intervalo para la medición de la dureza	47
Figura 3.1 Cuadro metodológico	52
Figura 3.2 Diagrama de proceso de aderezo de aguacate	54
Figura 3.3 Tipos de aderezo de aguacate para evaluación sensorial	55
Figura 3.4 Espectrofotómetro Baush and Lomb	60
Figura 3.5 Tipos de agares	62
Figura 3.6 Disolución de la muestra	63
Figura 3.7 Preparación de aderezo en área estéril	64
Figura 3.8 Partes internas del ISR	65
Figura 3.9 Tubo de enfriamiento de ISR	65
Figura 3.10 Intercambiador de calor de Superficie Raspada	66
Figura 3.11 Potenciómetro VWR Scientific	69
Figura 3.12 Centrifuga clínica	71
Figura 3.13 Colorímetro Minolta	72



Figura 4.1 A: Aderezo de aguacate con tratamiento térmico a 65°C. B: Aderezo de aguacate con tratamiento térmico a 75°C. C: Aderezo de aguacate con tratamiento térmico a 85°C. D: Aderezo de aguacate control	75
Figura 4.2 Cinética de reacción del extracto enzimático del aderezo de aguacate tratado térmicamente a diferentes condiciones de tratamiento térmico	77
Figura 4.3 Determinación de la carga microbiana para los aderezos de aguacate tratados a diferentes temperaturas	80
Figura 4.4 Cinética de reacción del extracto enzimático de los aderezos de aguacate con y sin tratamiento térmico en su evaluación de vida útil del producto	85
Figura 4.5 A: Comparación de los aderezos de aguacate en prueba de estabilidad. B: Aderezo de aguacate con tratamiento térmico. C: Aderezo de aguacate control	90
Figura 4.6 Sólido de color de acuerdo Judd-Hunter	91
Figura 4.7 Configuración espacial CIELAB, la cual muestra la interrelación entre las variables L, a, b ...	91
Figura 4.8 Pardeamiento enzimático de los aderezos de aguacate durante su evaluación de vida útil del producto	93



Resumen

En este trabajo se evaluó la inactivación la enzima polifenol oxidasa en un aderezo de aguacate mediante un tratamiento térmico. Se establecieron las condiciones de proceso en un aderezo tradicional, posteriormente se realizó una evaluación sensorial en tres formulaciones diferentes en donde los ingredientes que variaron fueron agua, leche y vinagre. Los resultados demostraron que la formulación realizada con agua presentó una mayor aceptación, la cual se estableció para el posterior trabajo.

Se determinó la temperatura de inactivación de la enzima en muestras pequeñas de aderezo de aguacate, sometiéndolas a diferentes condiciones de tratamiento térmico en el laboratorio. Para establecer las condiciones de tratamiento en las que se inactiva la enzima, se determinó la actividad de la enzima polifenol oxidasa y la carga microbiana en cada uno de los aderezos tratados a diferentes condiciones.

Los resultados demostraron que las diferentes condiciones de tratamiento térmico influyen en la actividad de la polifenol oxidasa, ya que en todos los casos disminuye su actividad, y se estableció una temperatura de calentamiento de 75°C en un tiempo de 13min, ya que en estas condiciones la enzima no presentó actividad.

Se elaboraron 6000mL de aderezo de aguacate en área estéril, para ser sometido a tratamiento térmico en un intercambiador de calor de superficie raspada (ISR), donde posteriormente se aplicó una evaluación de vida útil. Para lo cual el aderezo tratado térmicamente en el ISR se almacenó en frascos de vidrio previamente esterilizados. Se comprobó la actividad de la polifenol oxidasa y la carga microbiana en una muestra tomada del aderezo de aguacate tratado térmicamente en un ISR con la finalidad de asegurar que el tratamiento térmico cumpliera con lo establecido en la prueba que se realizó anteriormente en el laboratorio. Se observó que el aderezo tratado en el ISR, no presentó actividad de la enzima, obteniéndose también una carga microbiana nula. Se corroboró que ambos aderezos tratados térmicamente en diferentes lugares, bajo las mismas condiciones presentaron los mismos resultados.

Se realizó la evaluación de vida útil del producto por un periodo de 9 semanas, evaluándose la actividad de la polifenol oxidasa, la carga microbiana, determinación de las propiedades físicas (pH, color y estabilidad). La evaluación se realizó en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico. Se compararon dos muestras semanalmente y las pruebas se realizaron bajo las mismas condiciones.



Los resultados demuestran que la cinética enzimática del aderezo control presentó una velocidad de reacción de 0.314 en promedio, expresada en unidades de abs/seg, siendo mayor en comparación con el aderezo tratado térmicamente ya que éste presentó una velocidad de 0.001, lo cual nos muestra que el tratamiento influye en la inactivación de la enzima.

La carga microbiana en el aderezo tratado térmicamente fue nula durante las 9 semanas de almacenamiento, en cuanto al aderezo control, presentó poca carga microbiana las últimas semanas de almacenamiento, esto debido a que el trabajo se realizó con una estricta calidad sanitaria.

En cuanto a las propiedades físicas, los resultados demuestran que el pH fue de 4.01 para ambos aderezos (con y sin tratamiento térmico), cumpliendo con lo establecido en la norma NMX-F-341-S-1979 (norma para aderezo con mayonesa) que se estableció como referencia, ya que no existe una norma para aderezos. En cuanto al color se observó que el aderezo control presentó una degradación mayor en comparación con el aderezo tratado, debido a que el tratamiento térmico inactivó la enzima polifenol oxidasa, la cual se encarga del pardeamiento enzimático. Los resultados demostraron que el aderezo tratado térmicamente presentó una mayor estabilidad durante su evaluación de vida útil, en comparación con el aderezo control, ya que en éste la separación de componentes fue mayor que el aderezo con tratamiento.



Introducción

La alteración de los alimentos se da desde el momento en que se cosechan, se recogen o se sacrifican, empiezan a pasar una serie de etapas de descomposición progresiva. Dependiendo del alimento, esta descomposición puede ser lenta o rápida que vuelve prácticamente inutilizable al alimento en pocas horas. En las causas de deterioro de los alimentos influyen una serie de factores ambientales: la temperatura tanto alta como baja, la humedad y sequedad, el aire y más particularmente el oxígeno, y la luz, y junto a todas ellas el tiempo, puesto que todas las causas de degradación de los alimentos progresan con el tiempo y, una vez sobrepasado el período transitorio en el cual la calidad del alimento es máxima, cuanto mayor sea el tiempo transcurrido mayores serán las influencias destructoras.

Las causas de alteración en los alimentos pueden ser químicas, físicas y biológicas que se traducen en un cambio en las características sensoriales del alimento. Las causas más comunes de alteración son de naturaleza biológica y entre éstas, sin duda las más importantes por los daños económicos producidos, son los microorganismos y las enzimas naturales de los alimentos (Casp y col, 2003).

Una enzima es una proteína que actúa como catalizador biológico, llevando a cabo reacciones químicas a muy altas velocidades, no se somete durante la reacción y en general presenta un elevado grado de especificidad. Si estas enzimas no son inactivadas, siguen catalizando reacciones químicas en los alimentos y algunas de estas reacciones, si no se les permite progresar más allá de un cierto límite, son deseables, por ejemplo la maduración de alguna fruta después de la cosecha y el ablandamiento natural de la carne, pero más allá del límite óptimo, estas reacciones llevan a la descomposición de los alimentos y los tejidos debilitados son atacados por infecciones microbianas. Existen otras enzimas que no son específicas de los vegetales, tales como la lipoxigenasa y la polifenol oxidasa, que intervienen en los procesos post-maduración en los vegetales y cuyos efectos no son deseables (aparición de olores y colores desagradables y las lipasas que son causantes de la lipólisis, enrancimiento lipolítico) (Badui, 2006; Casp y col, 2003).

Es frecuente observar, principalmente durante la conservación y el transcurso de las transformaciones tecnológicas fenómenos de “pardeamiento” en los órganos vegetales carnosos (frutos y hortalizas). La aparición de pigmentos pardos, cuyo color acaba superponiéndose a los colores naturales, ocasiona importantes modificaciones de las cualidades organolépticas, generalmente con una depreciación de los órganos vegetales y de los productos que de ellos se derivan. Estos pardeamientos son generalmente de origen enzimático (Tirilly y col, 2001).



El pardeamiento es un fenómeno que se da por la presencia de compuestos fenólicos que ocasionan cambios de color, se realiza en dos etapas: una etapa enzimática que conduce a la formación de orto-quinonas y una etapa no enzimática que termina con la polimerización y condensación de las quinonas en “complejos pardos”. Pueden aparecer en la ralladura o corte, se intensifican en la preparación de zumos o pulpas. Los compuestos fenólicos se localizan principalmente en las capas más externas del floema, presentan un gradiente decreciente desde el xilema hacia el cortex y son relativamente abundantes en las raíces jóvenes. Las enzimas que intervienen en la oxidación de los compuestos fenólicos son las polifenol oxidasas (PPO) y las peroxidasas. Los compuestos fenólicos que presentan un grupo orto-difenólico se oxidan fácilmente por las PPO. El control del pardeamiento enzimático se puede dar al utilizar la acidificación, la alcalinización del medio y las temperaturas elevadas. En general, para obtener una inactivación parcial o total de las enzimas por medio de un tratamiento térmico, es suficiente una corta exposición a temperaturas de 70 a 90°C. Cada enzima tiene un intervalo óptimo de temperatura en el cual logra mayor actividad, para la mayoría está entre 30 y 45°C, y se inactivan a más de 60°C. A esta temperatura la energía introducida en el sistema sobrepasa la energía de las fuerzas que mantienen la estructura activa de la enzima (Tirilly y col, 2001; Badui, 2006).

Los tratamientos térmicos se llevan a cabo por la transferencia de calor siendo esta una rama de la termodinámica (1ra y 2da ley), involucrada en los fenómenos del transporte, que trata de predecir el intercambio de energía que puede haber entre cuerpos materiales, como resultado de una diferencia de temperaturas. El tratamiento térmico constituye una parte de la conservación de los alimentos, que trata de predecir el intercambio de energía que puede haber entre cuerpos materiales, como resultado de una diferencia de temperaturas. Los tratamientos térmicos suelen englobar todos los procedimientos que tienen entre sus fines la destrucción de los microorganismos por el calor, aunque éste es su objetivo principal, no hay que olvidar que a la vez ocurrirán otros procesos, unos deseables (destrucción enzimática, ablandamiento de los tejidos, mejora de la digestibilidad, etc.), que pese a ello se deberán controlar para que no produzcan efectos excesivos, y otros menos deseables, inevitables en algún grado (destrucción de nutrientes, pérdida de cualidades organolépticas: color, aroma, etc.), (Holman, 1989; Aguado, 2002; Casp y col, 2003).

En este trabajo se evaluó el tratamiento térmico para inactivar la enzima PPO y la calidad sanitaria de un aderezo de aguacate. Se formuló este producto ya que es innovador en México y además es de los principales países productores de aguacate en el mundo (Ochoa y col, 2002). Se ha demostrado interés en la industria mexicana en la elaboración de productos a base del aguacate, el problema que se ha encontrado con este fruto, es el oscurecimiento enzimático, ya que el aguacate presenta la enzima polifenol oxidasa. El objetivo de este trabajo es la inactivación de la enzima polifenol oxidasa por medio de un tratamiento térmico, y posteriormente evaluar la vida útil del aderezo de aguacate.



Capítulo I

Marco teórico



1.1 Aguacate

El aguacate pertenece a las familias de las Lauráceas que abarca plantas leñosas productoras de esencias que crecen en regiones cálidas, su nombre científico es: *Persea Americana*. La palabra aguacate (fruto del árbol *Persea americana*) proviene del apócope náhuatl *ahuacacuáhuatl* (que significa árbol de los testículos) de *ahuácatl* (testículo) y *cuáhuatl* (árbol). El aguacate es originario de México, Centroamérica y el norte de América del Sur, lugares de donde se difundió al mundo. El aguacate presenta una forma de pera (también ovoides y esféricos), de color verde oliva y de superficie rugosa con una pulpa aceitosa verde amarillenta y un hueso central de gran tamaño, de formas y pesos diferentes puede alcanzar hasta los 2kg, el sabor de la pulpa recuerda al de la nuez y avellana (Ochoa y col, 2002; Illescos y col, 2008).

1.1.1 Valor nutritivo

El aguacate es un fruto cuyo valor nutritivo se puede comparar al del plátano y tiene un valor energético que resulta mayor que la carne, considerando que proporciona al organismo de 150 a 300 calorías por cada 100 gramos comestibles. Por esto representa una importante y sana fuente de alimentación humana, siendo la única fruta conocida que posee todos los elementos nutritivos: glúcidos (o hidratos de carbono), proteínas, lípidos (o sustancias grasas), vitaminas, sales minerales y agua (Fersini, 1975).

Cuadro 1.1 Composición nutrimental del aguacate

Contenido por 100g de porción comestible	
Agua	75.4 g
Grasas	15.4 g
Hidratos de carbono	5.9 g
Proteínas	1.7 g
Fibra	1.6 g
Calorías 160	

Fuente: Gutiérrez, 2004

Estudios han señalado que el aguacate es una fruta libre de colesterol a pesar de ser una importante fuente de energía. De acuerdo con la Comisión Californiana del Aguacate, contiene más potasio que una banana, y contiene casi 10% más de los requerimientos diarios de hierro de un adulto; además de proveer de altas cantidades de beta-carotenos y vitaminas B6, C, E, ácido fólico y cobre (Ochoa y col, 2002).



Cuadro 1.2 Contenido de vitaminas y minerales en aguacate

Vitaminas	Contenido en 100 gr de aguacate	Minerales	Contenido en 100 gr de aguacate
Vitamina A	85.00 µg	Calcio	10.0 mg
Vitamina D	10.00 µg	Hierro	1.06 mg
Vitamina E	3.00 µg	Fósforo	40.0 mg
Vitamina K	8.00 µg	Cobre	0.35 mg
Vitamina B	1 0.11 mg	Magnesio	41.0 mg
Vitamina B	2 0.20 mg	Manganeso	2.30 mg
Vitamina B6	0.45 mg	Sodio	4.0 mg
Niacina	1.60 mg	Potasio	3450.0 mg
AC. Pantotenico	1.00 mg		
Biotina	10.00 mg		
Ácido Fólico	32.00 mg		
Vitamina C	14.00 mg		

Fuente: Ochoa y col, 2002

1.1.2 Variedades de aguacate

Esta fruta tiene más de 400 variedades. Entre las más comercializadas se encuentran, ver figura 1.1, (Illescos y col, 2008):

- Hass (90%): Tamaño terciado, piel rugosa, fina de color verde oscuro, con pulpa dorada y sabor avellana.
- Fuerte (7%): Forma de pera, sin brillo, piel fina, áspera, exquisito sabor y cuya principal característica es la resistencia al frío pero sensible al calor.
- Pinkerton (2%): Alargado, con forma de pera, piel rugosa y sabor agradable.
- Bacon (1%): Variedad más temprana, piel lisa y verde brillante.

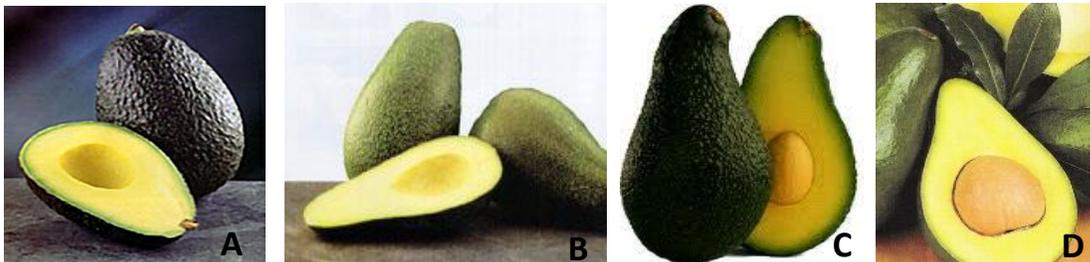


Figura 1.1 Variedades de aguacate (A) Aguacate Hass; (B) Aguacate Fuerte; (C) Aguacate pinkerton; (D) Aguacate Bacon



Entre las variedades mexicanas tenemos *Atlixo, Duke, Perfecto, Sinaloa, Zutano* y *San Sebastián*; de las Guatemaltecas: *Anaheim, Collins, Lamat* y *Linda*; y de las Antillanas: *Baker, Butler, Pollok* y *Villa Campa*. Sin embargo, la variedad *Hass*, es la más consumida en el ámbito mundial y es la que más se produce en nuestro país y por consiguiente en el mundo. En Michoacán se cultivan las variedades *Hass, Fuerte* y algunas especies de criollo, siendo el más importante el primero por cultivarse en casi toda la entidad. El segundo en el orden aún se cultiva, pero por las ventajas que representa el *Hass* tiende a desaparecer como cultivo. El criollo se cultiva todavía en algunas huertas pero principalmente en los huertos familiares de los pobladores rurales (Barreiro, 1999).

1.1.3 Producción

A nivel mundial la producción de aguacate ha registrado un comportamiento con altibajos de 1992 a 1995, registrando un decremento del 3.3 por ciento de 1992/93 a 1993/94, para posteriormente volver a recuperarse en 1994/95 al crecer en 2.9%, esto sin considerar la producción de Estados Unidos. La mayor parte de la producción de aguacate se encuentra en el continente americano, quien aporta más del 80 por ciento del total mundial, destacando México como el principal productor. Son seis los principales países productores: México, Estados Unidos, Israel, Sudáfrica, Chile y España (Ochoa y col, 2002).

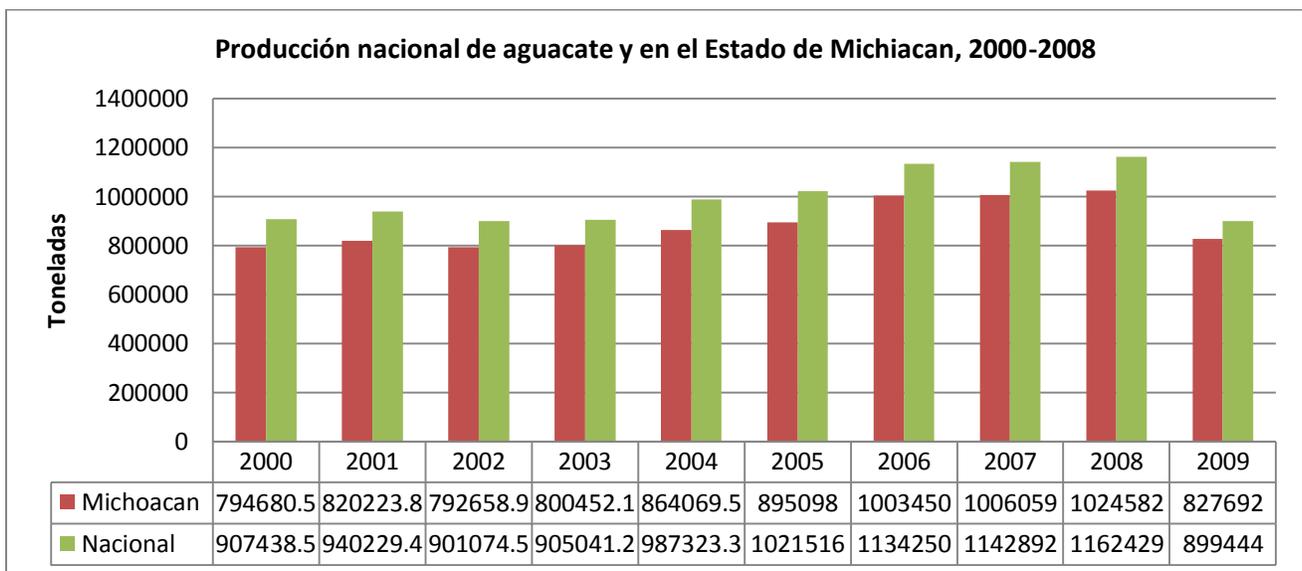


Figura 1.2 Producción de aguacate en el Estado de Michoacán, 2000-2009 (Sagarpa, 2009)

En la figura 1.2 se observa que el estado de Michoacán a nivel nacional, subió su participación en la producción total de aguacate del 87.6% en el 2000 a 92% en el 2009.



El principal destino de las exportaciones de aguacate son los Estados Unidos: a agosto de 2009, el 80% de las 277,000ton exportadas fueron a este país. Dentro del valor total exportado de frutas y hortalizas, el aguacate aumentó significativamente su participación de 5.3% en 2003 al 13.1% en agosto de 2009. Teniendo una producción de 899,444ton, 40% más respecto al mismo mes de 2008. (Sagarpa, 2009).

1.1.4 Comercialización

El aguacate tiene una enorme tradición alimentaria en nuestro país, ya que su historia data precisamente de las culturas mesoamericanas. Hoy en día su importancia en la dieta alimentaria mexicana no ha variado, ya que cerca del 97% de la producción total se destina a cubrir el mercado nacional, el cual lo consume principalmente en estado fresco. Esto se refuerza si consideramos el consumo per cápita de aguacate que tiene nuestro país, que alcanza los 10 kg anuales, mientras que en Estados Unidos es de 1kg, Japón 0.02kg y el Reino Unido 1.62kg. La comercialización del aguacate en fresco sigue siendo la forma más común (Ochoa y col, 2002).

- **Comercialización Internacional**

México a pesar de ser el principal productor mundial de aguacate sólo comercializa al exterior una porción muy reducida. Datos del periodo 1989-1994, indican que en promedio se ha exportado tan sólo el 2.73% de la producción, lo que señala que la exportación es una área con enormes potencialidades que no se ha explotado al máximo. México ha incursionado en la exportación de aguacate desde la década de los 80's en forma creciente, en los mercados europeo, americano y asiático (Ochoa y col 2002).

Las exportaciones se realizan en dos formas: procesado y en fresco. Del procesado se envían a Estados Unidos cerca de 40,000ton al año; del fresco el mercado es Europa, Japón, Canadá, Centro América y ahora Estados Unidos, todos con cantidades variables pero que han presentado un incremento importante en los últimos años (341%), ya que de 13,137ton que se exportaron en el ciclo 1991-1992, llegaron a 57,977 en 1997-1998, siendo Francia el principal consumidor de aguacate mexicano (Barreiro, 1999).

La problemática central de la industrialización del aguacate en forma de pasta o guacamole es que sufre un rápido obscurecimiento enzimático durante el procesamiento y almacenamiento, fenómeno de oxidación bioquímica catalizada por enzimas específicas (fenolasas o polifenol oxidasas) que están presentes en la misma pulpa (Corrales, 1991). Aunque existen gran número de inhibidores de esta enzima por la adición de agentes anti-obscurecimiento, como por ejemplo, los compuestos químicos que actúan primariamente sobre la enzima y/o productos de catálisis enzimática (Iyengar y col, 1992), el efecto de estos agentes anti-obscurecimiento son frecuentemente temporales (8 a 10 días), pero efectivos bajo condiciones de almacenamiento refrigerado (Barreiro, 1999).



1.1.5 Subproductos del aguacate

El aguacate es una fruta con alto contenido de grasa y proteína vegetal, cuya pulpa es similar a la mantequilla y de sabor ligeramente dulce. Se utiliza en estado fresco para ensaladas, puré o guacamole (del náhuatl *ahuacamull*), y de un tiempo a la fecha se ha utilizado para elaborar bebidas acompañado con toronja o maracuyá entre otras frutas. También se utiliza para pasteles y similares, en mezclas de sopas finas y botanas y producción de cosméticos (aceites, lociones, jabones, cremas, shampoos, etc., por el aceite que contiene un esteroide de fácil penetración, aunado a que es un producto biodegradable) demostrando ser el filtro solar más eficaz. Las hojas y el fruto se utilizan en la medicina natural.

La publicación más actual (1998) del recetario gastronómico de la Asociación Agrícola Local de productores de aguacate de Uruapan, Michoacán, describe 106 recetas culinarias para el uso del aguacate. Además de ser la base para fabricar cosméticos, la industria farmacéutica considera de gran valor la fracción insaponificable del aceite, a partir del cual se extrae el factor H, sustancia de propiedades curativas y se utiliza en la industria de alimentos para perros y aceite para cocinar. En algunas zonas el aguacate caído o sobre maduro se deshuesa y se da como alimento al ganado porcino. Las ramas producto de las podas se aprovechan en la producción de cajas de empaque o para leña, y la madera por la renovación de huertas en algunos sitios se utiliza para la construcción (Barreiro, 1999).

La industria del aceite de aguacate consume alrededor de 1,000ton de fruta por año, de lo que se obtienen aproximadamente 500ton de aceite en bruto. De esta cantidad se utiliza el 5% por año en la producción de aceite comestible y productos cosméticos en México y el resto se exporta. Por lo que se refiere a la producción nacional, se utiliza 90% en la producción de aceite comestible y 10% en cosméticos, como son shampoo, jabón, cremas faciales y corporales, rímel y lápiz labial. Del producto para exportación (alrededor de 495ton/año), el total se envía a Estados Unidos donde es refinado y posteriormente se comercializa en Japón y Europa como aceite comestible y bases para cosméticos. Del total de aceite bruto, se pierde entre 10 y 20% en su refinación (Barreiro 1999).

Un ejemplo de productos elaborados con aceite de aguacate son los aderezos, que se definen como una emulsión semisólida de aceite vegetal comestible, agua, yema de huevo, vinagre o ingredientes acidificantes, y elaborado con o sin almidón comestible ya sea modificado o no, gomas comestibles y otros ingredientes menores y aditivos permitidos. Un aderezo contiene no menos del 30% en peso de aceite vegetal (Maya y col, 2007).



Por otra parte, la información que tenemos relacionada con la producción de guacamole, nos revela que 40-50% de la fruta que ingresa a la industria, se destina para ese producto y la totalidad se exporta. Por lo que respecta a las guacamayas (nombre de las bebidas a base de aguacate y frutas tropicales), máximo 5% de la fruta que ingresa se destina a su fabricación. Sobre el particular destaca el porcentaje natural de la bebida, en la cual se involucra al aguacate casi 50%, cantidad altamente significativa en comparación con los refrescos embotellados, de los que solamente uno contiene pulpa de frutas (máximo 6%) y en el resto manejan concentrados o saborizantes artificiales (Barreiro 1999).

En la figura 1.3 se observan productos elaborados a base de aguacate que se encuentran en la industria alimentaria y cosmética.



Ensalada con aguacate



Aceite de aguacate



Guacamole



Aderezo de aguacate



Crema facial con aguacate



Rímel con aguacate



Bebidas con aguacate

Figura 1.3 Productos a base de aguacate en industria alimentaria y cosmética

1.2 Dispersiones alimentarias

Una dispersión consiste en la unión forzada de dos fases no miscibles de manera natural. En una dispersión se distingue la fase dispersa y la fase continua. La fase dispersa se mantiene distribuida, en forma de gotitas, en la fase continua, obteniendo así una mezcla homogénea y estable entre las dos sustancias inmiscibles, como se muestra en la figura 1.4. Esta organización se distingue por el carácter bipolar del emulsionante, que le permite orientarse en la zona de la interfase, de manera que favorece un estado de equilibrio entre las dos fases.

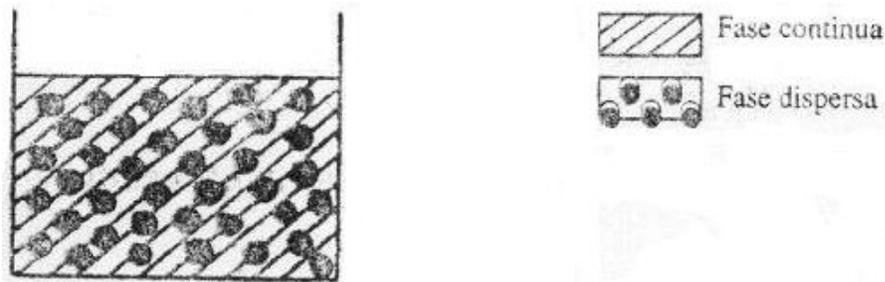


Figura 1.4 Dispersión alimentaria (Cubero y col, 2002).

Las sustancias que forman una dispersión pueden ser de orígenes muy diversos, y según el estado de las fases (sólido, líquido, gaseoso) que forman la dispersión se encuentran diferentes tipos, como se muestra en el cuadro 1.3:

Cuadro 1.3 Tipos de dispersiones

Tipo	Fase dispersa	Fase continua	Ejemplo
Emulsión	Líquida	Líquida	Aderezos, mayonesas
Espumas	Gaseosa	Líquida	Espuma, nata, cerveza
Aerosol	Líquida o gaseosa	Gaseosa	Sprays
Suspensión	Sólida	Líquida	Pate, zumos, geles

Fuente: Cubero y col, 2002

1.2.1 Emulsiones

Una emulsión es una dispersión coloidal de un líquido dentro de otro, en el cual es normalmente inmisible. La fase dispersa se obtiene al romper uno de los líquidos por medios mecánicos en pequeñas gotas, entre 0.1 y 10 μ m, que se distribuyen en la fase continua o dispersante. Esta emulsión es termodinámicamente inestable y al dejarla reposar por algún tiempo, las gotas se agrandan pasando primero por un estado conocido como floculación para luego producir la coalescencia, y la separación de dos fases inmiscibles y diferenciales. La floculación es la unión de las gotas pequeñas de fases dispersas con sus bordes distintivos, y la coalescencia es la formación de una gota mayor sin los bordes de las gotas individuales que han floculado. La figura 1.5 muestra esquemáticamente el proceso de floculación, coalescencia y separación de fases. La estabilidad de una emulsión solo se logra si se incorpora una tercera sustancia que actúa en la interfase de los líquidos y que se denomina emulsionante (Badui, 2006).

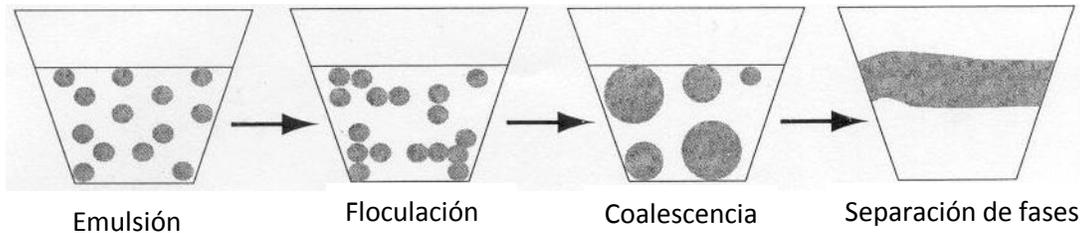


Figura 1.5 Esquema de los procesos de floculación, coalescencia y separación en dos fases de una emulsión (Badui, 2006).

En el campo de los alimentos las dispersiones que tienen mayor importancia son las emulsiones, de las que se pueden encontrar dos tipos como se observa en la figura 1.6:

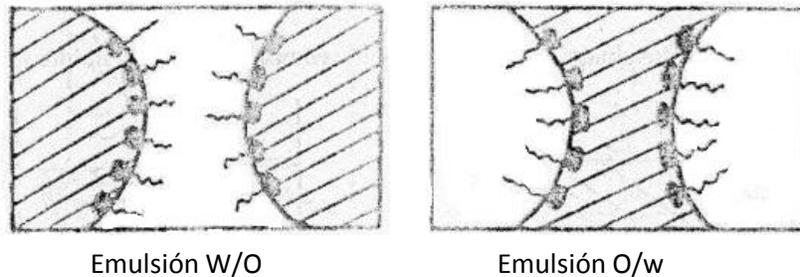


Figura 1.6 Tipo de emulsiones en el campo de alimentos (Cubero y col, 2002).

- Emulsiones agua en aceite (W/O): formadas por una fase dispersa en agua, o líquidos miscibles en ella, y una fase continua grasa (ejemplo: mantequilla, margarina, algunas mayonesas industriales, etc.)
- Emulsiones aceite en agua (O/W): formadas por una fase dispersa grasa y la fase continua acuosa (ejemplo: leche, nata líquida, mayonesa casera, etc.)

Debido al carácter no miscible de las dos fases que forman una emulsión, o dispersión, se puede deducir que es un sistema inestable.

Para llegar a formar la emulsión se ha de aportar energía al sistema, de manera que se aumente la superficie de contacto entre las dos fases y se pueda formar la zona de interface donde se sitúa el emulsionante. La energía que se aporta al sistema depende de muchos factores, entre ellos se encuentran: la tensión superficial entre las dos fases, diferencia de densidad entre las fases, tipo de agitador, viscosidad de la fase continua, etc.



- **Formación de emulsiones**

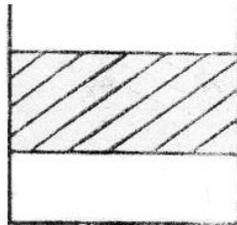
Los emulsionantes permiten la formación de una emulsión por su efecto en la reducción de la tensión superficial. La tensión superficial es la fuerza que hay que vencer sobre la superficie de un líquido para poder adentrarse en él. El líquido tiende a que la superficie donde se establezca la tensión superficial sea mínima, ya que el estado ideal de todo sistema es aquel en el que tenga menos energía, como se observa en la figura 1.7.



Figura 1.7 Zona de tensión superficial en una emulsión (Cubero y col, 2002).

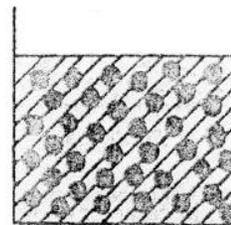
En el caso de un sistema formado por dos fluidos inmiscibles, en la zona de interfase líquido-líquido se establece la tensión interfasal. Y es más estable el estado que permita una tensión interfasal mínima, que se da cuando los dos fluidos se encuentran separados en dos fases y no en estado emulsionado:

Estado bifásico de dos fluidos inmiscibles



Estado de mayor estabilidad por superficie de tensión interfasal mínima

Estado emulsionado de dos fluidos inmiscibles



Estado menos estable por superficie de tensión interfasal superior

Figura 1.8 Estado de emulsiones en alimentos (Cubero y col, 2002).

Para poder formar la emulsión es necesario aplicar una fuerza capaz de vencer la tensión interfasal y que permita la dispersión de uno de los fluidos en el otro.

Los emulsionantes ayudan en el proceso de emulsionado, ya que tienen la capacidad de disminuir la tensión interfasal y, de disminuir el trabajo necesario para emulsionar los dos fluidos.



La fuerza que se proporciona al sistema es mediante un trabajo mecánico proporcionado por un batido, homogeneización, etc. De esta manera se consigue una división de partícula de una de las fases, que queda distribuida dentro de la otra.

Una emulsión no es el estado ideal de un sistema bifásico inmiscible, por tanto, existe una tendencia de reorganización hacia el estado inicial, donde las dos fases se encontraban separadas y la tensión interfasal era mínima (Cubero y col, 2002).

- **Emulsionantes**

Los emulsionantes son sustancias que añadidas a los alimentos, hacen posible la formación y/o mantenimiento de una dispersión uniforme entre dos o más sustancias inmiscibles. Las sustancias con capacidad emulsionante presentan una estructura dipolar donde se distingue una parte hidrófila (afín al agua) formada por grupos disociable o grupos hidroxilo y otra lipófila (afín aceites o grasas) de cadena alquílica.

Se puede distinguir entre emulsionantes de origen natural y de origen sintético. Dentro de cada grupo se clasifica entre emulsionantes iónicos y no iónicos, como muestra en el cuadro 1.4.

Cuadro 1.4 Tipos de emulsionantes

Emulsionantes naturales	Emulsionantes sintéticos
Iónicos	
Sales biliares	Sales de ácidos grasos
Fosfolípidos	
Lecitinas	
Fosfatos de inositol	
No iónicos	
Colesterol	Mono y diésteres de glicerol
Saponinas	Mono y diglicéridos de ácidos orgánicos
	Esteres de sacarosa
	Esteres poliglicéridos de ácidos grasos
	Esteres de propilenglicol
	Estearato de polioxietileno
	Esteres de sorbitán polioxietilenados

Fuente: Cubero y col, 2002

El carácter dipolar de la molécula es lo que se valora por sus capacidades tecnológicas, en la industria alimentaria:

- Formadores y estabilizadores de emulsiones por su capacidad reductora de la tensión superficial entre las dos fases inmiscibles.
- Creadores y estabilizadores de espumas.



E-322 Lecitina

La lecitina es el emulsionante totalmente natural de uso comercial. La estructura de la molécula es un fosfátido formado por un diglicérido (que puede contener los ácidos grasos esteárico, palmítico y oleico) y la base nitrogenada colina unida a un glicerol por un grupo fosfato. La forma más común de obtención de lecitina para aplicación de uso industrial es como subproducto de la refinación del aceite, principalmente de soya, que contiene aproximadamente un 2-3% de lecitina. La lecitina es insoluble en agua, aunque se hidrata y forma emulsiones debido a su carácter dipolar. Su comportamiento depende de la proporción que contenga en fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamida y fosfatidilinositol que son glicerofosfolípidos que se encuentran en una lecitina bruta de soja y se presentan en diferentes capacidades emulsionantes (Cubero y col, 2002):

- Fosfatidilcolina: básicamente estabiliza emulsiones tipo O/W.
- Fosfatidiletanolamina: básicamente estabiliza emulsiones tipo W/O.
- Fosfatidilinositol: básicamente estabiliza emulsiones tipo W/O.

1.2.2 Potencializadores del sabor

Los potencializadores del sabor se definen como aquellos compuestos que tienen la propiedad de potencializar el aroma de muchos alimentos. Generalmente las sustancias responsables de sabor son polares, solubles en agua y/o volátiles. Estas características las ofrecen moléculas como los nucleótidos, aminoácidos, péptidos, ácidos orgánicos, azúcares y bases orgánicas. Y son éstas las que, combinándose entre sí, constituyen el “sabor” de los alimentos (Cubero y col, 2002).

E-621 Glutamato monosódico

El glutamato monosódico (MSG) a concentración de 0.2–0.5% posee un sabor típico, ligeramente salado-dulce, muy agradable, así como una propiedad característica a menudo descrita como “satisfacción bucal”. El efecto ejercido es una intensificación de la percepción sensorial. Su toxicidad es mínima (Cubero y col, 2002).

1.3 Alteración de los alimentos

Desde el momento en que el alimento se cosecha, se recoge o se sacrifica, empieza a pasar una serie de etapas de descomposición progresiva. Según el alimento, esta descomposición puede ser muy lenta, como en el caso de las semillas o las nueces, o puede ser muy rápida que vuelve prácticamente inutilizable a un alimento en pocas horas. En cuadro 1.5 se indica la vida útil de algunos alimentos, en ella se pueden apreciar la rapidez con la que se descomponen si no se toman las medidas oportunas (Casp y col, 2003).



Cuadro 1.5 Vida útil de almacenamiento de tejidos vegetales y animales

Producto	Días de almacenamiento a 21°C
Carne	1 – 2
Pescado	1 – 2
Aves	1 – 2
Carne y pescado desecado, salado a ahumado	360 y más
Actores	1 – 7
Frutas secas	360 y más
Hortalizas de hojas verdes	1 – 2
Raíces	7 – 20
Semillas secas	360 y más

Fuente: Casp y col, 2003

1.3.1 Factores que intervienen en la alteración de los alimentos

En el deterioro de los alimentos influyen una serie de factores ambientales: la temperatura tanto alta como baja, la humedad y sequedad, el aire y más particularmente el oxígeno, y la luz, y junto a todas ellas el tiempo, puesto que todas las causas de degradación de los alimentos progresan con el tiempo y, una vez sobrepasado el periodo transitorio en el cual la calidad del alimento es máxima, cuanto mayor sea el tiempo transcurrido mayores serán las influencias destructoras (Casp y col, 2003).

- Temperatura: el calor excesivo desnaturaliza las proteínas, rompe las emulsiones, destruye las vitaminas y reseca los alimentos al eliminar la humedad.

El frío no controlado también deteriora los alimentos, las frutas y hortalizas que se han congelado y descongelado en el campo presentan una textura alterada. La congelación también puede producir deterioro de los alimentos líquidos: las emulsiones se rompen, las grasas se separan, etc.

- Humedad y sequedad: muchos productos son sensibles a la presencia de agua física en su superficie, producida por la condensación debido a cambio de la temperatura. La humedad física puede producir hidropatías que habitualmente llevan a la aparición de manchas y otros defectos superficiales.
- Aire y oxígeno: ejercen efectos destructores sobre las vitaminas (particularmente las vitaminas A y C), sobre los colores, los sabores y otros componentes de los alimentos. La acción química del oxígeno del aire sobre los pigmentos de las carnes y otros productos cárnicos es de dos tipos: oxigenación y oxidación.
- Luz: la luz es responsable de la destrucción de algunas vitaminas, particularmente de las riboflavina, la vitamina A y la vitamina C. Además puede deteriorar los colores de muchos alimentos.



- Acción combinada de diferentes factores: todos estos factores no actúan de forma aislada, la mayoría de las veces se produce la actuación simultánea de algunos de ellos o bien la intervención de uno de ellos desencadenada de los demás.

1.3.2 Causas de alteración de los alimentos

Los principios de evolución de la vida útil y su tratamiento cuantitativo son necesarios para mejorar y desarrollar el almacenamiento y distribución de los alimentos, para la optimización de la cadena alimentaria. Evidentemente, para determinar la vida útil del alimento, es esencial determinar que factores limitan esta vida útil, tales factores pueden causar cambios químicos, físicos y biológicos que se traducen en un cambio en las características sensoriales del alimento. Las causas más comunes de alteración de los productos alimentarios son de naturaleza biológica y entre éstas, sin duda las más importantes por los daños económicos producidos son los microorganismos y las enzimas naturales de los alimentos (Casp y col, 2003).

- **Causas físicas**

Pueden aparecer durante la manipulación, preparación o conservación de los productos y, no perjudican, por sí solas, a la inestabilidad del alimento, pero si a su valor comercial. Un ejemplo de este tipo son los daños que pueden producirse durante la recolección mecánica, golpes durante la manipulación, heridas, etc. (Casp y col, 2003).

- **Causas químicas**

- a) Pardeamiento no enzimático (reacción de Maillard)**

Serie de reacciones donde los azúcares reductores pueden reaccionar con las proteínas y producir una serie de pigmentos de color pardo-oscuro y unas modificaciones en el olor y sabor de los alimentos, que en unos casos son deseables (asados, tostados y frituras) y en otros indeseables (colores oscuros que se desarrollan durante el almacenamiento). El nombre de pardeamiento no enzimático sirve para diferenciarlo del pardeamiento enzimático, que se observa en las frutas y hortalizas como consecuencia de su oxidación.

- b) Enranciamiento de los lípidos**

El término rancidez describe los diferentes mecanismos a través de los cuales se alteran los lípidos. Las grasas y los aceites son susceptibles a diferentes reacciones de deterioro que reducen el valor nutritivo del alimento y además forman compuestos volátiles que producen olores y sabores desagradables. Esto se debe a que el enlace éster de los aciglicericos puede sufrir una hidrólisis química o enzimática y a que los ácidos grasos insaturados son sensibles a reacciones de oxidación.



- **Causas biológicas**

Las causas biológicas son las más importantes en el deterioro de los alimentos y de más graves consecuencias, y entre estas particularmente las producidas por enzimas naturales de los alimentos y las causadas por microorganismos (Casp y col, 2003).

- a) **Parasitarias**

Debidas por la infestación de insectos, roedores, pájaros, etc. Importantes no solo por la pérdida económica que suponen los productos consumidos o dañados por ellos, sino por el hecho de que dañen el alimento y lo ponen a disposición de infecciones provocadas por microorganismos.

- b) **Microorganismos**

El proceso de deterioro de naturaleza microbiana es un fenómeno variable, dado que está condicionado por el tipo y número de especies microbianas presentes, que a su vez está condicionado por la composición química del sustrato y las condiciones de conservación, sobre todo la temperatura y la presencia o ausencia de oxígeno. Los principales grupos de microorganismos que participan en el deterioro de los alimentos son bacterias, mohos y levaduras, que pueden atacar prácticamente todos los componentes de los alimentos, y cuando estos se contaminan bajo condiciones naturales, es probable que actúen a la vez varios tipos de microorganismos y contribuyan a una serie de cambios simultáneos. Se desarrollan en condiciones calurosas y húmedas, y en condiciones favorables presentan una gran velocidad de multiplicación, pueden multiplicar su número cada 30 minutos.

Bacterias: las reacciones producidas en los alimentos como consecuencia del metabolismo de las bacterias incluyen el desdoblamiento hidrolítico de los hidratos de carbono complejos en otros más sencillos, de las proteínas en prolipéptidos, aminoácidos y amoniaco o aminas, y el desdoblamiento hidrolítico de las grasas en glicerol y ácidos grasos. Las reacciones de oxidoreducción utilizadas por las bacterias para obtener energía de los alimentos originan, como productos resultantes de las mismas, ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos, cetonas y gases. Una importante propiedad de algunas bacterias es su capacidad de formar esporas resistentes después de una propagación intensiva en condiciones favorables, las esporas no poseen ninguna actividad metabólica lo cual les permite sobrevivir en ambientes desfavorables. Las bacterias, bien sean Gram positivas o Gram negativas, son esencialmente Eubacterias. Pertenecen a un número de familias relativamente restringido: *Enterobacteriaceae*, *Neisseriaceae*, *Vibrionaceae*, *Micrococaceae*, *Sreptococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Bacillaceae*, *Pseudomonaceae* y alrededor de una treinta de géneros diferentes de los cuales los más importantes son: *Escherichia*, *Saalmoneella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Lactobacillu*.



Mohos: los mohos invaden con rapidez cualquier sustrato, gracias a su eficacia en la diseminación, en un crecimiento rápido ya que posee una rica carga enzimática. La alteración de los alimentos por mohos se debe a las modificaciones que estos producen durante su desarrollo, toman del sustrato todos los elementos necesarios para su crecimiento y para producir la energía necesaria para sus procesos vitales, transformándolos gracias a sus poderosos sistemas enzimáticos. Los compuestos de peso molecular elevado, como los polisacáridos (sustancias pépticas, hemicelulosa, celulosa) o de reserva (almidón), los lípidos y las proteínas, para poder ser utilizados son transformados en moléculas más simples, gracias a las hidrolasas (celulasas, amilasas, lipasas, proteínasas, etc.). Los mohos son aptos para extraer o transformar la mayor parte de los componentes de los alimentos.

Levaduras: las levaduras que contaminan los alimentos, con frecuencia son especies bien conocidas que provocan cambios indeseables en ellos. Estos cambios pueden manifestarse de dos formas, una puramente estética, debido a la presencia física de levaduras (turbidez o formación de una película en la superficie de los líquidos) y otra, más profunda, resultado del metabolismo de las levaduras que puede provocar aumento del pH, aromas particulares, etc. Las levaduras para su crecimiento necesitan oxígeno, fuentes de carbono orgánicas y nitrógeno mineral u orgánico, diversos minerales y una temperatura y pH adecuados. Algunas además necesitan de una o varias vitaminas y otros factores de crecimiento. Utilizan numerosos sustratos carbonados, bien por vía oxidativa únicamente o, por vía fermentativa, después de una fase inicial de crecimiento aeróbico (Casp y col, 2003).

c) Enzimas naturales de los alimentos

Una enzima es una proteína que actúa como catalizador biológico, llevando a cabo reacciones químicas a muy altas velocidades, no se somete durante la reacción y en general presenta un elevado grado de especificidad. Todas las células, incluyendo microorganismos y organismos superiores, producen enzimas. Su acción está estrechamente ligada con las reacciones metabólicas, y la mayoría de las reacciones químicas requeridas para mantener activas a las células tardarían mucho tiempo en efectuarse o simplemente no procederían si no estuvieran presentes las enzimas (Badui, 2006).

Las plantas y los animales tienen sus propias enzimas, cuya actividad, en gran parte, sobrevive a la recolección y el sacrificio, intensificándose con frecuencia en ese momento, debido a que las reacciones enzimáticas son controladas y equilibradas con mucha precisión en la planta o el animal que vive y funciona normalmente; pero este equilibrio se rompe cuando el animal es sacrificado o la planta retirada del campo. Si estas enzimas no son inactivadas, siguen catalizando reacciones químicas en los alimentos, algunas de estas reacciones, si no se les permite progresar más allá de un cierto límite, son muy deseables, por ejemplo la maduración de alguna fruta después de la cosecha y el ablandamiento natural de la carne, pero más allá del límite óptimo



estas reacciones llevan a la descomposición de los alimentos, los tejidos debilitados son atacados por infecciones microbianas (Casp y col, 2003).

La célula vegetal, con respecto a la célula animal, presenta sistemas enzimáticos específicos: las enzimas que sintetizan y degradan los constituyentes de las paredes celulares (polisacáridos), las enzimas de la vía de la síntesis del etileno y las enzimas del ciclo de Calvin, por ejemplo. Los dos primeros sistemas desempeñan un papel importante en los procesos de maduración del vegetal y, cuando se alcanza este estado, en los procesos de alteración de la célula vegetal. Esta alteración se manifiesta a nivel microscópico por un ablandamiento de las frutas o de las hortalizas (Casp y col, 2003).

A estos sistemas enzimáticos hay que añadir otras enzimas que no son específicas de los vegetales, tales como la lipoxigenasa y la polifenol oxidasa, que intervienen en los procesos post-maduración en los vegetales y cuyos efectos no son deseables (aparición de olores y colores desagradables y las lipasas que son causantes de la lipólisis, enrancimiento lipolítico, muy notable en productos lácteos por ejemplo (Casp y col, 2003).

1.4 Pardeamiento enzimático

Es frecuente observar, principalmente durante la conservación y el transcurso de las transformaciones tecnológicas fenómenos de pardeamiento en los órganos vegetales carnosos (frutos y hortalizas). La aparición de pigmentos pardos, cuyo color acaba superponiéndose a los colores naturales, ocasiona importantes modificaciones de las cualidades organolépticas, generalmente con una depreciación de los órganos vegetales y de los productos que de ellos se derivan. Estos pardeamientos son generalmente de origen enzimático, por lo que es muy importante conocer los mecanismos que intervienen para poder controlar su aparición (Tirilly y col, 2001).

1.4.1 El pardeamiento en los órganos vegetales

- **Pardeamiento superficial**

Con frecuencia, como consecuencia de una lesión se observa que, después de seccionarla, la superficie cortada se colorea más o menos rápidamente de un color pardo. Cuando se produce un ataque de un agente patógeno, en las zonas celulares próximas al punto de infección se produce un pardeamiento. Frecuentemente se produce una reacción de hipersensibilidad extremadamente rápida que se manifiesta en un pardeamiento y en una necrosis de un número limitado de células alrededor del lugar de infección (Tirilly y col, 2001).



- **Pardeamiento interno**

Se localiza en las partes profundas del órgano y generalmente aparece después de las enfermedades de conservación como el “chilling injury” (daño por frío). El pardeamiento se produce cuando los órganos, después de estar sometidos a baja temperatura, se colocan a temperaturas más elevadas. Cuando se desarrollan enfermedades fisiológicas provocadas a menudo por una carencia localizada de calcio en los tejidos de crecimiento rápido se observa una oxidación de los compuestos fenólicos que es la responsable de las coloraciones pardas (Tirilly y col, 2001).

1.4.2 Pardeamiento y tratamientos tecnológicos

El pardeamiento es un fenómeno muy normal que se produce en el transcurso de las manipulaciones que se realizan después de la recolección, durante la conservación y por las transformaciones tecnológicas más o menos complejas que sufren los órganos vegetales. La presencia de compuestos fenólicos ocasiona pardeamientos enzimáticos que, pueden aparecer en la ralladura o corte y se intensifican en la preparación de zumos o pulpas. Los compuestos fenólicos se localizan principalmente en las capas más externas del floema, presentan un gradiente decreciente desde el xilema hacia el cortex y son relativamente abundantes en las raíces jóvenes (Tirilly y col, 2001).

1.4.3 Mecanismos de pardeamiento

- **Las enzimas de oxidación**

Las enzimas que intervienen en la oxidación de los compuestos fenólicos son las polifenol oxidasas (PPO) y las peroxidasas. El papel esencial lo desempeñan las PPO que han sido muy estudiadas en los frutos y en los productos que de ellos se derivan. El papel fisiológico de las PPO en el desarrollo y en la maduración de los órganos vegetales no está claramente establecido. Las peroxidasas, que se caracterizan por su capacidad para oxidar diferentes dadores de hidrogeno, están implicados en diversas funciones bioquímicas y fisiológicas, en particular en la reticulación de las paredes por los ácidos fenólicos y en la disposición de las ligninas. Las reacciones catalizadas por las peroxidasas generan compuestos que modifican el sabor de los productos vegetales y favorecen el pardeamiento (Tirilly y col, 2001).

La Comisión de Enzima (EC) clasifica la polifenol oxidasa con dos diferentes números, ya que cataliza en diferentes reacciones en presencia de oxígeno, actuando sobre dos tipos de sustratos: monohidroxifenoles como por ejemplo el p- cresol hidroxilandolos en posición orto con respecto al grupo hidroxilo original, EC 1.14.18.1; y sobre o-hidroxifenoles tales como el catecol, oxidándolos a benzoquinona por remoción de hidrógenos del grupo hidroxilo, EC 1.10.3.1 (Guerreo, 2009).

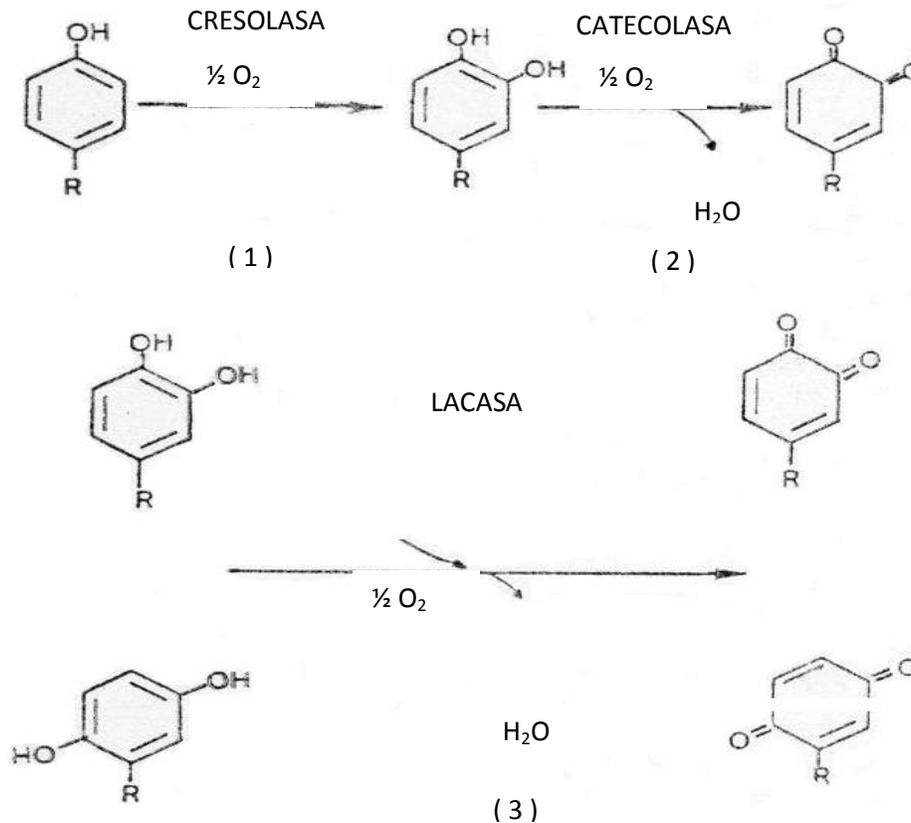


Figura 1.9 Reacciones catalizadas por las polifenoloxidasas y lacasas. (1) Hidroxilación de un monofenol en *o*-difenol; (2) Deshidrogenación de un *o*-difenol en *o*-quinona; (3) Deshidrogenación un *o*-*o* *p*-*p* difenol en *o*-*o* *p*-*p* quinona (Tirilly y col, 2001).

En la figura 1.9 se observa la reacción de los dos tipos enzimas que actúan sobre los fenoles, en presencia de oxígeno.

Las **catecoloxidasas** que catalizan dos reacciones distintas: la hidroxilación de los monofenoles en *o*-difenoles (reacción 1) y deshidrogenación de los *o*-difenoles en *o*-quinonas (reacción 2). Estas dos reacciones consumen oxígeno y se denominan por los términos de la actividad creolasa (o monofenolasa) y de la actividad catecolasa (u *o*-difenolasa), respectivamente. La complejidad de este sistema enzimático explica los numerosos nombres encontrados para designarlo: polifenol oxidasa (PPO), fenolasa, *o*-difenolasa, difenoloxidasas, catecoloxidasas e incluso, según la nomenclatura internacional, *o*-difenol: oxígeno oxidorreductasa (*o*-DPO). Las preparaciones enzimáticas de PPO obtenidas a partir de diversas especies vegetales frecuentemente no tienen actividad cresolasa (Tirilly y col, 2001).



Las **lacasas** oxidan los *o*-difenoles pero también los *p*-difenoles, transformándolas en las correspondientes quinonas, *o*-quinonas o *p*-quinonas (reacción 3). Son PPO en sentido amplio y se distinguen de las reacciones anteriores por su propiedad de reaccionar con los *p*-difenoles (Tirilly y col, 2001).

- **Propiedades**

Las PPO son metaloproteínas que contienen cobre. Las PPO que están localizadas en los plastos, principalmente en las membranas de los tilacoides, intervienen en el transporte fotosintético de electrones a nivel del fotosistema II. Se han desarrollado estudios detallados de la actividad cinética de las PPO y se ha determinado que la máxima actividad se alcanza a pH=6. Existen numerosos compuestos como sulfitos, ácidos cinámicos y derivados benzoicos que tienen distintos efectos inhibidores sobre la actividad de la PPO (Tirilly y col, 2001).

1.4.4 Reacción de pardeamiento

- **Compuestos fenólicos y oxidación**

Los compuestos fenólicos que presentan un grupo orto-difenólico se oxidan fácilmente por las PPO. Los principales sustratos naturales de las PPO en los órganos vegetales (frutas y hortalizas) son las catequinas y los derivados hidroxicinámicos y más concretamente los derivados cafeicos como el ácido clorogénico. La formación de productos coloreados que caracterizan el pardeamiento se realiza en dos etapas: una etapa enzimática que conduce a la formación de orto-quinonas y una etapa no enzimática que termina con la polimerización y condensación de las quinonas en “complejos pardos” (Tirilly y col, 2001).

- **Primera etapa: formación de quinonas**

Las orto-quinonas formadas son compuestos generalmente inestables, de una gran reactividad y que son muy tóxicas para las células. Esta oxidación en quinonas constituye una primera etapa en la que intervienen la descompartimentación celular, las PPO y eventualmente las peroxidasas, el oxígeno (segundo sustrato de la enzima), así como otros factores (inhibidores naturales, pH, temperatura, etc.). Las *o*-quinonas formadas se transforman en forma muy rápida por medio de reacciones no enzimáticas complejas.

- **Segunda etapa: reacciones a partir de las quinonas**

En la figura 1.10, se observan los mecanismos de pardeamiento enzimático, donde se detallan las estructuras químicas de los compuestos, se presentan las reacciones que tienen lugar a partir de las quinonas. Se indican ocho vías posibles que conducen a productos más o menos coloreados marcados con un asterisco, las *o*-quinonas pueden reaccionar bien con los fenoles (vías 1 a 3) o bien con los compuestos no fenólicos (vías 4 a 8).

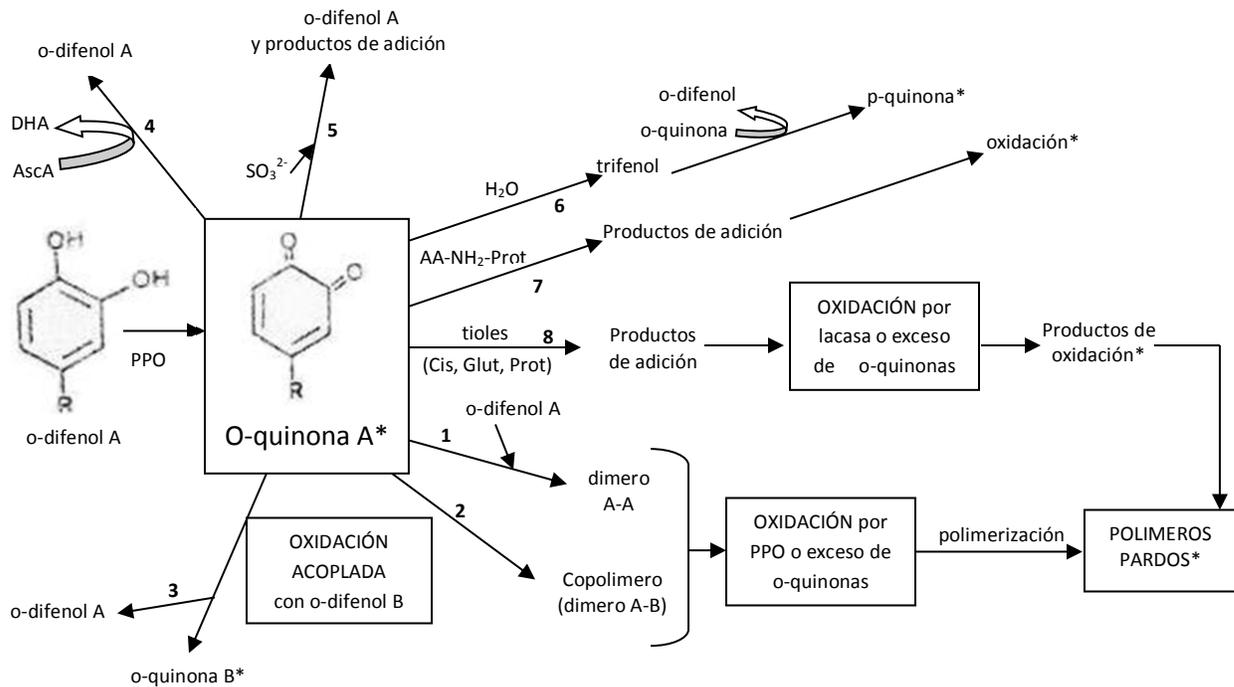


Figura 1.10 Mecanismos de pardeamiento enzimático: reacciones de las *o*-quinonas con los compuestos fenólicos (reacciones 1 a 3) y con compuestos no fenólicos (reacciones 4 a 8)
AscA: ácido ascórbico; **DHA:** ácido dehidroascórbico; **Cyst:** cisteína; **Glut:** glutatión; **AA-NH₂:** aminoácidos; **Prot:** proteínas (Tirilly y col, 2001).

Todas las reacciones a partir de las *o*-quinonas son no enzimáticas, con la excepción de la intervención de las polifenol oxidasas y lacasas.

Reacciones con los compuestos fenólicos (vías 1 a 3)

Las moléculas de *o*-quinonas formadas partir de un *o*-difenol A, pueden reaccionar con otras moléculas del mismo fenol A para formar dímeros (vía 1). Estos últimos, aunque tienen una estructura *o*-difenólica, pueden estar sometidos a su vez a una oxidación enzimática por la PPO o no enzimática por las moléculas de *o*-quinonas. Cuando aumenta el grado de condensación, la coloración evoluciona hacia el pardo y se vuelve cada vez más resistente por la acción de los iones bisulfito. Paralelamente se observa la precipitación de un pardo debido, al mismo tiempo, a la menor solubilidad de los polímeros y a la formación de complejos con las proteínas y los polisacáridos del medio. Las *o*-quinonas pueden también reaccionar con una molécula de fenol diferente B, para formar un copolímero (vía 2) o regenerar el *o*-difenol A (vía 3). A las reacciones de las vías 2 y 3 se les designa con el término de “oxidaciones acopladas” (Tirilly y col, 2001).



Reacciones con compuestos no fenólicos (vías 4 a 8)

En primer lugar, puede producirse otra oxidación acoplada con el ácido ascórbico con refrigeración del fenol y formación de ácido dehidroascórbico (vía 4). Con los sulfitos (vía 5) se forman productos de adición incoloros y se regenera el fenol inicial. Las *o*-quinonas reaccionan con compuestos que tengan grupos amino (vía 7) o grupos tiol (vía 8) siempre que estos compuestos estén libres (ejemplo: cisteína, glutatión y aminoácidos) o con compuestos que forman parte de moléculas complejas como péptidos y proteínas. Los productos de adición incoloros obtenidos no son sustratos de las PPO, pero pueden ser oxidados por la lacasa o reaccionar con las quinonas en exceso por un mecanismo de oxidación acoplada. Las quinonas pueden reaccionar lentamente con las moléculas de agua para formar trifenoles que son fácilmente oxidables y forman *p*-quinonas (vía 6). Esta última vía se favorece con pH ácidos (Tirilly y col, 2001).

1.4.5 Compuestos fenólicos, sustratos naturales de las PPO

- Estructuras ortodifenólicas

Los sustratos naturales de las polifenol oxidasas son los *o*-difenoles, de los cuales algunos ejemplos de estructuras comunes en las hortalizas se representan en la figura 1.11.

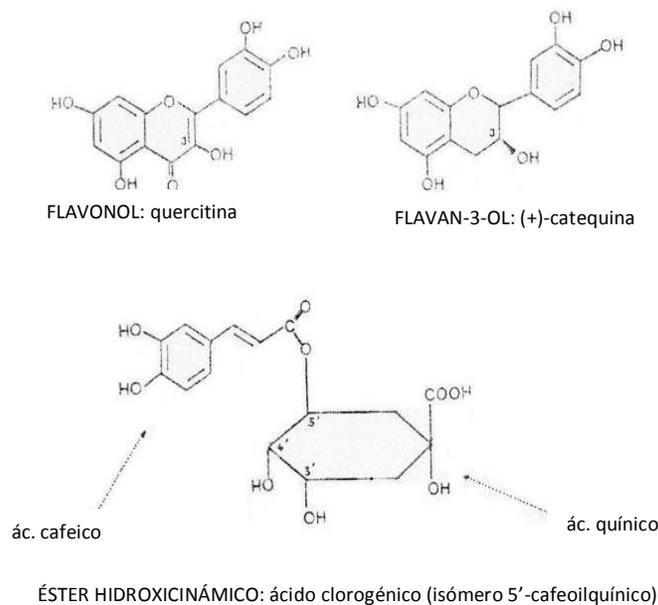


Figura 1.11 Ejemplos de figuras ortodifenólicas presentes en las hortalizas (Tirilly y col, 2001).

Los más importantes son los derivados hidroxicinámicos como el ácido clorogénico y los flavan-3-ols como las catequinas. Parece que en muchos casos el ácido clorogénico desempeña un papel esencial en el mecanismo primario de la oxidación enzimática.



1.4.6 Control del pardeamiento

- **Inhibición de las polifenol oxidasas**

Frecuentemente, para prevenir los pardeamientos se utilizan la acidificación, la alcalinización del medio y las temperaturas elevadas. En general, para obtener una inactivación parcial o total de las enzimas es suficiente una corta exposición a temperaturas de 70 a 90°C. Los inhibidores de la PPO pertenecen a dos grupos: los compuestos que reaccionan con el cobre de la enzima y los que afectan al lugar activo para el sustrato fenólico (Tirilly y col, 2001).

- a) Entre los primeros, se encuentran los quelantes de los iones metálicos tales como los nitritos, los cianuros, el monóxido de carbono y el dietilditiocarbamato que son más o menos específicos del cobre, pero que en su mayoría son tóxicos y no pueden utilizarse en la industria agroalimentaria. La adición de cantidades crecientes de cloruros en el medio puede modificar las constantes de equilibrio de los sistemas tapón y provocar un descenso del pH, modificando la cinética de inhibición (Tirilly y col, 2001).
- b) En el segundo grupo de inhibidores se encuentran los ácidos aromáticos carboxílicos de las series benzoicas y cinámicas. Debido a su estructura se asemejan a la de los sustratos fenólicos de las PPO, son con frecuencia inhibidores competitivos. Con la PPO purificada a partir de hojas de escarlata, un estudio realizado con el pirocatecol como sustrato indica una inhibición de tipo competitivo para todos los ácidos ensayados, manifestándose los ácidos cinámicos como inhibidores más potentes que los derivados benzoicos (Tirilly y col, 2001).
- c) Los sulfitos son poderosos inhibidores del pardeamiento enzimático. La inhibición de la actividad PPO por los sulfitos es compleja: el inhibidor desnatura parcialmente la enzima por la formación de un complejo con la proteína, lo que ocasiona modificaciones de su estructura. Aunque los sulfitos limitan eficazmente los pardeamientos y poseen propiedades antioxidantes y antimicrobianas, su utilización está muy reglamentada (Tirilly y col, 2001).

La fenolasa es activa entre pH 5 y 7. A valores de pH inferiores aproximadamente a 3, la enzima queda inactivada de forma irreversible. Se inhibe la actividad de la fenolasa con la adición de cantidades suficientes de acidulantes, como ácido cítrico, ácido málico o ácido fosfórico, para producir un pH 3 o inferior. Se hace desaparecer el oxígeno del lugar de reacción mediante métodos tales como vacío o inmersión de los tejidos vegetales en salmueras o almíbar (Fennema, 1993).



- **Reducción y captura de las quinonas**

Existe una tercera clase de reactivos que se utiliza para inhibir el pardeamiento. Son los compuestos que reaccionan con las quinonas: ácido ascórbico, compuestos tiol y bisulfito, principalmente. El principal efecto de estos compuestos es: reducir las *o*-quinonas a medida que se van formando, transformándolas en *o*-difenoles: es el caso del ácido ascórbico, un antioxidante natural que es utilizado para luchar contra los pardeamientos. Por otra parte formar productos de adición incoloros con las *o*-quinona: es el caso de los compuestos tiol (cisteína, glutatión, etc.) y de los sulfitos, compuestos estos últimos que son conocidos por causar una inactivación directa de la PPO (Tirilly y col, 2001).

- **Acción a nivel de los sustratos**

- a) Sustratos fenólicos: los pardeamientos y las alteraciones que aparecen durante la fabricación y la conservación de los zumos de hortalizas y de fruta son un importante problema para la industria agroalimentaria. Como estos efectos indeseables se deben principalmente a la oxidación de los compuestos fenólicos, se puede tratar de eliminar estos últimos por métodos físicos: utilizando absorbentes específicos, ciclo dextrinas, carragenanos, o quitosanos (Tirilly y col, 2001).
- b) Limitación de la disponibilidad de oxígeno; utilización de atmosferas modificadas, manteniendo una atmosfera desprovista o fuertemente empobrecida en oxígeno, se puede conseguir una reducción del pardeamiento (Tirilly y col, 2001).
- c) Otros aspectos de la lucha contra los pardeamientos: efectos de los carotenoides, tratamientos tisulares y celulares, y mejora genética (Tirilly y col, 2001).

- **Inactivación de las enzimas por tratamiento térmico**

Como sucede con cualquier otra reacción química, la velocidad de las reacciones enzimáticas se incrementa con la temperatura, al aumentar la energía cinética de las moléculas, pero solo en el intervalo en el que la enzima es estable y retiene su capacidad catalítica; en casos extremos, cuando el incremento es muy grande, se favorece la desnaturalización y consecuentemente la proteína pierde su capacidad catalítica. Cada enzima tiene un intervalo óptimo de temperatura en el cual logra mayor actividad, para la mayoría está entre 30 y 45°C, y se inactivan a más de 60°C, a esta temperatura la energía introducida en el sistema sobre pasa la energía de las fuerzas que mantienen la estructura activa de la enzima (Badui, 2006).

Las enzimas pueden inactivarse a temperaturas altas excepto las muy termoestables como son las peroxidasas. Como se sabe, la actividad enzimática duplica su velocidad de reacción por cada 10°C de incremento de temperatura. Esto significa que tratamientos térmicos cortos en los márgenes inferiores de las temperaturas utilizadas para reducir los microorganismos pueden posiblemente, incrementar la actividad de ciertas enzimas indeseables (Wiley, 1997).



La mayor parte de la inactivación térmica de las principales enzimas de importancia en el campo del procesamiento de frutas y hortalizas, tales como PO/catalasa, polifenol oxidasa, lipoxigenasa, PE (pectinesterasa) y PG (poligalacturonasa) siguen cinéticas de reacción de primer orden. Para comparar la inactivación térmica de las enzimas con las curvas de tiempo de muerte térmica de los microorganismos, los datos del tratamiento térmico para las enzimas deben reducirse de los valores D y z. esta aproximación ayudara a los especialistas a interpretar el efecto del calor sobre las enzimas y microorganismos. La figura 1.12 es ilustrativa de la inactivación térmica de la fracción termoestable de varianzas enzimáticas de patata. Resulta que para reducir la actividad enzimática en un 90% se requieren tiempos mucho más largos mientras menor sea la temperatura y que la peroxidasa de los tejidos de patatas es mucho más resistente al calor que la lipoxigenasa o la polifenol oxidasa. Los valores de-z de lipoxigenasa, polifenol oxidasa y peroxidasa son 36°C, 78°C y 37°C respectivamente (Wiley, 1997).

En la figura 1.12 se ilustran los problemas para el control de las enzimas alterantes de los tejidos de las frutas y hortalizas utilizando solamente calor. Los valores-D (en segundos) son muy elevados a temperaturas bajas, haciendo difícil inactivar las enzimas y retener la calidad del producto como si fuera fresco. La peroxidasa, que afecta al sabor y color de muchas frutas y hortalizas, es la que mejor refleja este punto. Esta claro que para el control de las enzimas (así como para los microorganismos) se deben incluir obstáculos adicionales para una adecuada conservación. Uno de tales obstáculos puede ser el ajuste del pH del alimento a un valor alejado del punto isoeléctrico para las enzimas que produzca menor sensibilidad al calor (Wiley, 1997).

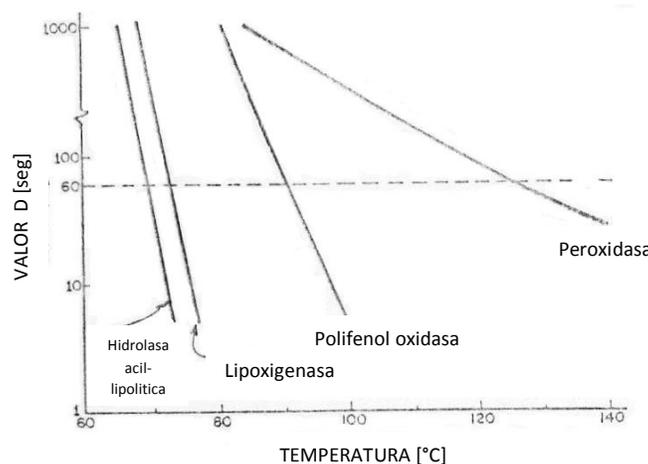


Figura 1.12 Inactivación térmica de la fracción termoestable de la hidrolasa acil-lipolitica, lipoxigenasa, polifenoloxidasa y peroxidasa de la patata en función de la temperatura, (Wiley, 1997)



1.5 Principios básicos de transferencia de calor

La transferencia de calor es una rama de la física, involucrada en los fenómenos del transporte, que trata de predecir el intercambio de energía que puede haber entre cuerpos materiales, como resultado de una diferencia de temperaturas. La transferencia de calor pretende no solo explicar como la energía térmica puede ser transmitida, sino también predecir la rapidez con la que, bajo ciertas condiciones específicas, tendrá lugar esa transferencia (Holman, 1989). La transferencia de energía en forma de calor es muy común en muchos procesos químicos y de otros tipos. La transferencia de calor se verifica debido a la fuerza impulsora ya que una diferencia de temperatura por la cual el calor fluye de la región de alta temperatura a la de temperatura más baja (Geankoplis, 2006).

1.5.1 Tratamientos térmicos

Bajo el título de Tratamientos Térmicos se suelen englobar todos los procedimientos que tienen entre sus fines la destrucción de los microorganismos por el calor. Por lo tanto nos estamos refiriendo tanto a la pasteurización como la esterilización cuya finalidad principal es la destrucción microbiana, como al escaldado y la cocción, procesos en los que también se consigue una cierta reducción de la flora microbiana presente. Aunque el principal objetivo sea la destrucción de los microorganismos, no hay que olvidar que a la vez ocurrirán otros procesos, unos deseables (destrucción enzimática, ablandamiento de los tejidos, mejora de la digestibilidad, etc.), que pese a ello se deberán controlar para que no produzcan efectos excesivos, y otros menos deseables, inevitables en algún grado (destrucción de nutrientes, pérdida de cualidades organolépticas: color, aroma, etc.), (Casp y col, 2003).

- **Destrucción térmica de los microorganismos**

El tratamiento térmico constituye una parte de la conservación de los alimentos, que se completa con procesos tales como la reducción de la actividad del agua, la disminución del pH, la adición de sal o de conservantes, el envasado en determinadas condiciones o el almacenamiento a bajas temperaturas. La inactivación de los microorganismos presentes en un alimento se puede llevar a cabo por inhibición de su reproducción o por letalidad de los mismos. La primera vía es una acción microstática, mientras que la segunda es de acción microcida. La diferencia entre ambas modalidades se centra en el tiempo de operación preciso para alcanzar un determinado nivel de esterilidad (Aguado, 2002).



1.5.2 Mecanismos de transferencia de calor

La transferencia de calor puede verificarse por medio de uno o más de los tres mecanismos de transferencia: conducción, convección o radiación.

- **Conducción**

La conducción es la forma en la que tiene lugar la transferencia de energía a escala molecular. Cuando las moléculas absorben energía térmica vibran sin desplazarse, aumentando la amplitud de la vibración conforme aumenta el nivel de energía. Esta vibración se transmite de unas moléculas a otras sin que tenga lugar movimiento alguno de traslación. Por este mecanismo el calor puede ser conducido a través de sólidos. La conducción se verifica mediante la transferencia de energía cinética entre moléculas adyacentes (Geankoplis, 2006; Singh y col, 1998).

- **Convección**

La transferencia de calor por convección implica el transporte de calor en volumen y la mezcla de elementos macroscópicos de porciones calientes y frías de un gas o un líquido. Dependiendo de si el flujo del fluido es provocado artificialmente o no, se distinguen dos tipos de transmisión de calor por convección: forzada y libre (también llamada natural). La convección forzada implica el uso de algún medio mecánico, como una bomba o un ventilador, para provocar el movimiento del fluido. La convección natural tiene lugar a causa de diferencias de densidad provocadas por sus gradientes de temperatura. Ambos mecanismos pueden provocar un movimiento laminar o turbulento del fluido (Geankoplis, 2006; Singh y col, 1998).

- **Radiación**

La transmisión de calor por radiación tiene lugar entre superficies mediante la emisión y posterior absorción de radiación electromagnética. A diferencia de la conducción y la convección, la radiación no requiere ningún medio físico para su propagación y puede tener lugar incluso en el vacío. El ejemplo de la radiación más ilustrativo es el transporte de calor del Sol a la Tierra. Otros ejemplos son la cocción de alimentos cuando se hacen pasar bajo calentadores eléctricos (Geankoplis, 2006; Singh y col, 1998).

1.5.3 Transmisión de calor en el procesamiento de alimentos

El calentamiento y enfriamiento son los procesos más habituales en una planta de procesamiento de alimentos. Es habitual encontrar en la moderna industria alimentaria unidades de refrigeración, congelación, esterilización, secado y evaporación. En estas unidades tienen lugar la transmisión de calor entre un producto y un agente calefactor o refrigerante. El calentamiento y enfriamiento de productos alimentarios son necesarios para prevenir la degradación microbiana y enzimática (Singh y col, 1998).



Operaciones que con mayor frecuencia aparecen en la industria alimentaria:

- Pasteurización
- Evaporación
- Esterilización
- Cocimiento
- Calentamiento
- Enfriamiento

Estas operaciones se llevan a cabo en forma continua, tanto en equipos convencionales, como en equipos específicos de la industria alimentaria (Geankoplis, 2006).

1.5.3.1 Ejemplos de transmisión de calor en el procesado de alimentos

Las interacciones entre los compuestos químicos (ácido ascórbico, ácido cítrico, metabisulfito de sodio) y tratamiento térmico (70°C durante 2min) se estudiaron en aguacate, plátano, manzana pera, melocotón, papa, berenjena y champiñones, con la finalidad de controlar la actividad de la PPO en frutas y verduras; demostrando los resultados que la PPO de aguacate y berenjena eran más resistentes a la inhibición por tratamiento térmico ya que las condiciones de tratamiento no era lo suficiente para su inactivación, El método menos eficiente probados para el control de la PPO fue la adición de ácido ascórbico, mientras que los métodos más eficientes investigados incluyeron el uso de ácido cítrico, metabisulfito de sodio y tratamiento térmico (Almeida y col, 1995).

Un estudio realizado en perejil pastoso demostró la influencia del tratamiento térmico (calentamiento) sobre sus propiedades como el color y la actividad enzimática, a 80,90 y 100°C durante 1-10min, permitiendo la producción de productos novedosos caracterizándose por una calidad sensorial mejorada (Kaiser y col, 2012). De igual manera un estudio realizado en acelga, demuestran que para inactivar la enzima PPO se debe llevar a cabo un calentamiento mayor a los 90°C, evitando así la formación de colores (Garrote y col, 1984).

En la inactivación de la PPO in situ en pulpa de mamey demuestran, se inactiva completamente cuando la temperatura de tratamiento térmico llegó a los 79°C, aunque da lugar a efectos perjudiciales sobre la organización del tejido y la forma, por el contrario los tratamientos con microondas son un medio eficaz para inactivar completamente la PPO sin causar ningún daño a los tejidos y forma del fruto (Palma y col, 2012).

Existe un creciente interés público y científico en el desarrollo de alternativas naturales sobre los colorantes sintéticos en los alimentos. Los extractos de cúrcuma, paprika, y remolacha son ejemplos de derivados colorantes naturales de alimentos. Semillas de aguacate, representan un flujo de residuos infrutilizados, formar un color naranja estable cuando se aplastan en



presencia de aire, de una manera dependiente del tiempo. El tratamiento térmico de la semilla impidió el desarrollo de color; dando como resultado que la semilla de aguacate puede ser una fuente potencial de colorante natural para el uso de alimentos, y que el desarrollo de color es dependiente a la PPO (Dabas y col, 2011).

La cinética de combinación de presión y temperatura inactiva la enzima PPO sin alterar la calidad del aguacate. Las constantes de inactivación de velocidad (k) se obtuvieron para un centenar de combinaciones de presión constante (0.1 a 900MPa) y la temperatura (25 a 77.5°C). De acuerdo con la ecuación de Arrhenius y Eyring, los volúmenes de activación y las energías de activación, respectivamente, lo que representa la presión y la dependencia de la temperatura de la velocidad de inactivación constante, se calcularon para todas las temperaturas y presiones estudiadas. De esta manera, la temperatura y la dependencia de la presión del volumen de activación y energía de activación, respectivamente, podría ser considerado. Tales modelos de presión-temperatura de inactivación de los alimentos, relacionados con aspectos de la calidad (por ejemplo, el deterioro de la enzima PPO) forman la base de ingeniería para el diseño, evaluación y optimización de los procesos de conservación. La metodología generada puede ser utilizada para desarrollar análogos modelos cinéticos para aspectos microbiológicos, que son necesarios desde un punto de seguridad y de vista legislativo, y otros aspectos cualitativos, los factores nutricionales, por ejemplo, con el fin de óptima calidad y aceptación del consumidor (Weemaes y col, 1998).

Se realizó un estudio sobre la inactivación térmica de la PPO en puré de fresa y su impacto en antocianina y retención del color. La estabilidad térmica de la PPO se evaluó *in vitro* durante tres cultivares bajo diferentes regímenes de tiempo-temperatura (60, 75 y 90°C, durante 3 y 5min respectivamente). Teniendo como resultado que la inactivación térmica de la PPO fue desventajosa respecto a la retención de pigmento y el color de los purés de fresa, que se atribuyeron a la regeneración parcial de la PPO (Holzwarth y col, 2012).

1.5.4 Pasteurización

La pasteurización consiste en un tratamiento térmico moderado, cuyo objetivo es asegurar la conservación de los alimentos respetando al máximo sus características nutritivas y organolépticas. En este procedimiento las temperaturas de operación no suelen superar los 100°C, lo que permite el empleo de agua o vapor como agente de calefacción (Aguado, 2002).

La pasteurización se centra en la inactivación enzimática y en la destrucción de los microorganismos más sensibles a la temperatura. El tratamiento es capaz de neutralizar presencia vegetativa, levaduras y mohos, sin que su intensidad permita la destrucción de formas esporuladas. Su aplicación queda restringida a aquellos alimentos que no contengan esporas patógenas.



La severidad del tratamiento depende, del pH del producto. Si el alimento es ácido, situación en la que no cabe esperar gérmenes patógenos, la pasteurización incide sobre los microorganismos alterativos y sobre la actividad enzimática. En el caso contrario, alimentos de baja acidez, el proceso se concibe como un medio de garantizar la esterilidad comercial del producto, se asegura de ausencia de patógenos.

Las condiciones en las que opera un pasteurizador se establecen atendiendo a la destrucción de los microorganismos más resistentes, a la inactivación de enzimas y la degradación de los factores de calidad del alimento (Aguado, 2002).

El termino pasteurización se emplea en homenaje a Louis Pasteur, quien a mediados del siglo XIX realizó estudios referentes al efecto letal del calor sobre los microorganismos, y a su uso como sistema de conservación. Cuando se habla de pasteurización se entiende un tratamiento a baja temperatura (inferior a 100°C), y de baja intensidad, en contraposición con la esterilización, circutérmino que se reserva para los tratamientos más intensos aplicados a temperaturas mayores (Aguado, 2002).

La pasteurización tiene objetivos distintos de acuerdo con los alimentos a los que se aplique (Casp y col, 2003):

- Para los alimentos poco ácidos, cuyo ejemplo más importante es la leche líquida, el objetivo principal es la destrucción de la flora patógena y la reducción de la flora banal, para conseguir un producto de corta conservación, pero de condiciones organolépticas muy aproximadas a las de la leche cruda, evitando los riesgos para la salud de este último producto.
- Para los alimentos ácidos, cuyo ejemplo más importante son los zumos de frutas, conseguir una estabilización del producto que respete sus cualidades organolépticas, ya que no son necesarias las temperaturas mayores porque en medios ácidos no es posible el crecimiento de bacterias esporuladas.

En los alimentos ácidos, solo encontramos microorganismos muy sensibles al calor, que pueden ser destruidos, por un tratamiento térmico ligero. En estos alimentos se desarrollan bacterias no esporuladas, muy sensibles al calor (las más termoresistentes pueden destruirse a 88°C), levaduras y mohos, estos últimos tampoco soportan los medios anaerobios. Por lo tanto la estabilidad buscada puede encontrarse con un tratamiento de pasteurización, que además conseguirá la inactivación de enzimas, evitándose así las reacciones de pardeamiento y otras reacciones enzimáticas de deterioro del producto.



1.5.4.1 Elección de las condiciones de pasteurización

Generalmente el factor limitante de los tratamientos de pasteurización es su actuación sobre las características organolépticas y nutricionales de los alimentos tratados. La elección de la temperatura y del tiempo de tratamiento vendrá condicionada por la preservación de la composición inicial del alimento: impedir la desnaturalización de las proteínas de la leche y la destrucción de las vitaminas de los zumos de frutas, evitando en todos los casos la aparición de los gustos a cocido que deteriorarían irreversiblemente los productos (Casp y col, 2003).

Generalmente se puede elegir entre dos grandes sistemas de pasteurización:

- Baja temperatura durante un largo tiempo (LTLT: low temperature-long time).
- Alta temperatura durante un tiempo corto (HTST: high temperature-short time). En este caso las propiedades de los productos se ven muy poco afectadas, aunque las temperaturas sean más altas, por el corto tiempo de mantenimiento.

El sistema de pasteurización elegido condicionara el equipamiento necesario para aplicarlo. El sistema LTLT se puede plantear en procesos por cargas o continuos, para productos líquidos (que se calientan por convección) a granel (en marmitas) o envasados; también puede emplearse en productos sólidos que se calientan por conducción (productos cárnicos) ya que con estas bajas temperaturas las diferencias en el procesado inherentes a este mecanismo de transmisión de calor se verán minimizadas. El sistema HTST solo tiene sentido para productos líquidos en procesos continuos, empleando equipos de intercambio térmico de suficiente eficiencia para que la homogeneidad del tratamiento sea la conveniente pese a que el tiempo sea tan corto (Casp y col, 2003).

1.5.4.2 Equipos empleados en la pasteurización de líquidos sin envasar

La instalación completa de pasteurización constará de una primera zona de calentamiento, una segunda zona de mantenimiento de la temperatura y una tercera de enfriamiento y de las bombas, sistemas de medida y de control y además accesorios necesarios para conseguir un proceso preciso y eficiente. Las zonas en las que se realiza el intercambio térmico serán cambiadores de calor del tipo más adecuado para que el producto en cuestión reciba un tratamiento correcto y para que se minimice el consumo energético. El calor necesario para el proceso vendrá suministrado por agua caliente o vapor de agua. El enfriamiento final se realizara también contra agua, esta vez fría o helada dependiendo de la temperatura a la que se desea quede el producto al concluir el proceso (Casp y col, 2003).

Generalidades sobre cambiadores de calor

a) Circulación de los fluidos

Existen dos opciones principales a la hora de elegir la circulación de los fluidos en un cambiador de calor: flujo en contracorriente y flujo en paralelo.



- **Flujo en contracorriente**

Como se observa en la figura 1.13, en este caso la entrada de los dos fluidos se produce por los dos extremos opuestos del cambiador de calor: De esta forma, el producto al entrar se encuentra con el fluido térmico que ha terminado su recorrido, y al salir se encuentra con el fluido térmico que acaba de entrar en el proceso.

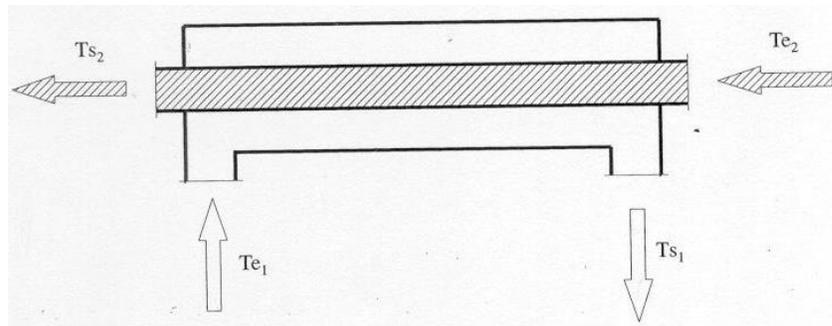


Figura 1.13 Cambiador de calor trabajando en contracorriente (Casp y col, 2003)

El producto frío se encuentra, a su entrada al cambiador, con el medio de calentamiento más frío, y según recorre el equipo se va encontrando con el fluido calefactor cada vez más caliente. El producto se calienta manteniendo en cada punto una pequeña diferencia de temperatura con el medio calefactor, como se muestra en la figura 1.14.

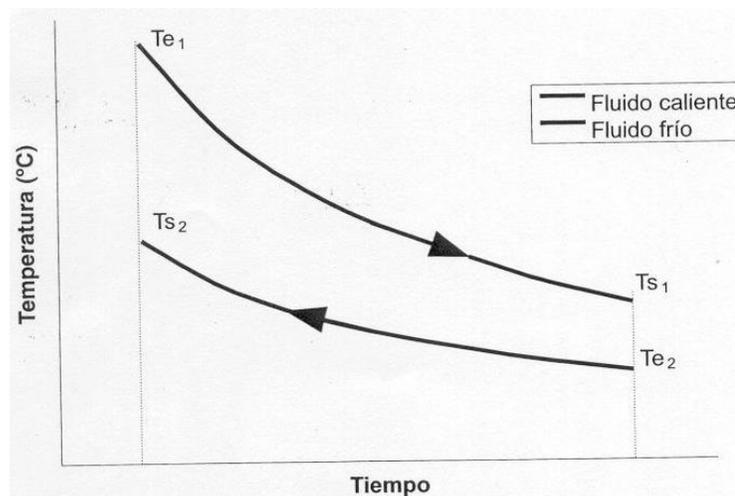


Figura 1.14 Evolución de las temperaturas de producto y fluido calefactor en un proceso en contracorriente (Casp y col, 2003).

- **Flujo en paralelo**

El flujo en paralelo se produce cuando producto y fluido térmico son introducidos en el cambiador por el mismo extremo, como se ve en la figura 1.15.

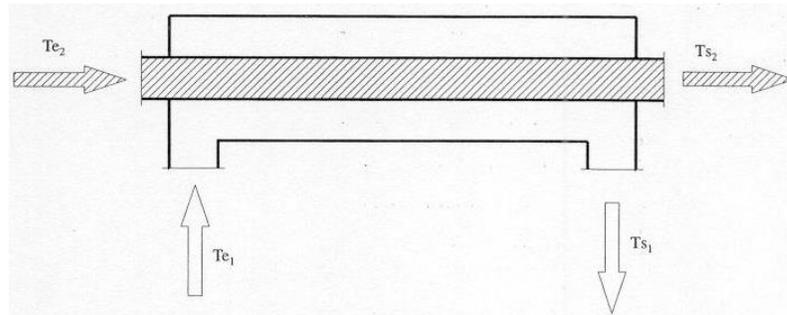


Figura 1.15. Cambiador de calor trabajando en paralelo (Casp y col, 2003)

En este caso el producto se encuentra en la entrada del equipo con el fluido térmico a la máxima temperatura, por lo que el salto térmico inicial se irá reduciendo hasta que sea mínimo al otro extremo del equipo. En la figura 1.16 se puede apreciar como evolucionan las temperaturas en este caso.

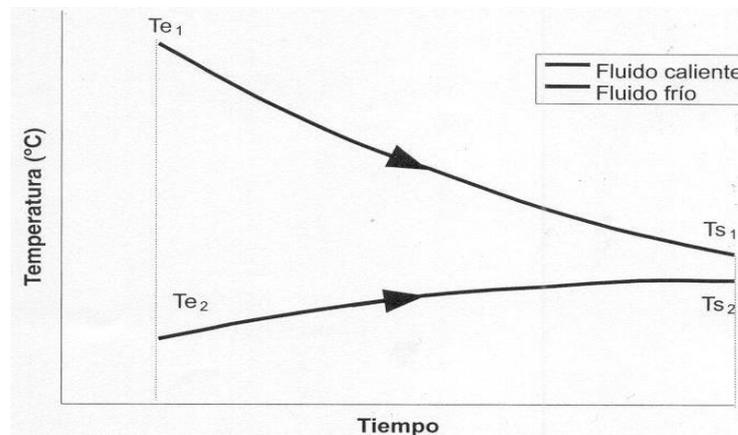


Figura 1.16 Evolución de las temperaturas de producto y fluido calefactor en un proceso en paralelo (Casp y col, 2003).

En un proceso en paralelo es imposible conseguir un mayor calentamiento del producto que el que obtendrá si se mezclase físicamente con el fluido calefactor. Esta limitación no existe cuando se utiliza un proceso en contracorriente en el que el producto se puede calentar hasta una temperatura ligeramente a la de entrada del fluido térmico (Casp y col, 2003).



b) Tipos de cambiadores de calor de productos alimentarios

En una planta de procesado, el calentamiento y enfriamiento de los alimentos se lleva a cabo en equipos denominados cambiadores de calor como se muestra en la figura 1.17, los cambiadores de calor puede clasificarse de forma genérica en directos e indirectos. Como sugiere esta denominación, en los cambiadores indirectos el producto y el agente calefactor o refrigerante se mantienen separados físicamente mediante una pared metálica. En los cambiadores de calor directos hay contacto físico entre el producto y el agente calefactor o refrigerante (Singh y col, 1998).

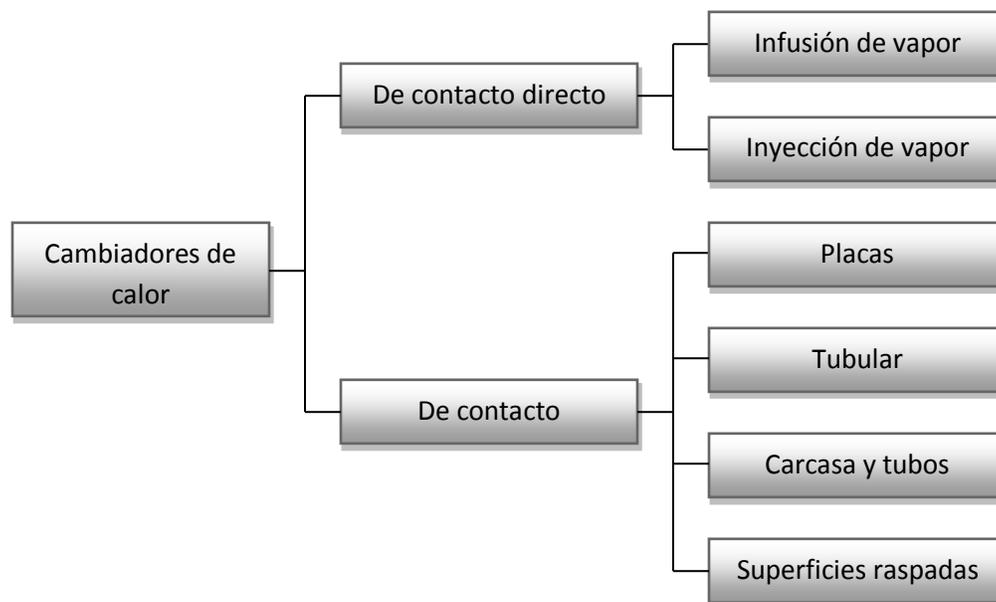


Figura 1.17 Clasificación de cambiadores de calor más comunes (Singh y col, 1998)

- **Cambiadores de calor de placas**

Los cambiadores de placas son adecuados para líquidos de baja viscosidad (menos 5 Pa·s) sin sólidos en suspensión. Este tipo de cambiadores consta de una serie de placas de acero inoxidable apretadas cada una contra la siguiente y montadas sobre un bastidor. Mediante juntas de goma (sintética o natural) se sellan las entradas y salidas de las placas para evitar la mezcla de los fluidos que circulan por ellas. Estas juntas sirven para conducir la corriente de fluidos calefactor o refrigerante y la de producto de manera que ambos circulen por placas alternas (Casp y col, 2003).

Las placas suelen tener figuras geométricas gravadas en la superficie como se muestra en la figura 1.18 para provocar un aumento de la turbulencia en el fluido que circula, mejorando así la transmisión de calor (Casp y col, 2003).

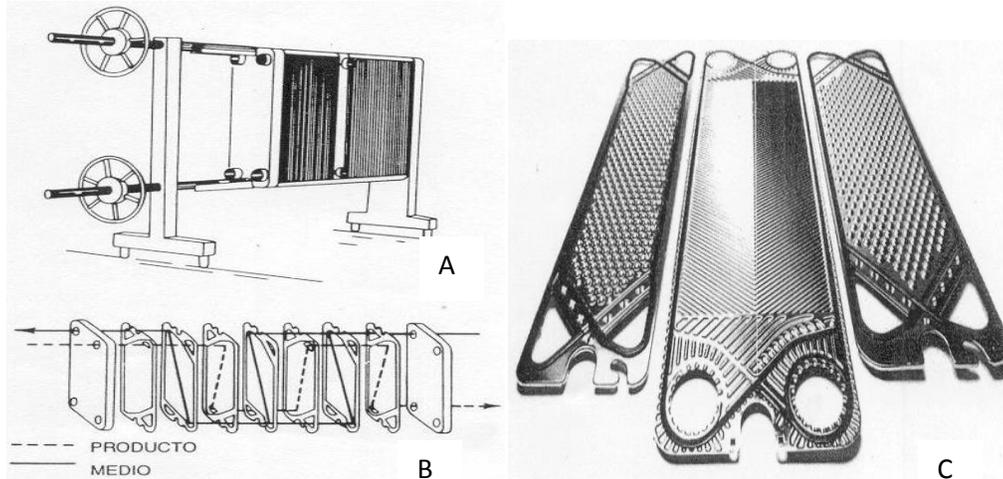


Figura 1.18 (A) Cambiador de calor de placas; (B) Esquema del flujo de fluido entre placas; (C) Vista de las placas para los cambiadores de calor (Casp y col, 2003)

- **Cambiadores de calor tubulares**

Bajo este nombre se agrupan todos los cambiadores de calor en los que la superficie de intercambio está formada por tubos, cualquiera que sea su disposición. Con estos equipos se pueden tratar líquidos de viscosidad baja, mediana e incluso alta en algunos modelos, y de acuerdo con el diámetro de los tubos, e incluso con partículas sólidas hasta un cierto tamaño).

Tubos concéntricos: consta de dos tuberías concéntricas, una en el interior de la otra, circulando los dos fluidos por ese espacio anular y por la tubería interior. Una ligera variación la constituye el cambiador de tres tubos concéntricos, como se muestra en la figura 1.19. En este cambiador el producto circula por el espacio anular interior y los agentes refrigerantes/calefactores lo hacen por el tubo interior y por el espacio anular exterior (Singh y col, 1998).

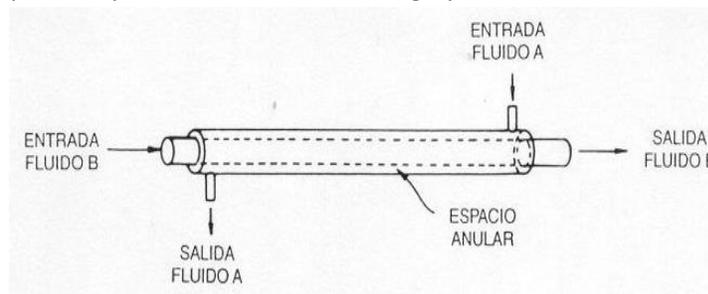


Figura 1.19 Esquema de un cambiador de calor tubular (Singh y col, 1998)

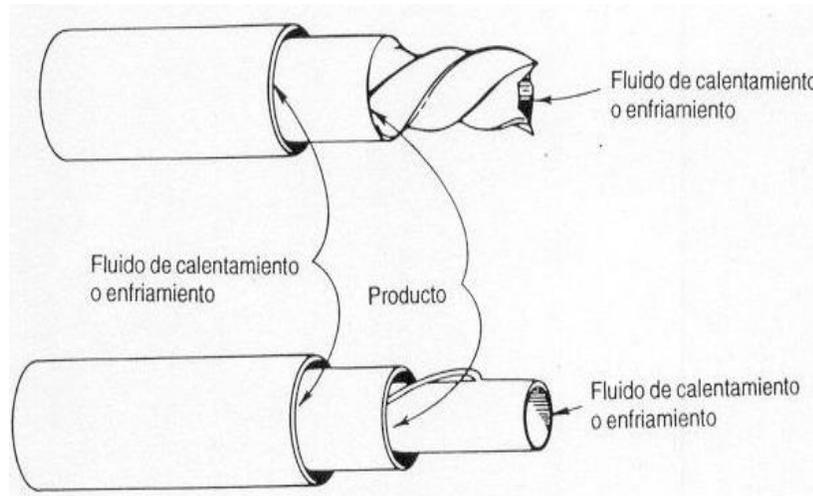


Figura 1.20 Esquema de un cambiador de calor de tubos concéntricos (Singh y col, 1998)

Los tubos que se emplean en la fabricación de estos cambiadores pueden ser rectos o corrugados, obteniéndose con estos últimos una mayor transferencia y una mayor turbulencia en la circulación, como se puede observar en la figura 1.21.

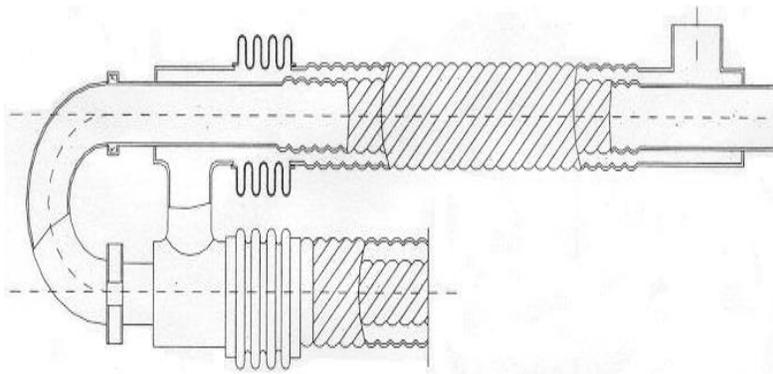


Figura 1.21 (A) Cambiador de calor de tubos concéntricos corrugados (Casp y col, 2003)

Cambiadores de tubos y carcasa: en este tipo de cambiador un fluido circula por el interior de los tubos mientras que el otro lo hace por la carcasa exterior a estos, como se ilustra en la figura 1.22. Si el fluido de la carcasa circula perpendicularmente a los tubos, la transmisión de calor es mayor que si lo hace paralelamente (Singh y col, 1998; Casp y col, 2003).

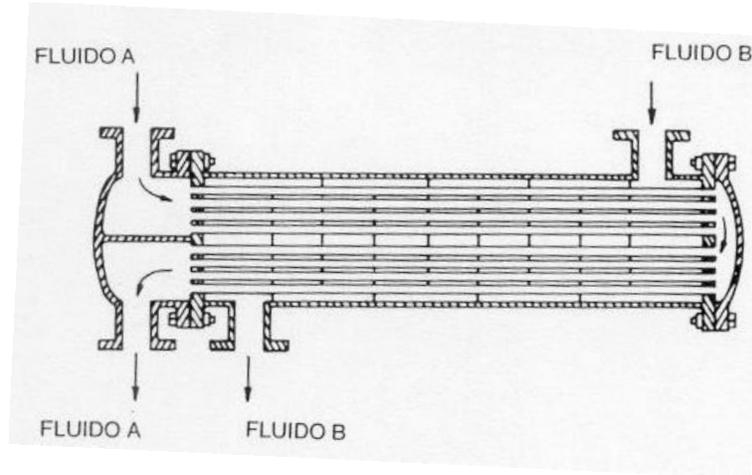


Figura 1.22 Cambiador de calor de tubos y carcasa con dos pasos por los tubos (Singh y col, 1998)

Cambiadores de calor de superficie raspada: se destinan a los productos más viscosos, en concreto a productos francamente pastosos: purés, concentrados de zumos de tomate, etc. Están constituidos por elementos tubulares dispuestos casi siempre en posición vertical. El fluido térmico circula en un tubo anular mientras que el producto, que circula en un tubo central, es agitado por un rotor equipado por elementos raspadores que eliminan continuamente los depósitos susceptibles de incrustarse sobre la superficie del intercambiador. Este tipo de aparatos se utiliza como mero intercambiador para calentamiento o enfriamiento simple, pero también como pasteurizador o esterilizador de platos cocinados u otros productos a granel, como cristalizador, preferentemente para la crio concentración, o como evaporador de productos muy viscosos (Mafart, 1994).

La superficie en contacto con los alimentos se fabrica en acero inoxidable (tipo 316), níquel, cromo-níquel u otros materiales resistentes a la corrosión. El rotor interior tiene unas paletas como se muestra en las figura 1.23. Su velocidad varía entre 150 y 500 rpm; una mayor velocidad permite una mejor transmisión de calor. En estos cambiadores pueden montarse diferentes tipos de rotores para ajustar su trabajo a los distintos productos y aplicaciones. Los rotores más pequeños permiten el trabajo con partículas de hasta 25mm, mientras que los de mayor diámetro dan lugar a tiempos de residencia menores y mejoran el rendimiento térmico al reducir el espesor de producto. La tubería por la que circula el producto a calentar/enfriar, y que contiene el rotor, está contenida en el interior de la otra, por la que circula el agente calefactor/refrigerante. Este suele ser vapor o agua caliente. La temperatura de trabajo puede estar entre -35 y 90°C.

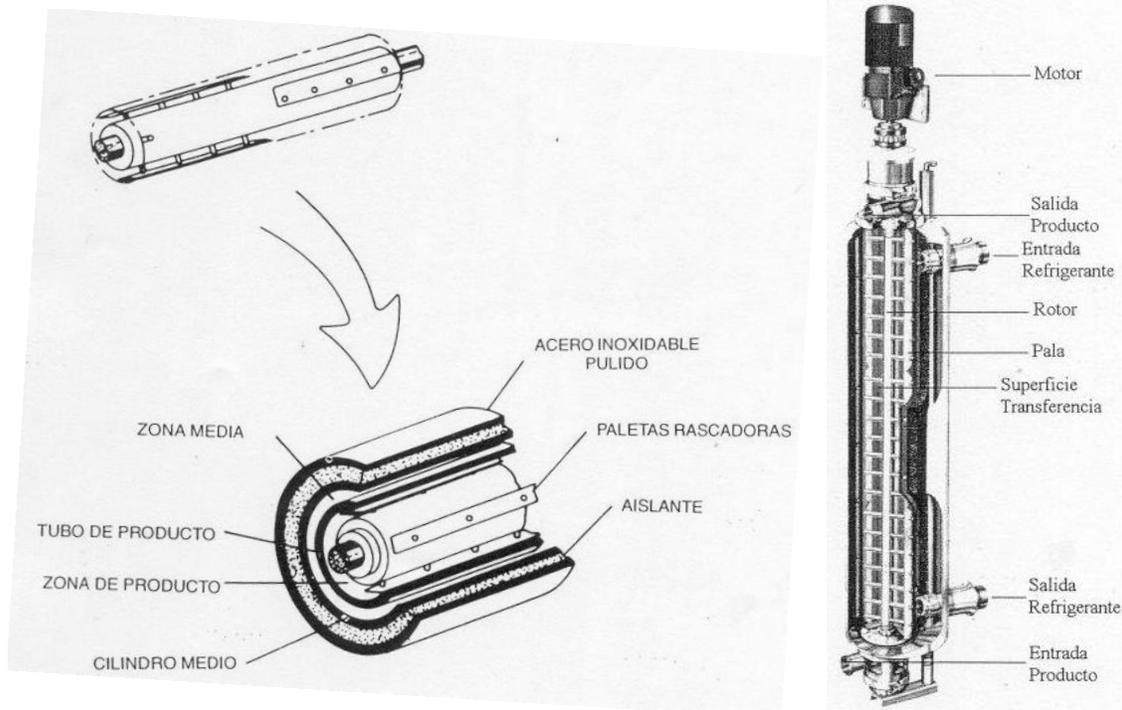


Figura 1.23 Cambiador de calor de superficie raspada (Singh y col, 1998; Casp y col, 2003)

A menudo es deseable la acción simultánea de mezclado que tiene lugar en los cambiadores raspados, ya que favorece la homogeneidad del aroma, color, textura u otras características del producto (Singh y col, 1998; Casp y col, 2003).

- **Cambiadores de calor por inyección de vapor**

En estos cambiadores, el contacto entre el vapor y el producto a calentar es directo, como se muestra en la figura 1.24. El producto a calentar se alimenta por la parte superior del cambiador y cae en forma de película; su viscosidad es la que determina el tamaño de los difusores a instalar. Cuando el vapor entra en contacto con las pequeñas gotas de producto, la transmisión de calor es muy buena y su temperatura aumenta rápidamente debido a la condensación del vapor. Estos cambiadores se utilizan para la cocción y/o esterilización de una gran variedad de alimentos como concentrados de sopa, chocolate, queso, mix de helado, pudines, cremas pasteleras, leche, etc. (Singh y col, 1998; Casp y col, 2003).

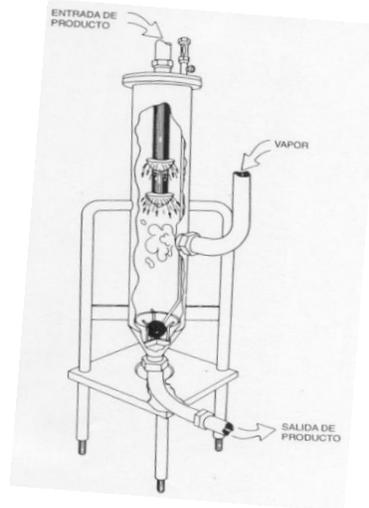


Figura 1.24 Cambiador de calor por inyección de calor (Singh y col, 1998;)

1.5.4.3 Equipos empleados en la pasteurización de productos envasados

Estos equipos son empleados en el caso de líquidos de poca viscosidad como cerveza. En el caso de líquidos más viscosos o sólidos (ejemplo: salsas en envases de vidrio o productos cárnicos como la salchicha).

- **Pasteurización por inmersión en baño de agua**

Se utiliza principalmente para la pasteurización de productos cárnicos. Consta de dos secciones (calentamiento y enfriamiento) formadas por unos recipientes rectangulares llenos de agua a la temperatura adecuada, que son recorridos por unos transportadores que se encargan de desplazar los productos por el interior del baño.

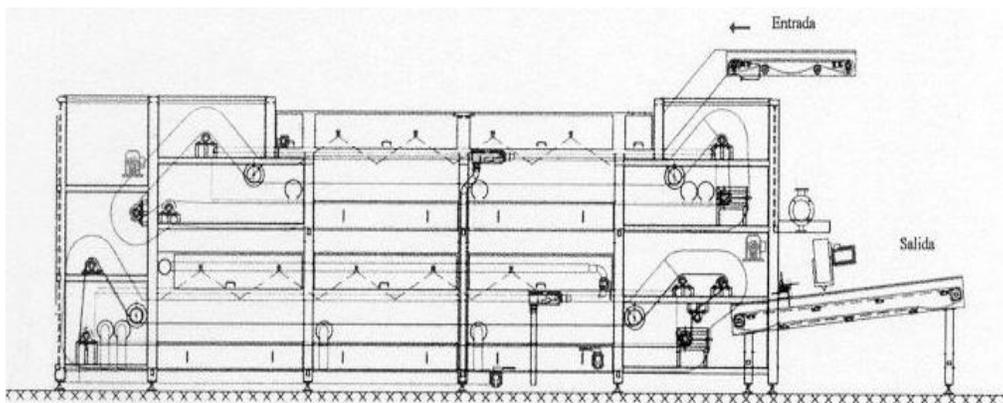


Figura 1.25 Pasteurizador por inmersión en baño de agua (Casp y col, 2003)



- **Pasteurización por lluvia de agua**

Cuando se deben pasteurizar productos envasados en tarros de vidrio es más apropiado utilizar sistemas en los que la transmisión de calor se realice por lluvia de agua. Estos pasteurizadores constan de un túnel calorificado, por el inferior del cual se desplazan los envases, generalmente en posición vertical, sobre un transportador adecuado. Dentro del túnel se encontrara una zona de precalentamiento, una zona central de pasteurización y por último una zona de enfriamiento (Casp y col, 2003).

En la figura 1.26 se muestra un ejemplo de la recirculación del agua en un pasteurizador de lluvia.

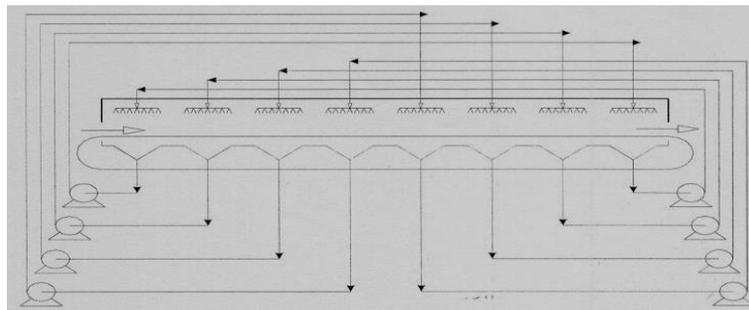


Figura 1.26 Esquema de la recirculación de agua en un pasteurizador por lluvia de agua (Casp y col, 2003)

1.6 Análisis sensorial

El análisis sensorial de los alimentos se lleva a cabo de acuerdo con diferentes pruebas, según sea la finalidad para la que se efectúe. Existen tres tipos principales de pruebas: las afectivas, las discriminativas y las descriptivas.

1.6.1 Pruebas afectivas o ensayos hedónicos

Las pruebas afectivas son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o si lo prefiere a otro. Estas pruebas son las que presentan mayor variabilidad en los resultados y estos son más difíciles de interpretar, ya que se trata de apreciaciones completamente personales. En esta prueba es necesario determinar si uno desea evaluar simplemente preferencia o agrado de satisfacción (gusto o disgusto), o si también uno quiere saber cual es la aceptación que tiene el producto entre los consumidores, ya que en este último caso los cuestionarios deberán contener no solo preguntas acerca de la apreciación sensorial del alimento, sino también de otras destinadas a conocer si la persona desearía o no adquirir el producto (Anzaldúa, 1994).



Con el fin de minimizar la variabilidad de los datos, se recomienda un número mínimo de 30 sujetos que han de intervenir en estas pruebas. Para obtener una buena representatividad de la población objeto de estudio, estos sujetos no deben estar entrenados y deben de ser consumidores habituales o potenciales y compradores del producto sometido a análisis. Las pruebas afectivas pueden clasificarse en tres tipos:

- a) Pruebas de preferencia: son la expresión que señala la elección de un producto entre varios. Esta elección, se mide directamente, por comparación entre dos o más productos, registrando cual de ellos es más preferido.
- b) Pruebas de agrado o satisfacción: estas son intentos para manejar más subjetivamente datos tan subjetivos como son las respuestas de los jueces acerca de cuanto les gusta o les disgusta un alimento.
- c) Pruebas de aceptación: la prueba de aceptación abarca aspectos culturales, socioeconómicos, de hábitos, etc. (Ibáñez, 2000).

1.6.2 Pruebas discriminativas

Las pruebas discriminativas son aquellas en las que no se requiere conocer la sensación subjetiva que produce un alimento a una persona, sino que se desea establecer si hay diferencia o no entre dos muestras o más, en algunos casos, la magnitud o importancia de esa diferencia. Las pruebas discriminativas más comúnmente empleadas son las siguientes:

- a) Pruebas de comparación apareada simple: en esta prueba se presentan solamente dos muestras al juez y se le pide que las compare en cuanto alguna característica sensorial (dulzor, dureza, grado de crujido, etc.) e indique cual de las dos tiene mayor intensidad de dicha propiedad.
- b) Prueba triangular: en esta prueba se le presentan tres muestras al juez, de las cuales dos son iguales, y se le pide que identifique la muestra que es diferente.
- c) Prueba dúo-trío: en esta prueba se le presentan tres muestras al juez, de las cuales una esta marcada como "R" (muestra de referencia), y las otras dos están codificadas. Se le dice al juez que una de las dos muestras es idéntica a "R" y la otra es diferente, y se le pide que identifique cual de las muestras es diferente.
- d) Pruebas de comparaciones apareadas de Scaffé: en esta prueba se comparan varias muestras en parejas, y se analiza la magnitud de las diferencias existentes entre ellas.
- e) Pruebas de comparaciones múltiples: esta prueba resulta muy útil para comparar el efecto de variaciones en una formulación, la sustitución de un ingrediente, así como la influencia del material de empaque, las condiciones del proceso, etc. En esta prueba dan a los jueces tres o más muestras y se les pide que compraren entre ellas cual es la más aceptada.



- f) Prueba de ordenamiento: esta prueba es muy sencilla. En ella se le dan a los jueces tres o más muestras que difieren en alguna propiedad, y se les pide que las pongan en orden creciente o decreciente de dicha propiedad.

1.6.3 Pruebas descriptivas

El análisis descriptivo es la descripción del conjunto de propiedades organolépticas del producto abordándolas a través de todas las vías sensoriales (vista, audición, tacto en la mano y en la boca, olfato y gusto). El método puede aplicarse para definir el estándar de fabricación, ya que establecen lo que se denominan las especificaciones o características tolerables que puede reunir un producto (Ibáñez, 2000). En las pruebas descriptivas se trata de definir las propiedades del alimento y medirlas de la manera más objetiva posible. Aquí no son importantes las preferencias o aversiones de los jueces, y no es tan importante saber si las diferencias entre las muestras son detectadas, sino cual es la magnitud o intensidad de los atributos del alimento. Las pruebas descriptivas, proporcionan mucha más información acerca del producto que las otras pruebas. Existen diferentes tipos de pruebas descriptivas como son (Anzaldúa, 1994):

- a) Calificación con escalas no estructuradas: es aquella en la cual solo se cuenta con puntos extremos (mínimo o máximo) y el juez debe expresar su apreciación de la intensidad de un atributo de un alimento marcando sobre una línea comprendida entre ambos extremos.
- b) Calificación por medio de escalas de intervalo: una escala en la cual no se tienen sólo dos puntos extremos, sino que contiene además uno o más puntos intermedios, es lo que se conoce como escala de intervalos.
- c) Calificación por medio de escala estándar: son escalas de intervalo cuyos puntos, en vez de contener descripciones, constan de alimentos que representan el grado de intensidad del atributo que está siendo medido.
- d) Calificación proporcional (estimación de magnitud): en este método las muestras se califican en relación a un estándar (muestra de referencia) al cual se le asigna un valor arbitrario.
- e) Medición de atributos sensoriales con relación al tiempo: en esta evaluación se desea conocer la intensidad de un atributo y además su variación a lo largo del tiempo, así como las tendencias que pueden esperarse.
- f) Determinación de perfiles sensoriales: consisten en una descripción minuciosa de todas las características o notas que conforman el sabor o la textura, seguida de una medición de cada una de ellas.
- g) Relaciones psicofísicas: son una ecuación (u otro mecanismo de relación, tal como un monograma, etc.) que establece una interdependencia entre evaluaciones sensoriales y mediciones físicas para un alimento.



El análisis sensorial de tipo descriptivo presenta una calificación por medio de escalas de intervalo las cuales suelen constar de 3, 4, 5 o más puntos. Es necesario proporcionar o explicar al juez una descripción detallada de cada uno de los puntos (extremos e intermedios) de la escala. La principal ventaja de este tipo de escala es que los puntos intermedios están anclados y no dejados completamente al criterio de los jueces. Puede considerarse como desventaja de las escalas de intervalo el que son relativas, ó sea que no dan valores absolutos sino solo grados asignados con un cierto criterio; por lo tanto, no existe una relación bien definida entre los valores numéricos designados (Anzaldúa, 1994).

La figura 1.27 muestra varias escalas de intervalo para una misma propiedad de los alimentos (ejemplo la dureza).

ESCALA DE 3 PUNTOS	1	Ligeramente duro
	2	Moderadamente duro
	3	Muy duro
ESCALA DE 4 PUNTOS	1	Ligeramente duro
	2	Moderadamente duro
	3	Bastante duro
	4	Muy duro
ESCALA DE 6 PUNTOS	1	Ligeramente duro
	2	Duro
	3	Moderadamente duro
	4	Bastante duro
	5	Muy duro
	6	Extremadamente duro
ESCALA DE 9 PUNTOS	1	Sumamente blando
	2	Muy blando
	3	Ligeramente firme
	4	Moderadamente firme
	5	Muy firme
	6	Moderadamente duro
	7	Bastante duro
	8	Muy duro
	9	Sumamente duro

Figura 1.27 Ejemplos de escalas de intervalo para la medición de la dureza (Anzaldúa, 1994)



Capítulo II

Objetivos



Objetivos

2.1 Objetivo general

Inactivación de la enzima polifenol oxidasa en un aderezo de aguacate, mediante un tratamiento térmico, evitando así la oxidación enzimática y eliminar la carga microbiana del producto para alargar su vida útil.

2.2 Objetivos particulares

2.2.1 Objetivo particular 1

Determinar la temperatura y tiempo de procesamiento necesario en un aderezo de aguacate, para la inactivación de la enzima polifenol oxidasa y la eliminación de la carga microbiana, con la finalidad de fijar las condiciones de un tratamiento térmico.

2.2.1.1 Hipótesis 1

Al aumentar la temperatura de calentamiento y disminuir el tiempo de residencia de un tratamiento térmico en un aderezo de aguacate, se inactivará la enzima polifenol oxidasa y se disminuirá la carga microbiana para inhibir el pardeamiento enzimático y el crecimiento microbiano, con ello alargándose la vida útil del producto.

Variables

- Variable independiente: Temperatura y tiempo de calentamiento
- Variable dependiente: Inactivación de la PPO y eliminación de carga microbiana
- Variable de respuesta: Vida útil del producto

Niveles de variación

Cuadro 2.1 Niveles de variación de tratamiento térmico

Temperatura [°C]	Tiempo [min]
65	15
75	13
85	10
*Interacción (total 9)	



Parámetros constantes

- Temperatura de enfriamiento
- Tiempo de enfriamiento

Métodos estadísticos aplicados

- Promedio
- Variación estándar
- Coeficiente de variación

2.2.2 Objetivo particular 2

Inactivación de la enzima polifenol oxidasa en un aderezo de aguacate, mediante un proceso térmico efectuado en un intercambiador de calor de superficie raspada, para aumentar la vida útil del producto.

2.2.3 Objetivo particular 3

Evaluar la vida útil de un aderezo de aguacate con un tratamiento térmico mediante pruebas fisicoquímicas y microbiológicas durante nueve semanas.

Métodos estadísticos aplicados

- Promedio
- Variación estándar
- Coeficiente de variación



Capítulo III

Materiales y métodos



3.1 Cuadro metodológico

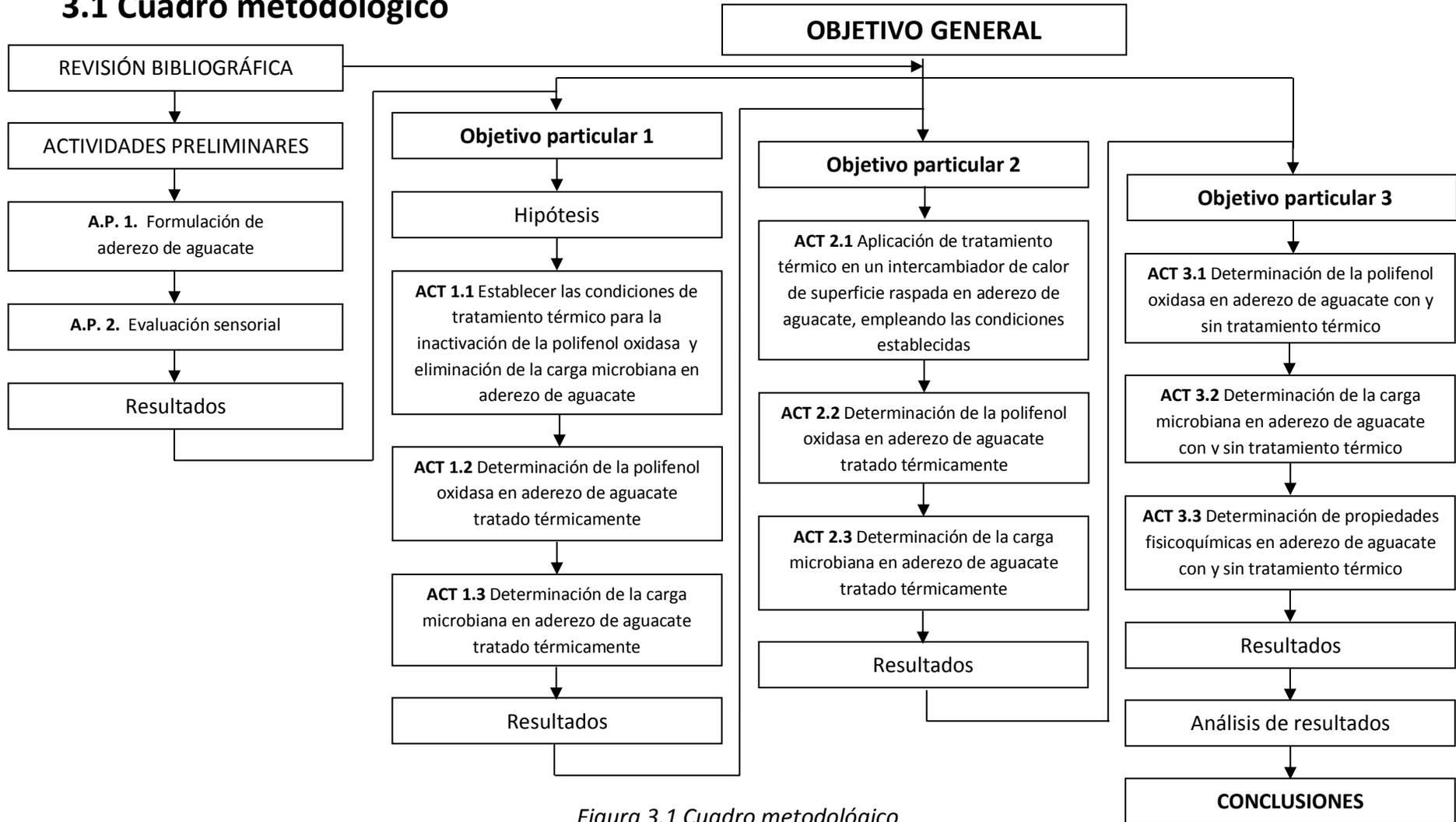


Figura 3.1 Cuadro metodológico

En la figura 3.1 se presenta el cuadro metodológico, mostrando de manera general el plan de trabajo para alcanzar los objetivos planteados.



3.2 Actividades preliminares

3.2.1 Actividad preliminar 1. Formulación de aderezo de aguacate

Se elaboró un aderezo de aguacate tradicional para ajustar la formulación y condiciones de proceso de elaboración. Posteriormente se obtuvieron diferentes formulaciones de aderezo de aguacate en las cuales se realizó una evaluación sensorial descriptiva, y de esta manera se determinó que formulación se aplicó para el desarrollo del proyecto. Se utilizaron algunos aditivos como son la lecitina de soya y el glutamato monosódico, esto por las propiedades que tiene cada uno de estos, mencionadas anteriormente en marco teórico.

En el cuadro 3.1 se presenta la formulación que se empleó para la elaboración de tres aderezos de aguacate diferentes, en los cuales los ingredientes que variaron fueron agua, leche y vinagre (marcados con un *, teniendo el mismo porcentaje de concentración para cada preparación), se realizó una evaluación sensorial, y de esta manera se determinó cual de las tres formulaciones obtuvo una mayor aceptación.

Cuadro 3.1 Formulación de aderezo de aguacate

	Concentración [%]
Aguacate	47.0
Crema	25.0
Lecitina de soya	2.5
Cilantro	2.0
Limón en polvo	1.5
Ajo en polvo	1.0
Sal	0.8
Glutamato monosódico	0.2
* Agua	20.0
* Leche	
* Vinagre	

En la figura 3.2 se presenta el diagrama proceso de aderezo de aguacate, en el cual se especifican las condiciones de operación que se siguieron para la elaboración de las diferentes formulaciones, donde los ingredientes que están marcados con un * en el cuadro 3.1, representan la variante que se dio para cada uno de los tres diferentes aderezos de aguacate.

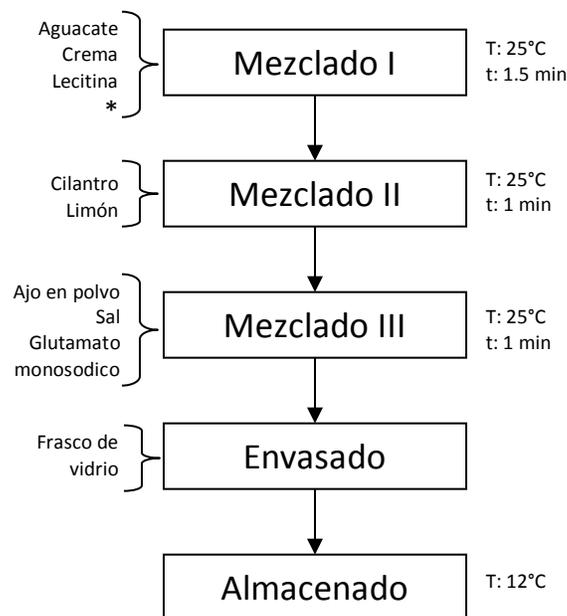


Figura 3.2 Diagrama de proceso de aderezo de aguacate

Descripción del diagrama de proceso

Mezclado I: el mezclado I se realizó en un homogeneizador, en el vaso del homogeneizador se agregó aguacate y crema, se mezcló por 0.5 min, posteriormente se agregó poco a poco, el ingrediente que vario según la formulación (agua, leche y vinagre) siguiendo el mezclado, se agregó por último la lecitina de soya; una vez incorporados todos los ingredientes se homogenizó por un periodo de 1min, y se obtuvo una pasta homogénea.

Mezclado II: en la pasta obtenida en el mezclado I, se agregó cilantro y limón, y se homogenizó por un minuto.

Mezclado III: en la pasta que contuvo cilantro y limón se agregó por último, ajo en polvo, sal y glutamato monosódico, se mezcló por un periodo de 1min, obteniendo de ésta manera el aderezo de aguacate.

Envasado: el envasado se realizó en frascos de vidrio estériles, los cuales fueron llenados hasta el tope, con la finalidad de no dejar espacios con aire, y se taparon los frascos.

Almacenado: el almacenamiento se realizó en refrigeración (T: 5-6°C, t: nueve semanas).

3.2.2 Actividad preliminar 2. Evaluación sensorial

Se realizó una evaluación sensorial de las diferentes formulaciones de aderezo de aguacate, mediante un análisis descriptivo el cual estuvo basado en una calificación por medio de escala de intervalo, con la finalidad de seleccionar la formulación de aderezo de aguacate con mayor aceptación y ser utilizada en el posterior estudio. Los jueces que llevaron a cabo la evaluación sensorial eran 15 estudiantes de 20-23 años de edad del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan de la UNAM.

Las muestras a evaluar fueron los diferentes aderezos que se realizaron.

- a) Aderezo de aguacate con agua
- b) Aderezo de aguacate con leche
- c) Aderezo de aguacate con vinagre

En la figura 3.3 se muestran los diferentes tipos de aderezo que se utilizaron para la realización de la prueba sensorial descriptiva.



Aderezo de aguacate
con agua

Aderezo de aguacate
con leche

Aderezo de aguacate
con vinagre

Figura 3.3 Tipos de aderezo de aguacate para evaluación sensorial

El cuadro 3.2 muestra los parámetros que se evaluaron en la prueba sensorial para las diferentes preparaciones de aderezo de aguacate, utilizando una escala de intervalo, donde el panelista marcó el punto que mejor reflejó la muestra.





Cuadro 3.2 Parámetros a evaluar en la prueba sensorial

Parámetro a evaluar	Escala
Sabor de aguacate	Débil – Agradable – Fuerte
Sabor ácido	Débil – Agradable – Fuerte
Sabor salado	Débil – Agradable – Fuerte
Color de aderezo	Débil – Agradable – Fuerte
Olor de aderezo	Débil – Agradable – Fuerte
Textura	Cremoso – Agradable – Débil
¿Cuál de las muestras te gusto más?	a. Aderezo de aguacate con agua b. Aderezo de aguacate con leche c. Aderezo de aguacate con vinagre

3.3 Desarrollo metodológico

3.3.1 Objetivo particular 1

3.3.1.1 Establecer las condiciones de tratamiento térmico para la inactivación de la polifenol oxidasa (PPO) y eliminación de la carga microbiana en aderezo de aguacate

Material y equipo

- Aderezo de aguacate
- Baño maría de agua caliente
- Baño maría de agua fría (5°C)
- Termómetro (graduación -10°C a 120°C)
- Cronómetro
- Tubos de ensayo con tapas

Variables

- Variable independiente: Temperatura y tiempo de calentamiento
- Variable dependiente: Inactivación de la enzima polifenol oxidasa y eliminación de carga microbiana
- Variable de respuesta: Vida útil del producto

Niveles de variación

Cuadro 3.3 Niveles de variación

Temperatura [°C]	Tiempo [min]
65	15
75	13
85	10
*Interacción (total 9)	



Parámetros constantes

- Temperatura de enfriamiento
- Tiempo de enfriamiento

Métodos estadísticos aplicados

- Media (Promedio)
- Variación estándar
- Coeficiente de variación

Procedimiento

Se aplicó a un aderezo de aguacate un tratamiento térmico a diferentes condiciones de operación, las cuales se establecieron en base a estudios realizados anteriormente para la inhibición de la PPO tanto en aguacate como en otras frutas (Ortiz y col, 2003; Gasull y col, 2006; Covarrubias, 1984).

Actividad 1 Preparación de aderezo de aguacate

Se preparó un aderezo de aguacate con la formulación que presentó la mayor aceptación en la evaluación sensorial, siguiendo el diagrama de proceso mostrado anteriormente en la actividad previa número 1.

Actividad 2 Preparación del medio de calentamiento

El medio de calentamiento se llevó a cabo con un baño maría, hasta llegar a una temperatura de $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, para el primer nivel de variación.

Actividad 3 Preparación del medio de enfriamiento

Se preparó un baño maría de agua fría, agua con hielos, hasta llegar a una temperatura de 5°C .

Actividad 4 Distribución de la muestra

Se colocaron 10mL de aderezo de aguacate en cada uno de los 9 tubos de ensayo con tapas, y se identificaron, cada tubo con las condiciones de tratamiento térmico, indicadas anteriormente en los niveles de variación.



Actividad 5 Aplicación de tratamiento térmico

1. Se colocó el primer tubo con aderezo de aguacate, en el interior del baño maría de agua caliente el cual se encontraba a 70°C, con una varilla de vidrio se agitó el aderezo de aguacate para que el calentamiento fuera homogéneo, una vez que alcanzó la temperatura de 65°C se mantuvo con agitación en el interior del baño por un período de 10 min.
2. Una vez transcurrido el tiempo establecido, se sacó el tubo del medio de calentamiento y se sumergió en el baño maría de agua fría el cual se encontraba a 5°C, por un periodo de 10min. Posteriormente se sacó del medio de enfriamiento.
3. El tubo con aderezo tratado térmicamente, se colocó en una gradilla hasta alcanzar la temperatura ambiente (25°C).

Se aplicó el tratamiento térmico a cada una de las muestras con sus respectivas condiciones, siguiendo el procedimiento de la *actividad 5*.

3.3.1.2 Determinación de la PPO en aderezo de aguacate tratado térmicamente

Material y equipo

- Espectrofotómetro Baush and Lomb
- Estufa
- Agitador de vidrio
- Pipetas (10mL, 5mL, 1mL)
- Pro pipeta
- Vaso de precipitados 50mL
- Matraz erlenmeyer
- Embudo
- Papel filtro

Reactivos

- Acetona fría (grado analítico)
- Buffer fosfato pH 7
- Catecol 0.02 M



Parámetros estadísticos aplicados

Los métodos de medición se realizaron por triplicado, los parámetros estadísticos aplicados fueron los siguientes:

- Promedio
- Variación estándar
- Coeficiente de variación

Procedimiento

La determinación de la PPO se realizó en cada una de las muestras tratadas térmicamente, con la finalidad de establecer que condiciones del tratamiento térmico eran las más apropiadas para inactivar la enzima, y con ello se fijaron las condiciones de pasteurización en las que se llevó a cabo la inactivación de la PPO, las cuales se usaron posteriormente en un intercambiador de calor de superficie raspada.

La determinación de la PPO se llevó a cabo en base a estudios realizados anteriormente, por lo cual se llevó a cabo siguiendo el procedimiento de Gómez (2001) y Cruz (1999).

Actividad 1 Preparación de solución buffer de fosfato pH 7.

Actividad 2 Solución de catecol 0.02M (sustrato para la PPO), ver anexo 1.

Actividad 3 Obtención de extracto enzimático

1. Se pesaron 20g de muestra en un vaso de precipitados de 50mL y se agregaron 30mL de acetona fría (T: 4°C), mezclándose por un periodo de 5min.
2. Se filtró el homogenizado sobre papel filtro y se recuperó el líquido filtrado en el frasco para desechos.
3. La torta encontrada en el papel filtro, se homogeneizó nuevamente con 25mL de acetona fría por un periodo de 5min.
4. Se filtró el homogenizado sobre papel filtro, y se recuperó el líquido del filtrado en el frasco para desechos.
5. Se dejó secar el precipitado o polvo cetónico en la estufa por 1h a 50°C.

Actividad 4 Solución y activación de la enzima PPO contenida en el extracto enzimático

1. Se disolvieron 0.8g del extracto enzimático en 40mL de buffer fosfato pH 7 (0.05M).
2. Se dejó en refrigeración por 24h.

Actividad 5 Determinación de la actividad enzimática.



Figura 3.4 Espectrofotómetro Baush and Lomb

A=Absorbancia
B=Transmitancia
C= Longitud de Onda
D= Compartimiento para la celda

1. Se colocaron en una celda de cuarzo:
 - 2.5mL catecol 0.02M
 - 1.3mL buffer fosfato pH 7
 - 0.2mL de la muestra refrigerada en la actividad 4
2. Para la calibración del espectrofotómetro se colocó la celda y se midió el cambio de absorbancia a 410nm, se realizaron las mediciones cada 15 segundos por un período de 4min.
3. Se graficó tiempo vs absorbancia para posteriormente obtener el % de inhibición (Muñoz y col, 2007)

Se repitió el procedimiento de la *actividad 3.3.1.2* para la determinación de la actividad de la PPO, en cada una de las muestras tratadas térmicamente.



3.3.1.3 Determinación de la carga microbiana en aderezo de aguacate tratado térmicamente

Material y equipo

- Mecheros bunsen
- Autoclave
- Matraz erlenmeyer
- Cajas petri estériles (90 x 15 mm)
- Tubos de ensayo con tapón estériles
- Gradilla
- Pipetas de 10mL estériles
- Puntas de micropipeta estériles
- Micropipeta de 1-100 μ l

Soluciones

- Agua salina 0.85%
- Agua destilada

Agar microbiológico

- Papadextrosa
- Rojo-violeta-bilis
- Cuenta estándar

Parámetros estadísticos aplicados

Los métodos de medición se realizaron por triplicado, los parámetros estadísticos fueron los siguientes:

- Promedio
- Variación estándar
- Coeficiente de variación

Procedimiento

Se realizaron pruebas microbiológicas a cada uno de los aderezos tratados térmicamente a diferentes condiciones, con el fin de determinar a que condiciones de tratamiento térmico fueron más apropiadas para la eliminación de la carga bacteriana, las cuales se aplicaron posteriormente en un intercambiado de calor de superficie raspada.



Las pruebas microbiológicas se realizaron en base a lo establecido en la normatividad oficial mexicana, en el cuadro 3.4 se especifican las normas empleadas para el desarrollo del proyecto.

Cuadro 3.4 Normas para realización de pruebas microbiológicas

Prueba microbiológica	Norma
Preparación de la muestra	NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
Hongos y levaduras	NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
Coliformes totales	NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
Mesófilos aerobios	NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

Actividad 1 Preparación de agar microbiológico (ver anexo 2), en el cuadro 3.5 se muestran los agares que se utilizaron para la determinación de la carga microbiana.

Cuadro 3.5 Agar microbiológico

Agar microbiológico	Cantidad
Papadextrosa	39.0 g – 1000ml
Rojo-violeta-bilis	42.5 g – 1000ml
Cuenta estándar	23.5 g – 1000ml

En la figura 3.5 se muestran los agares que se utilizaron en las pruebas microbiológicas.

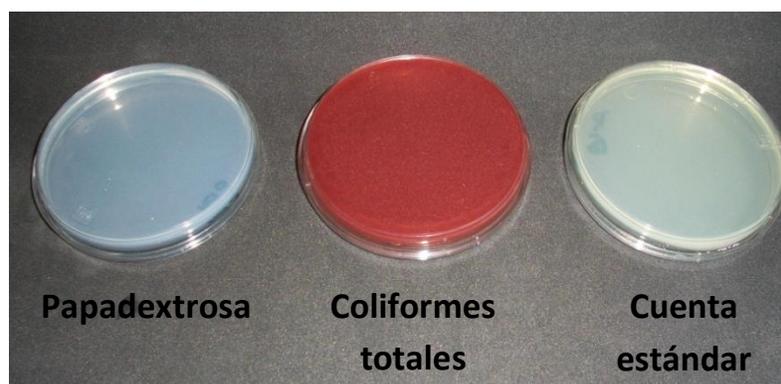


Figura 3.5 Tipos de agares



Actividad 2 Disolución del aderezo

1. Se preparó el área estéril, ver anexo 1.
2. Se colocaron en una gradilla 3 tubos de ensayo con tapón estériles, donde se realizaron 3 disoluciones.
3. A cada tubo se le agregaron 9mL de agua salina.
4. En el primer tubo se colocó 1g de aderezo de aguacate, se tapó el tubo y se agitó.
5. Del tubo de la mezcla 1 se tomó 1mL y se colocó en el tubo 2 y así sucesivamente hasta obtener las disoluciones que se requirieron, como se muestra en la figura 3.6.

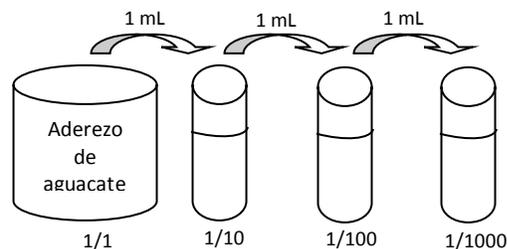


Figura 3.6 Disolución de la muestra

Actividad 3 Inoculación de aderezo

1. En una caja petri con medio de cultivo se agregaron 100µL de la disolución 3 (1/1000) con una micropipeta.
2. Se dispersó la disolución en la caja petri con una varilla de vidrio.
3. Se voltearon las cajas y se colocaron en la incubadora a la temperatura adecuada, dependiendo del microorganismo que se deseó estudiar, en el cuadro 3.6 se presentan las condiciones de incubación para cada microorganismo.

Cuadro 3.6 Condiciones de incubación

Microorganismo	Condiciones
Mohos y levaduras	25°C + 1°C – 3 días
Coliformes totales	35°C – 24h – 2 días
Mesofilos aerobios	35°C – 48h

4. Una vez transcurrido el tiempo establecido se contaron las colonias que se desarrollaron en cada caja.

Se repitió el procedimiento de la *actividad 1, 2 y 3* para determinar la carga microbiológica en cada una de las muestras tratadas térmicamente.



3.3.2 Objetivo particular 2

3.3.2.1 Aplicación de tratamiento térmico en un intercambiador de calor de superficie raspada en aderezo de aguacate, empleando las condiciones establecidas

Material y equipo

- Intercambiador de superficie raspada
- Bomba peristáltica
- Aderezo de aguacate
- Frascos de vidrio estériles

Soluciones

- Agua potable
- Sanitizante pH 4

Procedimiento

Actividad 1 Preparación de aderezo de aguacate

Se preparó 6000 mL de aderezo de aguacate en área estéril como se observa en la figura 3.7, se siguió el procedimiento y la formulación de la *actividad previa 1*.



Figura 3.7 Preparación de aderezo en área estéril

Actividad 2 Lavado del intercambiador de calor de superficie raspada (ISR)

1. Se desmontaron las piezas que se pudieron quitar del ISR y se lavaron con agua y jabón. La figura 3.8 muestra las aspas del intercambiador de superficie raspada.



Figura 3.8 Partes internas del ISR

2. Se armó el ISR, montando nuevamente las piezas que se quitaron en el paso 1. En la figura 3.9 se observa el tubo de enfriamiento del ISR.



Figura 3.9 Tubo de enfriamiento de ISR

3. Se hizo pasar agua limpia durante 5 minutos y se hicieron girar los cilindros de calentamiento y enfriamiento a 50rpm.

Actividad 3 Sanitización del ISR. Se hizo pasar el sanitizante durante 5 minutos y se hicieron girar los cilindros de calentamiento y enfriamiento a 50rpm.

Actividad 4 Aplicación de tratamiento térmico a aderezo de aguacate

La metodología que se empleó para la utilización del ISR es la propuesta por Zambrano, 2005.

Procedimiento del manejo del ISR

1. Se conectó la bomba peristáltica al ISR.



Bomba peristáltica

Figura 3.10 Intercambiador de calor de Superficie Raspada

2. Se encendió el equipo y se mantuvo constante la presión de vapor a 0.3kg/cm^2 (manométrica), en el cilindro de calentamiento y el flujo volumétrico del agua de enfriamiento constante de 2.0l/min en el cilindro de enfriamiento. Se esperó a que se estabilizaran las condiciones de proceso (temperatura de calentamiento y temperatura de enfriamiento).
3. Se encendió el rotor del cilindro de calentamiento a 50rpm. Se encendió el rotor del cilindro de enfriamiento a 50rpm.
4. Se colocaron bolsas estériles al final de la tubería de salida, para que el producto tratado térmicamente, no se contaminara a la salida del equipo.
5. En área estéril, se colocaron 9 frascos estériles, y se llenaron con aderezo pasteurizado y se taparon, ya que estos sirvieron para evaluar la vida útil del producto.

3.3.2.2 Determinación de PPO en aderezo de aguacate tratado térmicamente

Para la determinación de la polifenol oxidasa se siguió la metodología establecida en la actividad 3.3.1.2.

3.3.2.3 Determinación de la carga microbiana en aderezo de aguacate tratado térmicamente

Para la determinación de la polifenol oxidasa se siguió la metodología establecida en la actividad 3.3.13.



3.3.3 Objetivo particular 3

Para determinar la vida útil del aderezo de aguacate tratado térmicamente en un intercambiador de calor de superficie raspada, se realizaron pruebas semanalmente, a las mismas condiciones, por un periodo de 9 semanas; mismas que se aplicaron a un aderezo sin tratamiento térmico, esto con el fin de ser comparadas posteriormente entre ellas. Las siguientes pruebas se aplicaron para los dos tipos de aderezos (con y sin tratamiento térmico):

- Determinación de la polifenol oxidasa.
- Determinación de la carga microbiana.
- Determinación de propiedades fisicoquímicas.

3.3.3.1 Determinación de la PPO en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico

Se siguió el mismo procedimiento propuesto en la *actividad 3.3.1.2*, para la determinación de la PPO en el aderezo tratado térmicamente en el ISR y en aderezo de aguacate sin tratamiento térmico.

Los datos obtenidos se registraron en una tabla como la siguiente, esto se llevó a cabo semanalmente.

Cuadro 3.7 Registro de absorbancia

Tiempo [s]	Absorbancia	
	Aderezo con tratamiento térmico	Aderezo sin tratamiento térmico
0.0		
0.15		
0.30		
0.45		
1.0		
1.15		
1.30		
1.45		
2.0		
2.15		
2.30		
2.45		
3.0		
3.15		
3.40		
3.45		
4.0		



3.3.3.2 Determinación de la carga microbiana en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico

Se siguió el mismo procedimiento propuesto en la *actividad 3.3.1.3*, para la determinación de la PPO en el aderezo tratado térmicamente en el ISR y en aderezo de aguacate sin tratamiento térmico. Se registró el número de colonias en una tabla como la que se muestra en el cuadro 3.8.

Cuadro 3.8 Registro de crecimiento de microorganismos

	Hongos y levaduras	Coliformes totales	Mesofilos aerobios
Aderezo con tratamiento térmico			
Aderezo sin tratamiento térmico			

3.3.3.3 Determinación de propiedades fisicoquímicas en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico

- **Determinación de pH**

Materiales y equipo

- Potenciómetro VWR Scientific (modelo 8015)
- Agua destilada
- Buffer pH 4 y pH 7

Métodos estadísticos aplicados

La medición se realizó por triplicado, los parámetros estadísticos fueron los siguientes:

- Promedio
- Variación estándar
- Coeficiente de variación

Procedimiento

- Encendido del equipo

El equipo se enciende conectándolo a la fuente eléctrica. Posteriormente se esperan unos segundos para que el potenciómetro reconozca su configuración e indique el pH de buffer en el que se encuentra introducido el electrodo.

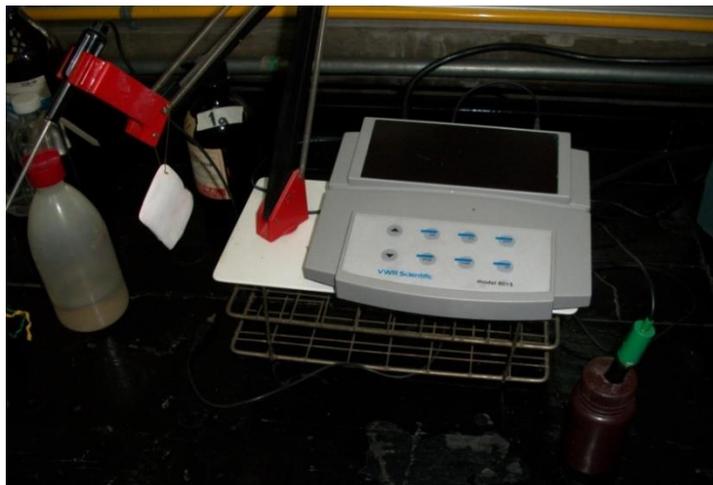


Figura 3.11 Potenciómetro VWR Scientific

- Calibración del equipo
 1. Prender el equipo.
 2. Secar el electrodo.
 3. Sumergir el electrodo en buffer a pH:4, esperar hasta que aparezca “4” y “redy”.
 4. Oprimimos calibrar.
 5. Sumergir el electrodo en buffer a pH:7, esperar hasta que aparezca “7” y “redy”.
 6. Oprimimos calibrar.
 7. Enjuagar con agua destilada, secar.

- Toma de lectura
 1. Se enjuagó el electrodo con agua destilada. Se secó.
 2. Se introdujo la mitad del electrodo en la muestra.
 3. Se esperó a que en la pantalla apareciera el “ready”, una vez que apareció el letrero se tomó la lectura.
 4. Se enjuagó bien el electrodo con agua destilada y se limpió, hasta quedar limpio.
 5. Se apagó el equipo.
 6. Se registraron los datos en una tabla como la que a continuación se presenta:

Cuadro 3.9 Registro de pH

	pH
Aderezo con tratamiento térmico	
Aderezo sin tratamiento térmico	



- **Determinación de estabilidad**

Materiales y equipo

- Centrifuga clínica
- Tubos para centrifuga graduados
- Balanza granataria
- Espátula

Parámetros constantes

- Velocidad: 2500 rpm
- Volumen de la muestra: 3mL
- Temperatura de la muestra: 23 – 25°C

Métodos estadísticos aplicados

Las mediciones se realizaron por triplicado, los parámetros estadísticos fueron los siguientes:

- Promedio
- Variación estándar
- Coeficiente de variación

Procedimiento

- Muestreo

Se colocaron 3mL de muestra en cada tubo con ayuda de una espátula, se utilizó una cantidad pequeña debido a que en 3mL se podía observar bien el comportamiento de las muestras y de esta manera no se desperdiciaba muestra.

- Realización de la prueba

Se colocaron los tubos dentro de la centrifuga, se cerró y se conectó a la fuente de electricidad. Posteriormente se subió la velocidad hasta llegar a la número 4 que corresponde a 2500rpm. Transcurridos 10 minutos se tomó la primera medición, por lo que se tuvo que apagar el equipo para lo cual se siguieron los siguientes pasos:

- Se bajó la velocidad hasta llegar a “OFF”.
- Se esperó a que se detuviera la centrifuga (no se debe abrir si están girando los tubos).
- Se abrió la tapa y se sacaron los tubos para tomar su medición.



Figura 3.12 Centrifuga clínica

Se repitió la actividad dos veces más para tener mediciones a los 10, 20 y 30 minutos y sus valores se registraron en una tabla como la que se muestra a continuación:

Cuadro 3.10 Registro de estabilidad

Fase acuosa			
	10 min	20 min	30 min
Aderezo con tratamiento térmico			
Aderezo sin tratamiento térmico			
Fase grasosa			
	10 min	20 min	30 min
Aderezo con tratamiento térmico			
Aderezo sin tratamiento térmico			

Determinación de color

Materiales y equipo

- Colorímetro Minolta
- Caja petri de vidrio



Parámetros estadísticos aplicados

Las mediciones se realizaron por triplicado, los parámetros estadísticos fueron los siguientes:

- Promedio
- Variación estándar
- Coeficiente de variación

Procedimiento

- Colocación de la muestra

1. En una caja petri de vidrio se colocó aderezo de aguacate hasta la mitad de la caja.

- Realización de la prueba

En la figura 3.13 se muestra el colorímetro Minolta que se utilizó para la realización de las pruebas de color.

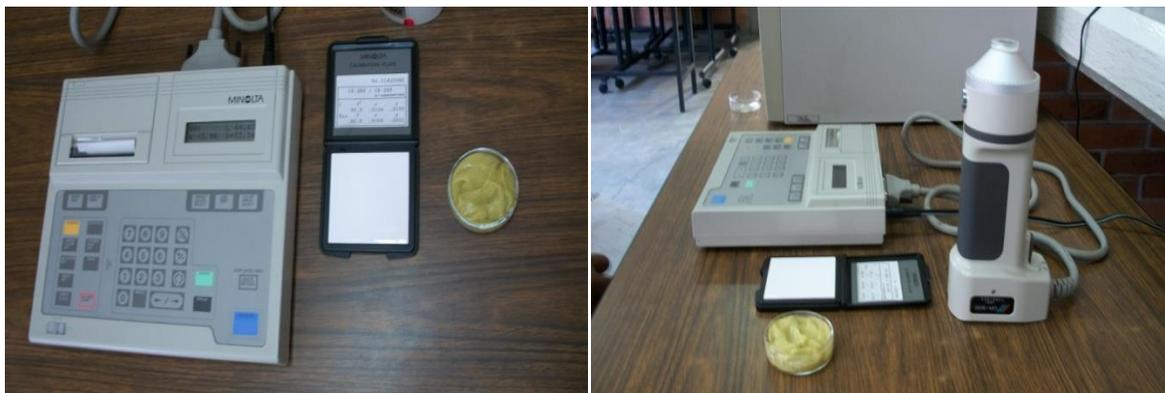


Figura 3.13 Colorímetro Minolta

Se colocó el sensor sobre la caja petri con la muestra, de manera que el vidrio del sensor quede sobre la superficie la muestra. Posteriormente se oprimió el botón superior para iniciar la prueba, se retiró el sensor y se tomó nota de los datos obtenidos y se registraron en una tabla como la siguiente:

Cuadro 3.11 Registro parámetros de color

	L	a	b
Aderezo con tratamiento térmico			
Aderezo sin tratamiento térmico			



Capítulo IV

Resultados y discusión



4.1 Actividades preliminares

4.1.1 Formulación de aderezo de aguacate

Como se mencionó en la actividad previa 1, se elaboró un aderezo de aguacate tradicional para ajustar formulación y condiciones de proceso. El aderezo de aguacate tradicional presentó sinéresis al poco tiempo de haberse elaborado, por lo cual se le realizó una prueba de estabilidad a la muestra, demostrando que la separación de fases era muy grande.

Por lo que se decidió utilizar lecitina de soya, siendo un emulsionante natural, el cual ayuda a la estabilidad del aderezo de aguacate, como ya se mencionó anteriormente en marco teórico.

4.1.2 Evaluación sensorial

Como se mencionó en la *actividad previa 2* se realizó un análisis sensorial descriptivo, con la finalidad de seleccionar una de las tres formulaciones diferentes de aderezo de aguacate, los resultados obtenidos en la prueba sensorial se muestran en el cuadro 4.1.

Cuadro 4.1 Porcentaje de aceptación de aderezos de aguacate

Parámetro a evaluar	% de aceptación								
	Agua			Leche			Vinagre		
	Débil	Agra-dable	Fuerte	Débil	Agra-dable	Fuerte	Débil	Agra-dable	Fuerte
Sabor de aguacate	44.5	33.3	22.2	66.6	0	33.4	0	88.8	11.2
Sabor ácido	11.2	55.5	33.3	0	66.6	44.4	0	0	100
Sabor salado	77.7	22.3	0	77.8	22.2	0	66.6	33.4	0
Color del aderezo	0	55.5	44.5	100	0	0	77.7	22.3	0
Olor del aderezo	0	22.3	77.7	0	66.7	33.3	66.7	33.3	0
Textura del aderezo	22.3	77.7	0	11.2	44.4	44.4	44.5	33.3	22.2
¿Cuál de las muestras gusto más?	88.2			22.2			0		

Se observa que la formulación de aderezo de aguacate elaborado con agua, presentó una mayor aceptación (88.2 %), en comparación con las otras formulaciones (leche 22.2% y vinagre 0%), presentando éste aderezo los mejores parámetros sensoriales, ya que en cuanto al sabor ácido, color y textura del aderezo, son agradables al gusto de los panelistas. Se decidió trabajar con la formulación elaborada con agua, para la realización del proyecto.

4.2 Objetivos particulares

4.2.1 Objetivo particular 1

4.2.1.1 Condiciones de tratamiento térmico para la inactivación de la PPO y eliminación de la carga microbiana en aderezo de aguacate

Una vez establecida la formulación de aderezo de aguacate que tuvo una mayor aceptación, fue con la que se trabajó para la aplicación del tratamiento térmico. Con la finalidad de obtener una temperatura y un tiempo de calentamiento para inactivación de la polifenol oxidasa en aderezo de aguacate, se evaluaron diferentes tiempos y temperaturas de calentamiento basado en estudios realizados con anterioridad para establecer los niveles de variación (Ortiz y col, 2003; Gasull y col, 2006; Covarrubias, 1984).

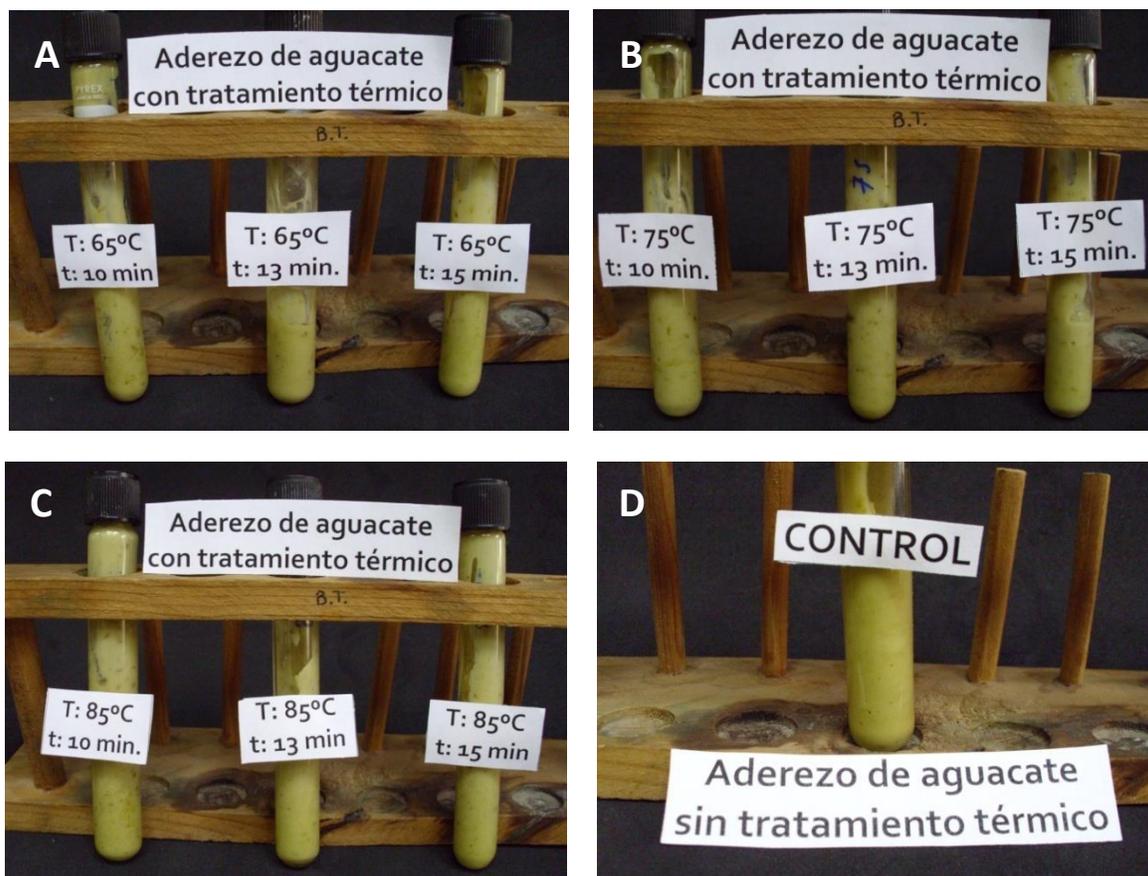


Figura 4.1 A: Aderezo de aguacate con tratamiento térmico a 65°C. B: Aderezo de aguacate con tratamiento térmico a 75°C. C: Aderezo de aguacate con tratamiento térmico a 85°C. D: Aderezo de aguacate control.



En la figura 4.1 se muestran los diferentes aderezos de aguacate tratados térmicamente a diferentes condiciones, y como se observa en comparación con el aderezo que no presentó tratamiento térmico (control), no hay una diferencia visual en cuanto al color, por lo cual el tratamiento térmico no afectó el color del aderezo de aguacate, siendo un parámetro sensorial importante para la calidad del producto.

4.2.1.2 Polifenol oxidasa en aderezo de aguacate tratado térmicamente

Para establecer las condiciones a las que se inactivó la enzima, se determinó la actividad de la PPO mediante la medición de la absorbancia en un Espectrofotómetro Baush and Lomb, en aderezo de aguacate tratado térmicamente a diferentes condiciones (Cruz, 1998. Gómez, 2001).

Cuadro 4.2 Resultados de absorbancia en aderezo de aguacate a diferentes condiciones de tratamiento térmico

Absorbancia en aderezo de aguacate a 410nm										
Tiempo [s]	Tratamiento térmico a 65°C			Tratamiento térmico a 75°C			Tratamiento térmico a 85°C			Control
	10 min	13 min	15 min	10 min	13 min	15 min	10 min	13 min	15 min	
0.00	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020
0.15	0.020	0.028	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.025
0.30	0.022	0.030	0.024	0.021	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.030
0.45	0.025	0.030	0.025	0.022	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.035
1.00	0.025	0.030	0.027	0.022	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.040
1.15	0.027	0.035	0.027	0.022	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.045
1.30	0.030	0.035	0.030	0.025	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.050
1.45	0.032	0.040	0.030	0.025	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.055
2.00	0.035	0.040	0.030	0.027	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.060
2.15	0.040	0.040	0.030	0.027	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.065
2.30	0.045	0.040	0.030	0.028	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.066
2.45	0.050	0.040	0.032	0.030	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.070
3.00	0.050	0.040	0.032	0.030	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.080
3.15	0.050	0.040	0.032	0.030	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.085
3.30	0.050	0.040	0.032	0.030	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.090
4.00	0.050	0.040	0.032	0.030	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.090



Los resultados se presentan en el cuadro 4.2, donde se encuentra la absorbancia para cada una de los aderezos de aguacate tratados térmicamente bajo diferentes condiciones, así como el control (aderezo de aguacate sin tratamiento térmico). Los datos presentados de absorbancia, son el resultado del promedio de tres valores tomados durante la experimentación, siendo confiables los datos ya que el coeficiente de variación no fue mayor al 10%.

La absorbancia para las muestras tratadas térmicamente a 65°C en diferentes tiempos, se observa que la absorbancia aumentó conforme pasó el tiempo de manera lenta en comparación con el aderezo que no presentó tratamiento (control), donde la absorbancia aumentó de una manera mayor conforme pasó el tiempo, esto debido a que la enzima polifenol oxidasa no fue inactivada.

En el aderezo de aguacate tratado térmicamente a 75°C por 10min se notó que existe una disminución de la absorbancia a comparación del aderezo tratado a 65°C en los diferentes tiempos. Para los aderezos tratados a 75°C a 13 y 15min la absorbancia no presentó ningún aumento, al igual que el aderezo tratado a 85°C en sus tres diferentes tiempos, debido a que en estas condiciones la enzima polifenol oxidasa se inactivó, donde se presentó un valor de absorbancia de 0.02 para estas condiciones.

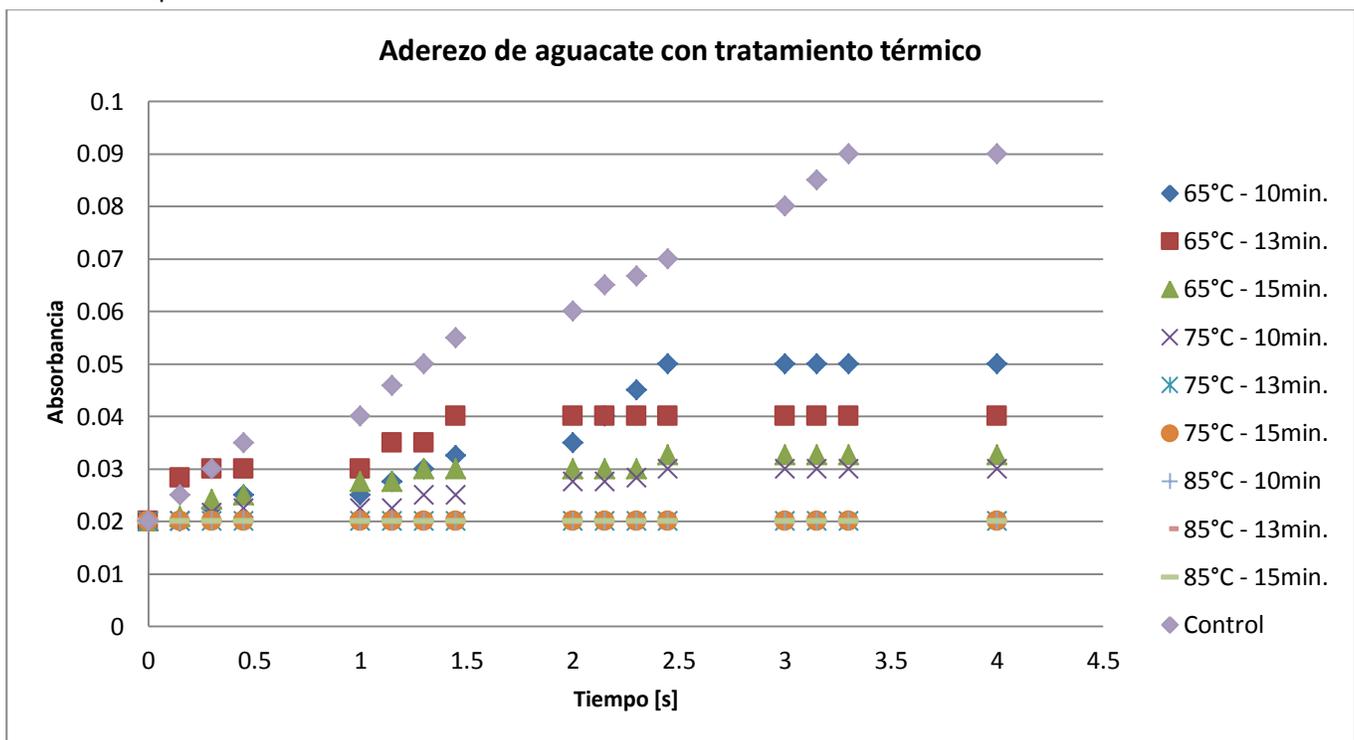


Figura 4.2 Cinética de reacción del extracto enzimático del aderezo de aguacate tratado térmicamente a diferentes condiciones de tratamiento térmico



En la figura 4.2 se observa la cinética de reacción de los extractos enzimáticos de aderezos de aguacate tratados térmicamente a diferentes condiciones de tratamiento, en comparación con un control, donde los aderezos tratados con las condiciones más bajas (a 65°C en tres tiempos diferentes y a 75°C a 10 min), presentaron una cinética de reacción menor que el control, existiendo una relación inversamente proporcional, al aumentar el tiempo de tratamiento, disminuyó a cinética de reacción del extracto enzimático conforme aumentó las condiciones de tratamiento. A diferencia de los aderezos tratados con las condiciones más altas (75°C a 13 y 15 min; 85°C a 10, 13 y 15 min), presentaron una inactivación de la enzima PPO en el aderezo de aguacate, esto muestra que el tratamiento térmico inactivó la PPO, presentando una cinética de reacción nula.

Posteriormente se obtuvieron las pendientes de la figura 4.2, ya que estas indicaron la velocidad con la que actúa la PPO en el aderezo de aguacate expresada en absorbancia contra tiempo (Muñoz y col, 2007).

Cuadro 4.3 Velocidad de reacción de los aderezos tratados térmicamente

Temperatura [°C]	Tiempo de tratamiento térmico		
	10 min	13 min	15 min
65	0.273	0.129	0.113
75	0.117	0	0
85	0	0	0
Control	0.362		

En el cuadro 4.3 se muestran las pendientes de la cinética enzimática de los aderezos de aguacate, se observa que conforme aumentó el tratamiento térmico, disminuyó la velocidad de reacción de la PPO, ya que el aderezo control presentó una velocidad de reacción de 0.362 y un aderezo tratado a 65°C por 10min presentó una velocidad de 0.273, siendo menor la velocidad del aderezo tratado térmicamente. Aunque disminuyó la velocidad de la actividad de la enzima, siguió presente. Al llegar a 75°C a 13 min, la enzima quedó inactivada, ya que presentó una velocidad de reacción de 0, siendo ésta nula en comparación del aderezo control de 0.362, sucediendo lo mismo para las demás condiciones de tratamiento térmico, donde la velocidad de reacción es de 0.

Se obtuvieron los porcentajes de inhibición de la PPO con las pendientes de los aderezos de aguacate a diferentes condiciones de tratamiento térmico, aplicando la siguiente ecuación (Muñoz y col, 2007):

$$\% inh = \left(1 - \frac{mx}{mb}\right) (100) \quad \text{Ec. (1)}$$



Donde:

mx = Pendiente de la recta trazada para cada aderezo tratado térmicamente a diferentes condiciones

mb = Pendiente de la recta trazada para el aderezo control

Cuadro 4.4 Porcentaje de inhibición de los aderezos tratados térmicamente

Temperatura [°C]	Tiempo de tratamiento térmico		
	10 min	13 min	15 min
65	24.58 %	64.36 %	68.78 %
75	67.67 %	100 %	100 %
85	100 %	100 %	100 %

En el cuadro 4.4 se muestra el porcentaje de inactivación del enzima PPO en los aderezos de aguacate, se observa que conforme aumentaron las condiciones de tratamiento térmico aumentó el porcentaje de inactivación. Es importante referir que el aderezo de aguacate tratado a 75°C por 13 y 15 min, al igual que los tratados a 85°C en los tres tiempos diferentes de tratamiento, presentaron un porcentaje de inhibición del 100%, por lo tanto a éstas condiciones la enzima polifenol oxidasa quedó inactivada.

Se decidió trabajar a 75°C por 13min posteriormente, a éstas condiciones de tratamiento térmico la enzima PPO quedó inactivada, teniendo un porcentaje de inhibición del 100%, no siendo un tiempo muy largo de exposición a la temperatura, los ingredientes se verían menos afectados.

4.2.1.3 Carga microbiana en aderezo de aguacate tratado térmicamente

Otro parámetro que sirvió para establecer las condiciones de tratamiento térmico, fue la determinación de la carga microbiana en los aderezos de aguacate tratados térmicamente a diferentes condiciones. En el cuadro 4.5 se muestran los resultados de la cuenta en placa de hongos y levaduras, coliformes totales y mesofilos aerobios, para los aderezos tratados a diferentes condiciones.

Cuadro 4.5 Carga microbiana en aderezo de aguacate a diferentes condiciones de tratamiento térmico

Temperatura [°C]	Hongos y levaduras			Coliformes totales			Mesofilos aerobios		
	10 min	13min	15 min	10 min	13min	15 min	10 min	13min	15 min
65	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Donde (-), significa que no hubo carga microbiana

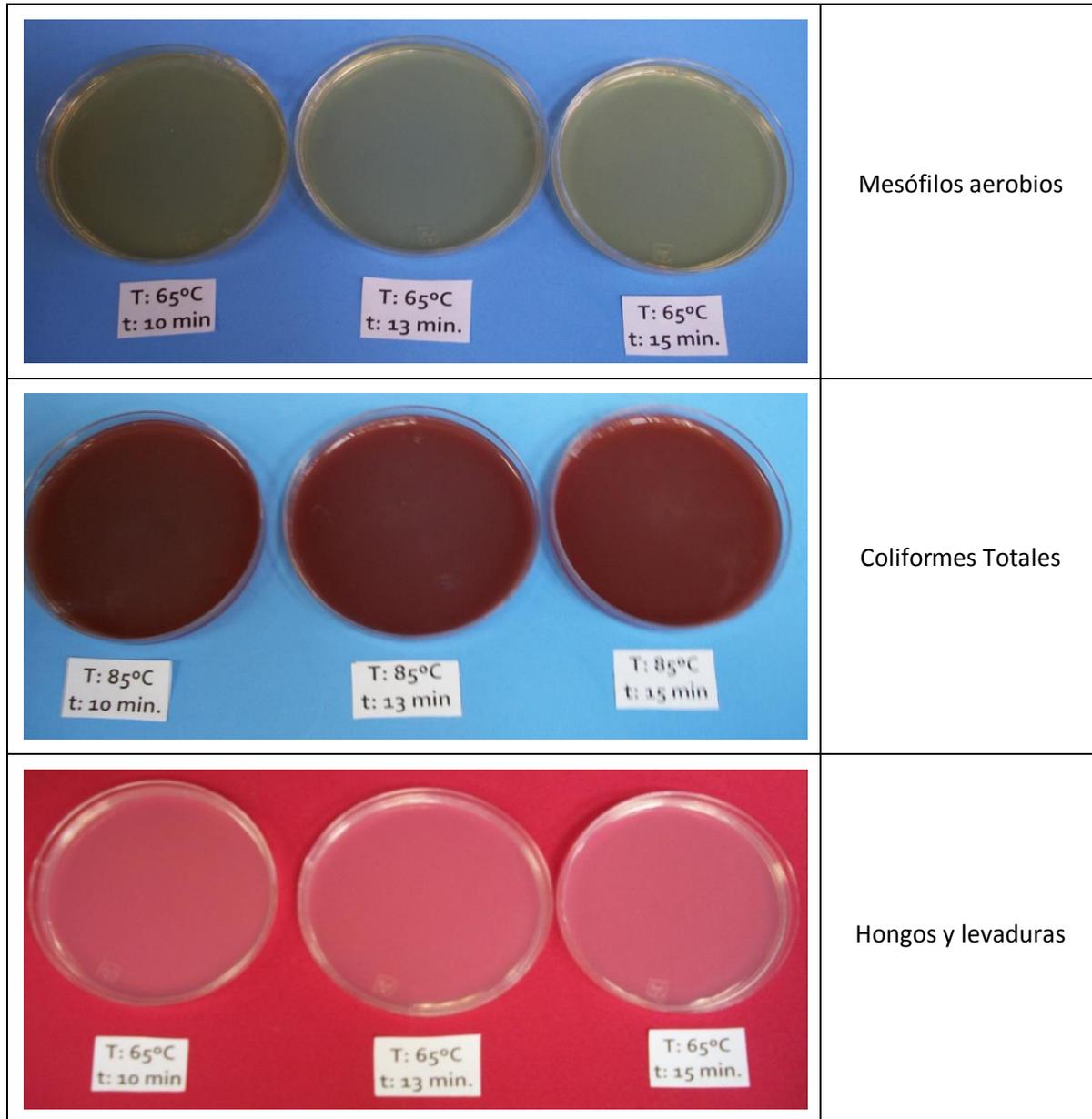


Figura 4.3 Determinación de la carga microbiana para los aderezos de aguacate tratados a diferentes temperaturas

En la figura 4.3 se muestran las fotos de la determinación de la carga de hongos y levaduras, coliformes totales y mesofilos aerobios, para los diferentes tratamientos térmicos, donde se observa que no hay presencia de colonias en ninguna de los casos.



Con los resultados obtenidos se decidió trabajar a una temperatura de 75°C a un tiempo de calentamiento de 13min, dichas condiciones se establecieron ya que en la determinación de la actividad de la PPO, se presentó una cinética de reacción de la enzima nula y no se presentó actividad microbiana.

4.2.2 Objetivo particular 2

Aplicación de tratamiento térmico en un intercambiador de calor de superficie raspada en aderezo de aguacate, empleando las condiciones establecidas

Se aplicó un tratamiento térmico a un volumen de 6000mL aderezo de aguacate en un ISR, empleando las condiciones establecidas (temperatura de calentamiento de 75°C por 13min), para su evaluación de vida útil.

4.2.2.1 PPO en aderezo de aguacate tratado térmicamente en un ISR

Aplicado el tratamiento térmico en el ISR, se determinó la actividad de la polifenol oxidasa, con el fin de corroborar la inactivación de la enzima. Se determinó ésta actividad durante 4 minutos después de haber salido del intercambiador.

En el cuadro 4.6 se observa la absorbancia para los aderezos de aguacate tratados térmicamente tanto en el laboratorio como en el ISR, indicando la absorbancia en cada uno de los casos, los cuales muestran una cinética de reacción nula, ya que no existe variación en la absorbancia, permaneciendo constante el valor inicial.

Cuadro 4.6 *Resultados de absorbancia en aderezos de aguacate*

Tiempo (seg)	Condiciones de tratamiento térmico	
	ISR	Laboratorio
0.00	0.025	0.020
15	0.025	0.020
30	0.025	0.020
45	0.025	0.020
60	0.025	0.020
1.15	0.025	0.020
1.30	0.025	0.020
1.45	0.025	0.020
2.00	0.025	0.020



2.15	0.025	0.020
2.30	0.025	0.020
2.45	0.025	0.020
3.00	0.025	0.020
3.15	0.025	0.020
3.30	0.025	0.020
4.00	0.025	0.020

4.2.2.2 Carga microbiana en aderezo de aguacate tratado térmicamente en un ISR

Cuadro 4.7 Carga microbiana en aderezos de aguacate

Condiciones de tratamiento térmico	Hongos y levaduras	Coliformes totales	Mesofilos aerobios
ISR	-	-	-
Laboratorio	-	-	-

Donde (-), significa que no hubo carga microbiana

En el cuadro 4.7 se muestran los resultados obtenidos de la determinación de la carga microbiana de los aderezos de aguacate, donde se puede observar que no se presentó actividad para el aderezo tratado térmicamente en el ISR, con dichos resultados se corrobora que sí se aplican las mismas condiciones de tratamiento (temperatura de calentamiento de 75°C durante 13min), sin importar el equipo o lugar en el que se realicen, se obtendrá una actividad nula para el producto.

4.2.3 Objetivo particular 3

4.2.3.1 PPO en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico en la evaluación de vida útil del producto

Se determinó la vida útil por un periodo de 9 semanas, en un aderezo de aguacate con tratamiento térmico y un aderezo sin tratamiento, con la finalidad de hacer una comparación entre ambos. La evaluación se realizó semanalmente bajo las mismas condiciones. Los aderezos que se utilizaron con y sin tratamiento térmico fueron almacenados en refrigeración hasta su evaluación.



En el cuadro 4.8 se encuentran los resultados de absorbancia, en las 9 semanas de almacenamiento del aderezo tratado térmicamente.

Cuadro 4.8 Resultados de absorbancia en aderezo de aguacate con tratamiento térmico en la evaluación de vida útil del producto

Tiempo [s]	Semanas de almacenamiento								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.00	0.020	0.025	0.025	0.020	0.020	0.023	0.025	0.020	0.020
0.15	0.020	0.025	0.025	0.020	0.020	0.023	0.025	0.020	0.020
0.30	0.023	0.025	0.025	0.020	0.020	0.023	0.025	0.020	0.020
0.45	0.023	0.025	0.026	0.020	0.022	0.025	0.025	0.020	0.020
1.00	0.023	0.025	0.026	0.025	0.022	0.025	0.028	0.021	0.021
1.15	0.025	0.025	0.026	0.025	0.025	0.025	0.028	0.022	0.022
1.30	0.025	0.025	0.028	0.030	0.025	0.026	0.030	0.023	0.023
1.45	0.026	0.026	0.028	0.030	0.025	0.028	0.030	0.025	0.023
2.00	0.028	0.028	0.030	0.030	0.027	0.028	0.030	0.025	0.024
2.15	0.030	0.028	0.030	0.030	0.027	0.028	0.030	0.025	0.025
2.30	0.030	0.028	0.030	0.030	0.030	0.028	0.030	0.026	0.026
2.45	0.030	0.028	0.030	0.030	0.030	0.028	0.030	0.027	0.027
3.00	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.027	0.030
3.15	0.031	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030
3.30	0.031	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030
4.00	0.031	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030

En el cuadro 4.8 se observa que el aderezo tratado térmicamente presentó una variación de absorbancia muy pequeña en sus 9 semanas de almacenamiento, ya que en 4min de medición aumentó 0.01, teniendo el mismo comportamiento en cada una de las semanas, desde la semana 1 hasta la semana 9. Por lo tanto el tratamiento térmico inactiva la enzima polifenol oxidasa, ya que con los resultados de absorbancia se demuestra que no existió actividad de ésta.

En el cuadro 4.9 se encuentran los resultados de absorbancia, del aderezo de aguacate sin tratamiento térmico, en su evaluación de actividad de la polifenol oxidasa en un periodo de 9 semanas.



Cuadro 4.9 Resultados de absorbancia en aderezo de aguacate sin tratamiento térmico (control) en la evaluación de vida útil del producto

Tiempo [s]	Semanas de almacenamiento								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.00	0.020	0.020	0.021	0.025	0.020	0.023	0.020	0.023	0.020
0.15	0.033	0.031	0.031	0.027	0.025	0.028	0.036	0.033	0.030
0.30	0.043	0.040	0.040	0.027	0.030	0.036	0.046	0.045	0.035
0.45	0.046	0.048	0.043	0.030	0.037	0.044	0.056	0.054	0.041
1.00	0.051	0.051	0.045	0.030	0.040	0.045	0.065	0.060	0.045
1.15	0.056	0.053	0.047	0.035	0.050	0.050	0.066	0.065	0.050
1.30	0.060	0.055	0.049	0.037	0.055	0.055	0.068	0.068	0.053
1.45	0.063	0.058	0.050	0.045	0.060	0.060	0.074	0.070	0.057
2.00	0.063	0.058	0.055	0.050	0.062	0.062	0.073	0.071	0.060
2.15	0.066	0.059	0.060	0.055	0.062	0.064	0.076	0.073	0.061
2.30	0.068	0.063	0.065	0.057	0.065	0.065	0.078	0.075	0.063
2.45	0.070	0.065	0.067	0.060	0.065	0.066	0.078	0.078	0.064
3.00	0.070	0.070	0.070	0.067	0.070	0.068	0.080	0.080	0.065
3.15	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.070	0.080	0.080	0.068
3.30	0.070	0.070	0.072	0.075	0.070	0.070	0.080	0.080	0.070
4.00	0.070	0.070	0.072	0.075	0.070	0.070	0.080	0.080	0.080

Como se observa en el cuadro 4.9 el aderezo control, de la semana 1 a la semana 6, presentó un aumento de absorbancia de 0.05, también se observa que de la semana 7 a la semana 8, hubo un aumento de absorbancia de 0.06, lo que indicó que conforme aumentó el tiempo de almacenamiento, aumentó la actividad de la PPO, teniendo una tendencia a alterarse el producto, por el contrario el aderezo tratado térmicamente presentó un aumento de absorbancia de 0.01 en sus nueve semanas de almacenamiento, alargando la vida útil de producto.

En la figura 4.4 se muestra la cinética enzimática de los aderezos de aguacate con y sin tratamiento térmico en la evaluación de vida útil del producto, se observa la diferencia entre ambos aderezos, ya que el aderezo con tratamiento térmico, presentó una cinética de reacción menor que el aderezo que no presentó tratamiento térmico, ya que su actividad aumentó solo 0.01 a lo largo de la prueba, se presentó el mismo comportamiento durante las 9 semanas de almacenamiento. En el aderezo control (sin tratamiento térmico) se observa que durante las primeras 6 semanas de almacenamiento presentó un mismo comportamiento, pero de la semana 7 a la 9, hubo un incremento en la actividad, lo cual indicó que la cinética de reacción de la enzima en el aderezo control, aumentó conforme el tiempo de almacenamiento.

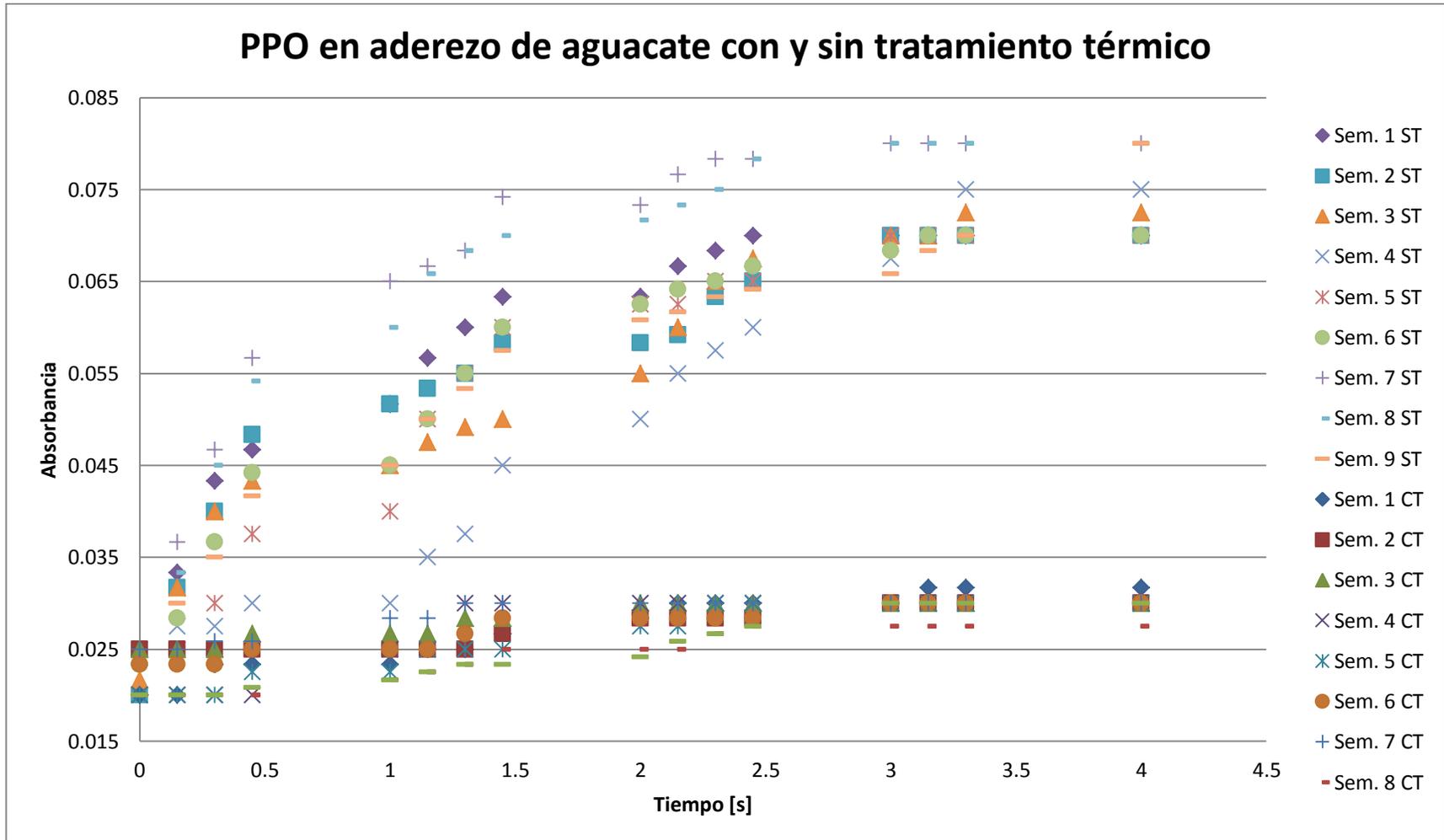


Figura 4.4 Cinética de reacción del extracto enzimático de los aderezos de aguacate con y sin tratamiento térmico en su evaluación de vida útil del producto



Por lo tanto es notoria que el aderezo con tratamiento térmico presentó una cinética de reacción casi nula en comparación con el aderezo control.

Se obtuvieron las pendientes de la regresión lineal para cada uno de los tratamientos (ver figura 4.4), estas indicaron la velocidad con la que actúa la PPO en el aderezo de aguacate durante las 9 semanas de almacenamiento, (Muñoz y col, 2007).

Cuadro 4.10 Velocidad de reacción de los aderezos con y sin tratamiento térmico

Semanas de almacenamiento	Aderezo con tratamiento térmico	Aderezo sin tratamiento térmico
1	0.003	0.222
2	0.002	0.226
3	0.003	0.246
4	0.003	0.236
5	0.003	0.289
6	0.003	0.241
7	0.003	0.231
8	0.003	0.232
9	0.003	0.264

Como se observa en el cuadro 4.10 la velocidad de reacción del aderezo de aguacate tratado térmicamente es baja de 0.003, en comparación con el aderezo control, ya que presentó una velocidad de reacción mayor de 0.250 en promedio. Lo que nos indicó que el tratamiento térmico fue lo suficientemente apropiado para la disminución de la actividad enzimática de la polifenol oxidasa.

4.2.3.2 Carga microbiana en aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico en la evaluación de vida útil del producto

Cuadro 4.11 Resultados de la actividad microbiana en los aderezos de aguacate en la evaluación de vida útil del producto

Aderezo de aguacate con tratamiento térmico									
	Semanas de almacenamiento								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Hongos y levaduras	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coliformes totales	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mesofilos aerobios	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Aderezo de aguacate sin tratamiento térmico									
Hongos y levaduras	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coliformes totales	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mesofilos aerobios	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Donde (-), significa que no hubo carga microbiana									

En el cuadro 4.11 se muestran los resultados de la carga microbiana en los aderezos de aguacate (con y sin tratamiento térmico) durante la evaluación de vida útil del producto, donde se observa que no se presentó actividad en ninguno de los aderezos. En el caso del aderezo control (sin tratamiento térmico), no presentó carga microbiana, debido a que la elaboración del aderezo se realizó bajo un estricto control sanitario, ya que se realizó en área estéril y todo el equipo que se utilizó para su elaboración y almacenamiento fue esterilizado previamente hasta su uso. Los ingredientes fueron desinfectados antes de su uso. Al no existir carga microbiana en este aderezo se corrobora la calidad sanitaria con la que se trabajó durante la experimentación.

4.2.3.3 Propiedades fisicoquímicas del aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico en la evaluación de vida útil del producto

- Resultados de pH

Cuadro 4.12 Resultados de pH de los aderezos con y sin tratamiento térmico

pH de aderezos de aguacate		
Semanas de almacenamiento	Aderezo con tratamiento térmico	Aderezo sin tratamiento térmico
0	4.07	3.9
1	4.05	3.98
2	4.01	4.01
3	4.01	4.01
4	4.01	4.01
5	4.01	4.01
6	4.01	4.01
7	4.01	4.01
8	4.01	4.01
9	4.01	4.01

Se determinó el pH del aderezo de aguacate con el objetivo de observar si se presentó algún cambio en éste, en los aderezos de estudio (con y sin tratamiento térmico). En el cuadro 4.12 se muestra el pH del aderezo de aguacate con y sin tratamiento térmico, se observa que ambos aderezos presentaron el mismo pH de 4.01 a partir de la semana 3, manteniendo su valor constante durante las 9 semanas de almacenamiento. Favoreciendo su pH a la inactividad microbiana, ya que a pH ácidos su actividad disminuye, por lo tanto ayudó al alargamiento de la vida útil del producto.



Ambos aderezos cumplieron con lo establecido en la norma NMX-F-341-S-1979 “Aderezo con mayonesa”, la cual se estableció como referencia, ya que no existe una norma específica para aderezos de aguacate. La norma establece que los aderezos deben de tener un pH ácido de 3.2 a 4.0, lo cual indicó que los aderezos de aguacate presentaron un valor constante de 4.01 cumpliendo con la norma mexicana.

- **Resultados de estabilidad**

La prueba de estabilidad se realizó en una centrifuga clínica a una velocidad de 2500rpm, durante un tiempo de prueba de 30min, tomándose lectura cada 10min, las condiciones de la prueba fueron constantes para cada aderezo, durante la evaluación de vida útil del producto. La medición se llevó a cabo en tubos para centrifuga clínica, estos están grabados en escala de mililitros.

Cuadro 4.13 Resultados de estabilidad del aderezo tratado térmicamente

Tiempo [min]	Semanas de almacenamiento									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
% de separación de agua										
10	33.33	33.33	33.33	33.33	30	26.66	16.66	16.66	16.66	16.66
20	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33	26.66	20	16.66	16.66
30	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33	26.66	26.66	16.66	16.66
% de separación de aceite										
10	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66
20	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66
30	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66

En el cuadro 4.13 se muestran los resultados de la prueba de estabilidad para el aderezo de aguacate con tratamiento térmico, se observa que el porcentaje de separación de agua de la semana 0 a la 3 fue constante del 33.33%, pero a partir de la semana 4 se presentaron cambios favorables, ya que el porcentaje de separación de agua fue disminuyendo hasta la semana 6 llegando a un 16.66%, durante los 30min de la prueba.

El porcentaje de separación de aceite se mantuvo constante durante las 9 semanas de almacenamiento, no presentando variación desde los primeros 10min de iniciación de la prueba hasta los 30min finales.



En el cuadro 4.14 se presentan los resultados de la prueba de estabilidad del aderezo de aguacate control (sin tratamiento térmico), durante las 9 semanas de evaluación de vida útil del producto.

Cuadro 4.14 Resultados de estabilidad del aderezo sin tratamiento térmico

Tiempo [min]	Semanas de almacenamiento									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
% de separación de agua										
10	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33	33.33
20	50	50	50	50	60	60	60	60	60	60
30	50	50	50	50	60	60	60	60	60	60
% de separación de aceite										
10	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66
20	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66
30	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66

Como se observa en el cuadro 4.14 el porcentaje de separación de agua fue de 33.33% en los primeros 10min de la prueba durante las 9 semanas de almacenamiento, al aumentar el tiempo de centrifugación, aumento el porcentaje de separación de agua.

Se observa que de la semana 0 a la semana 3 el porcentaje de separación al finalizar la prueba fue del 50%, y de la semana 4 en adelante aumento a un 60% de separación, manteniéndose constante durante las 9 semanas de evaluación.

En cuanto al porcentaje de separación de aceite, al igual que el aderezo con tratamiento térmico, se mantuvo constante durante el tiempo de evaluación de vida útil del producto, presentó el 16.66% de separación de aceite desde el inicio de la prueba hasta el final, manteniéndose constante.

El aderezo de aguacate con tratamiento térmico, presentó una mayor estabilidad del producto en comparación con el aderezo de aguacate control. Esto se puede apreciar en las siguientes fotos, siendo muy notoria la separación de la fase acuosa del aderezo control.

En la figura 4.5 se observa como la separación de fases (aceite y agua) en la prueba de estabilidad de los aderezos de aguacate, con y sin tratamiento térmico.

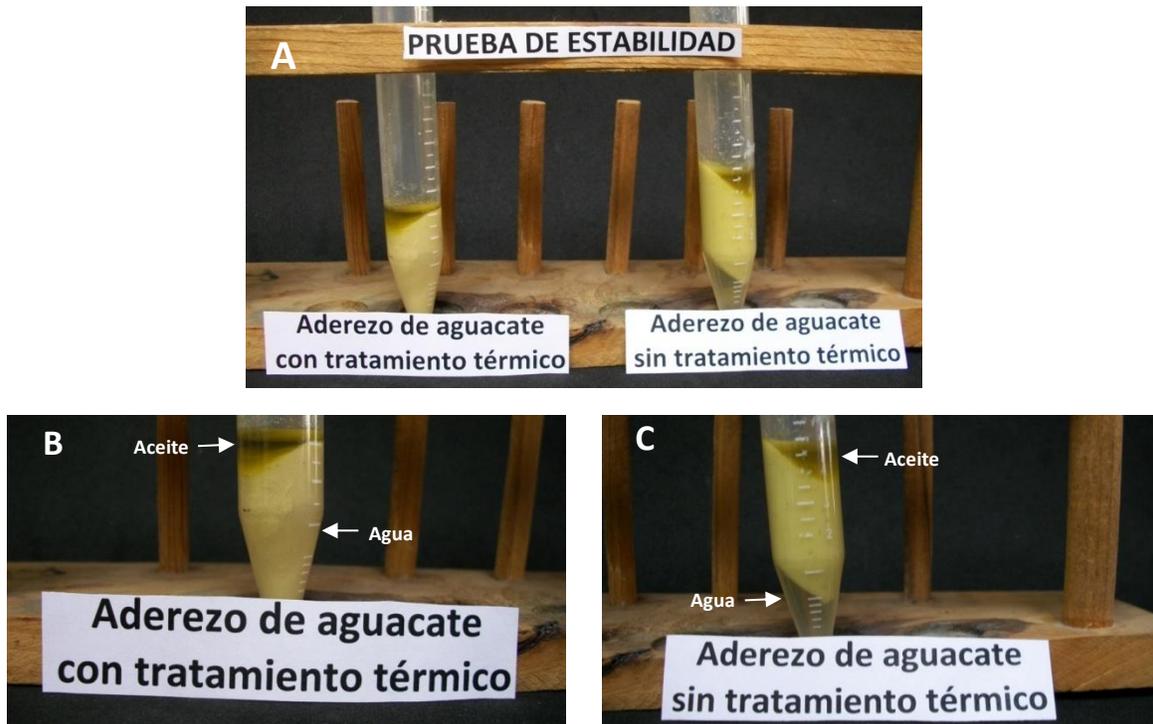


Figura 4.5 A: comparación de los aderezos de aguacate en prueba de estabilidad. B: aderezo de aguacate con tratamiento térmico. C: aderezo de aguacate control.

- **Resultados de color**

Se puede definir el color en el sentido físico como la distribución de energía de una luz reflejada o transmitida por un alimento en particular (Alvarado y col, 2001).

El análisis de color en el aderezo de aguacate con tratamiento térmico y sin tratamiento térmico estuvo basado en el Sistema Hunter el cual se desarrolla a partir de la teoría de Hering de los colores opuestos, donde se definen tres coordenadas de claridad (**L**) y cromaticidad (**a**) que cuando corresponde al componente rojo-verde para valores positivo y negativo respectivamente y (**b**) para el componente amarillo/azul, de igual manera para valores positivos y negativos. La saturación esta dada por la separación al centro del sistema tridimensional, como se muestra en la figura 4.6 (Alvarado y col, 2001).

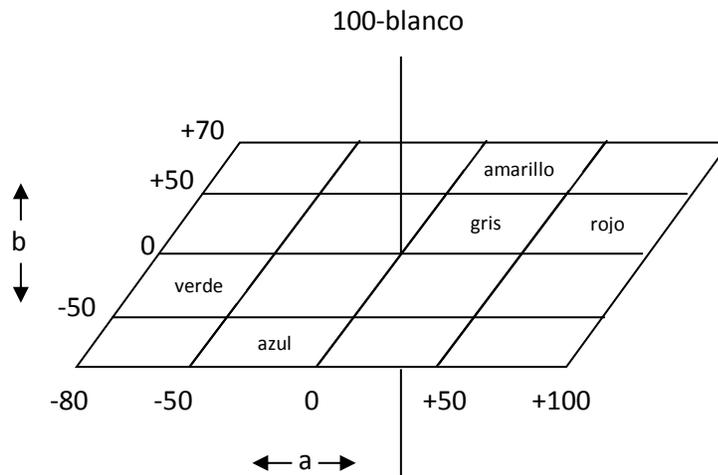


Figura 4.6 Sólido de color (Alvarado y col, 2001)

En la figura 4.7 se muestra la configuración especial CIELAB, la cual muestra la interrelación entre las variables L, a, b.

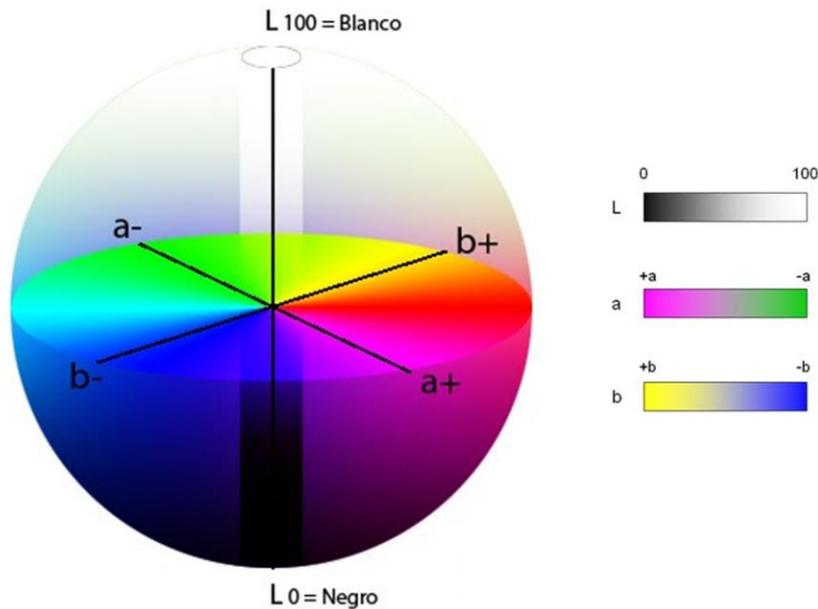


Figura 4.7 Configuración espacial CIELAB, la cual muestra la interrelación entre las variables L, a, b (Alvarado y col, 2001)



Cuadro 4.15 Parámetros de color de los aderezos con tratamiento térmico

Semanas de almacenamiento	L	a	b	a/b
0	64.750	-5.326	35.020	-0.152
1	64.750	-5.236	34.753	-0.150
2	63.420	-4.630	30.923	-0.149
3	62.670	-4.576	30.650	-0.149
4	61.950	-4.523	30.470	-0.148
5	60.186	-4.413	29.983	-0.147
6	59.910	-4.326	29.640	-0.145
7	58.893	-4.293	29.626	-0.144
8	58.806	-4.130	28.910	-0.142
9	57.983	-4.060	28.510	-0.142

En el cuadro 4.15 se muestran los resultados de la prueba de color, se observa que al aumentar el tiempo de almacenamiento del aderezo de aguacate con tratamiento térmico disminuyó el valor de claridad (L), y el valor de b, el cual indica rojo-verde, aumentando la cromaticidad (a).

Con los valores de a y b, se obtuvo el valor de a/b, valor que indicó el pardeamiento enzimático en el aderezo de aguacate con tratamiento térmico. Como se observa en el cuadro 4.16 el valor de a/b presentó un comportamiento directamente proporcional, ya que aumentó en relación al tiempo, lo que indicó que se presentó una degradación del color, debido al pardeamiento enzimático.

Cuadro 4.16 Parámetros de color de los aderezos sin tratamiento térmico

Semanas de almacenamiento	L	a	b	a/b
0	68.976	-5.986	36.500	-0.164
1	68.976	-5.880	36.423	-0.161
2	68.426	-5.426	36.233	-0.149
3	67.926	-5.200	35.986	-0.144
4	64.750	-4.960	35.490	-0.139
5	68.660	-4.820	35.280	-0.136
6	65.873	-4.690	34.980	-0.134
7	64.290	-4.566	34.870	-0.130
8	64.910	-4.423	34.023	-0.130
9	63.760	-4.260	33.180	-0.128



En el cuadro 4.16 se presentan los resultados de la prueba de color para el aderezo de aguacate control, donde se observa que presentó el mismo comportamiento que el aderezo con tratamiento térmico, ya que el valor de L y b, disminuyen, y el valor de a, aumentó conforme el tiempo de almacenamiento. Observándose en la relación a/b, que aumentó, lo que indica que el pardeamiento enzimático del aderezo de aguacate control aumento conforme el periodo de evaluación de vida útil del producto.

En la figura 4.7 se observa la comparación de los aderezos de aguacate (con y sin tratamiento térmico), donde se presentó el comportamiento del pardeamiento enzimático en relación al tiempo de evaluación de vida útil del producto.

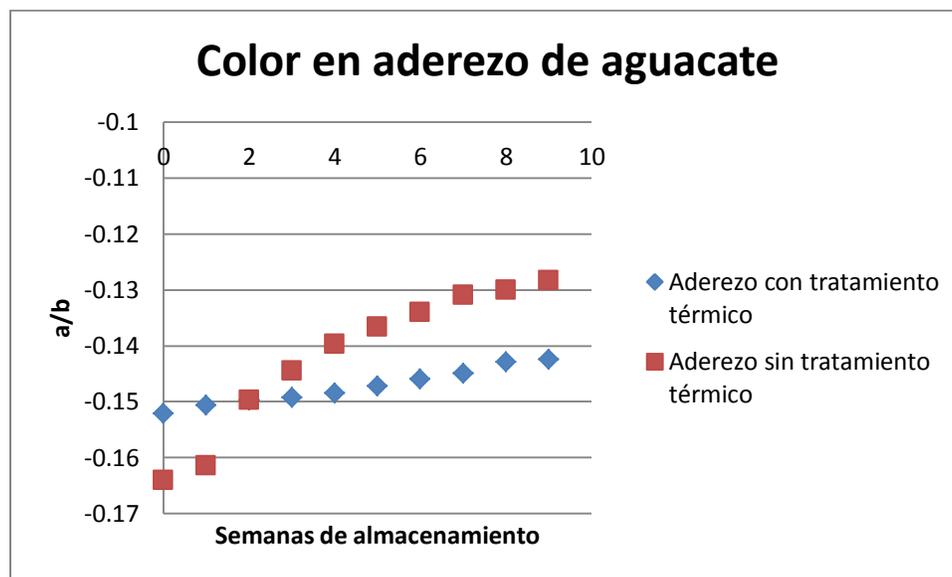


Figura 4.8 Pardeamiento enzimático de los aderezos de aguacate durante su evaluación de vida útil del producto

En la figura 4.8 se observa que el aderezo de aguacate sin tratamiento térmico presentó un pardeamiento enzimático (a/b) mayor que el aderezo de aguacate con tratamiento, lo que indica que al disminuir la actividad enzimática de la PPO por medio de un tratamiento térmico, disminuyó la degradación del color durante las semanas de almacenamiento.

La pendiente (velocidad de degradación del color) para el aderezo de aguacate con tratamiento térmico es de 0.001, y para el aderezo de aguacate control es de 0.004. Valores que indican que el aderezo control presenta mayor pardeamiento enzimático, viéndose reflejado en una mayor degradación del color.



Conclusiones

Las diferentes condiciones de tratamiento térmico aplicado a un aderezo de aguacate, presentaron una disminución de la actividad de la PPO (65°C a 10, 13 y 15min, y a 75°C a 10min), y se muestra que al aumentar la temperatura y disminuir el tiempo de calentamiento, disminuye la actividad de la polifenol oxidasa.

En el caso de los aderezos de aguacate tratados térmicamente a 75°C por 13 y 15min, y 85°C en sus tres tiempos diferentes (10, 13 y 15min), presentan una actividad de la enzima y carga microbiana nula.

De las condiciones de tratamiento térmico propuestos, se escogió una temperatura de calentamiento de 73°C en un tiempo de residencia de 13min, ya que las pruebas *in vitro*, realizadas en el laboratorio, demostraron que a estas condiciones la velocidad de reacción de la enzima es nula, obteniendo un 100% de inactivación.

Se demostró que la cinética de reacción del extracto enzimático de los aderezos de aguacate tratados térmicamente en diferentes lugares (laboratorio e intercambiador de calor de superficie raspada), aplicando las mismas condiciones, presentan el mismo comportamiento, ya que en ambos casos la cinética de reacción es nula, obteniendo un 100% de inactivación de la PPO.

Los resultados de la evaluación de la vida útil del producto demostraron que la actividad enzimática del aderezo tratado térmicamente fue menor, en comparación con el aderezo que no presento tratamiento, ya que en éste la actividad de la enzima presenta un comportamiento directamente proporcional con el tiempo de almacenamiento, ya que conforme aumentó el tiempo de almacenamiento, aumentó también la actividad de la polifenol oxidasa.

El análisis microbiológico demostró que en ambos aderezos no se presentó carga microbiana. Con lo que se corrobora que el trabajo se realizó con calidad sanitaria.

La evaluación de pH indica que ambos aderezos (con y sin tratamiento térmico), no varía en cuanto aumenta el tiempo de almacenamiento, ya que ambos aderezos presentaron un pH de 4.0, cumpliendo con lo establecido en la normatividad (NMX-F-341-S-1979).

El aderezo tratado térmicamente presentó una mayor estabilidad, ya que el porcentaje de separación de agua fue menor en comparación con el aderezo control.



En la determinación de color, los resultados indican que el aderezo que presentó tratamiento térmico tuvo un menor pardeamiento en comparación con el aderezo que no tuvo tratamiento.

Referente a los resultados obtenidos, el tratamiento térmico beneficia el alargamiento de vida útil de aderezo de aguacate, ya que al quedar inactivada la enzima polifenol oxidasa, con ello no hay reacciones enzimáticas que conlleven a la degradación del producto, manteniendo una apariencia agradable y sus propiedades físicas no se ven afectadas durante las 9 semanas de evaluación. El aderezo control presentó a partir de la semana 4 un aumento en la degradación de estabilidad, color y cinética de reacción de la PPO.

Con los resultados obtenidos se abre una puerta a la industria, para la producción de aderezo de aguacate, siendo totalmente natural, ya que su conservación se lleva a cabo por un tratamiento térmico, por lo que no es necesario el uso de conservadores.



- Se prendieron tres mecheros que se encuentran en la parte inferior de la autoclave y se esperó a que la presión llegara a 121 psi, una vez que se llegó a la presión, se apagaron dos mecheros y se dejó solo uno prendido para mantener la presión por un periodo de 15min, y de esta manera se esterilizaron los agares microbiológicos.
 - Se apagó el mechero y se esperó a que la presión descendiera.
5. Se enfrió el matraz en baño maría con agua fría.
 6. Se preparó el área estéril:
 - Se lavó con agua y jabón el área de la mesa a utilizar. Se secó.
 - Se limpió con alcohol
 - Se prendió un mechero de cada lado para mantener el área estéril.
 7. En el área estéril se abrió el matraz y se vació el agar en las cajas petri (hasta la mitad), se cerraron las cajas petri y se esperó a que se enfriarán y se voltearon al revés.



Referencias bibliográficas

1. Almeida, M., Nogueira J. (1995). "The control of polyphenol oxidase activity in fruits and vegetables. A study of the interactions between the chemical compounds used and heat treatment". Department of Food Technology, FEA-UNICAMP, Campinas, SP, Brazil. (3) 245-246.
2. Alvarado, J., Aguilera, J. (2001). "Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos". Acribia. Zaragoza.
3. Anzaldúa, A. (1994). "La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica". Acribia. Zaragoza.
4. Aguado, J., Calles, J. (2002). "Ingeniería de la Industria Alimentaria". Acribia. Zaragoza.
5. Badui, S. (2006). "Química de los alimentos". 4ed, Pearson. México.
6. Barreiro M., Yoldi, M. (1999). "El aguacate mexicano". Revista Claridades Agropecuarias. (198), 93.
7. Casp, A., Abril, J. (2003). "Procesos de conservación de alimentos". 2ed. Mundi-Prensa. España.
8. Corrales, J. (1991). "Experiencias y problemática de la industrialización del aguacate". Memorias del Seminario Internacional del Aguacate. Poscosecha y Comercialización. México. 64-71.
9. Cruz, D. (1999). "Metodología de la Investigación Documental y de las Prácticas Demostrativas de Apoyo en la Asignatura del Paquete Terminal de Enzimas de Uso Alimentario". Tesis de Licenciatura FES Cuautitlan. UNAM.
10. Cubero, N., Monferrer, A., Villalta, J. (2002). "Aditivos alimentarios". Mundi-Prensa. España.
11. Dabas, D., Elias, R., Lambert, J., Ziegler, G. (2011). "A colored avocado seed extract as a potential natural colorant". Department of Food Science, The Pennsylvania State Univ. Park, USA. 1335-1341.
12. Fennema, R. (1993). "Química de los alimentos". Acribia. Zaragoza.
13. Fersini, A. (1975). "Cultivo del aguacate". Diana. México.



Anexos

Anexo 1 Preparación de la solución catecol 0.02M (sustrato para la PPO)

1. Para preparar 100mL de catecol 0.02M, se debe conocer los g de catecol que se necesitan para dicha Molaridad, los cuales se obtuvieron mediante los siguientes cálculos:

$$0.02M_{catecol} = \frac{mol}{0.1 L}$$

$$mol = (0.1l) \left(0.02 \frac{mol}{L} \right) = 0.002mol$$

$$g_{catecol} = \left(110.1 \frac{g}{mol} \right) (0.002mol) = 0.2202g_{catecol}$$

2. En un matraz aforado de 100mL se colocaron 0.2202g de catecol y se aforó con agua destilada.

Anexo 2 Preparación de agar microbiológico

1. Se pesó la cantidad necesaria para preparar 1000mL de agar según el caso:

Cuadro 2.6 Agar microbiológico

Agar microbiológico	Cantidad
Papadextrosa	39.0 g – 1000mL
Rojo-violeta-bilis	42.5 g – 1000mL
Cuenta estándar	23.5 g – 1000mL

2. Se colocó el agar (polvo pesado), en un matraz erlenmeyer y se agregaron 1000mL de agua destilada. Se colocó una mosca en el matraz y se puso en agitación y calentamiento en una parrilla eléctrica, hasta que llegó a punto de ebullición se retiró.
3. Se sacó la mosca y se tapó el matraz con su tapa dejándose floja.
 - Se repitió el procedimiento de los pasos 1, 2 y 3 para cada agar.
4. Se esterilizó el agar:
 - En la autoclave se agregó agua hasta la parrilla; se colocaron los matraces sobre la parrilla y se tapó la autoclave.



14. Garrote, R., Bertone, R., Silva, E., Sbodio, O. (1984). "Thermal inactivation of the enzymes polyphenoloxidase and peroxidase in Swiss chard (*Beta vulgaris*, cicla)". *Arch Latinoam Nutr*, 34, 198-216.
15. Gasull, E., Becerra, D. (2006). "Caracterización de Polifenoloxidasas Extraídas de Pera (cv. Packam's Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious)". *Información Tecnológica*, (17), 69-74.
16. Geankoplis, J. (2006). "Procesos de transporte y operaciones unitarias". CECSA. México.
17. Gomez, M. (2001). "Somebiochemical properties of polyphenol oxidase from two varieties of avocado". *FoodChemistry* 77 163-169.
18. Guerrero, C. (2009). "Inhibición de la actividad enzimática de la polifenol oxidasa extraída del banano (*Cavendish valery*) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico". Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia.
19. Gutiérrez, S. (2004). "El aguacate cien recetas escogidas", Maikalili, Barcelona. 121 pag.
20. Holman, J. (1989). "Heat Transfer". 3ed. Mc Graw Hill. Singapore.
21. Holzwarth, M., Korhummel, S., Kammerer, R., Carle, R. (2012) "Thermal inactivation of strawberry polyphenoloxidase and its impact on anthocyanin and color retention in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) purees". *European Food Research and Technology*, (235), 1171-1180.
22. Illescos, J., Bracho, O., Ferrer, S. (2008). "Frutas y hortalizas". Mercasa. Madrid.
23. Iyengar, R., McEvily, A. (1992). "Anti-browning agents: alternatives to the use of sulfites in foods". *Trends Food Sci Tech* 3(3):60-64.
24. Kaiser, A., Brinkmann, M., Carle, R., Kammerer, D. (2012), "Influence of thermal treatment on color, enzyme activities, and antioxidant capacity of innovative pastelike parsley products". Institute of Food Science and Biotechnology, Chair Plant Foodstuff Technology, Hohenheim University, Garbenstrasse 25, D-70599 Stuttgart, Germany. *Agric Food Chem*, (12), 291-301.
25. NMX-F-341-S-1979. Aderezo con mayonesa. Dressing with mayonnaise. Normas Mexicanas. Dirección general de normas.
26. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
27. Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y disolución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.



28. Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
29. Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
30. Mafart, P. (1994). "Ingeniería Industrial Alimentaria". Vol. 1. Acribia. España.
31. Mastissek, R., Schnepel, F. (1998). "Análisis de los alimentos". Acribia. Zaragoza.
32. Maya, K., Sanchez, M., Jiménez, E. (2007). "Estudio de formulaciones para elaboración de aderezos con ajonjolí". IX Congreso de ciencia de los alimentos y V foro de ciencia y tecnología de alimentos. Departamento de ingeniería bioquímica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. 458-465.
33. Muñoz, K., Bravo, K., Zapata, P., Londoño, J. (2007). "Caracterización preliminar del enzima polifenol oxidasa en frutas tropicales: implementaciones de un proceso de industrialización". Scientia et Technica, (33), 1694-1701.
34. Ochoa R., Ortega, C. (2002). "El aguacate mexicano frente a la apertura del mercado norteamericano". Revista Claridades Agropecuarias. (110).
35. Ortiz, A., Mora, R., Santiago, T., Dorantes, L. (2003). "Obtención de una pasta de aguacate mediante tratamiento térmico". Actas V Congreso Mundial del Aguacate. Departamento de ingeniería bioquímica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. 761-768.
36. Palma, G., Sampaedro, JG, Ortiz, A., Nájera H. (2012). "In situ inactivation of polyphenol oxidase in mamey fruit (*Pouteria sapota*) by microwave treatment". Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, Departamento de Ciencias Naturales, México, DF. 59-65.
37. Singh, P., Heldman, D. (1998). "Introducción a la ingeniería de los alimentos". Acribia. Zaragoza.
38. Tirilly, Y., Bouergeois, C. (2001). "Tecnología de las hortalizas". Acribia. Zaragoza.
39. Weemaes, C., Ludikhuyze, L., Van de Broeck, I., Hendrickx, M. (1998). "Kinetics of combined pressure-temperature inactivation of avocado polyphenoloxidase". Department of Food and Microbial Technology, Faculty of Agricultural and Applied Biological Sciences, Katholieke Universiteit Leuven, Kard. Mercierlaan 92, B-3001 Leuven, Belgium, 292-300.
40. Wiley, R. (1997). "Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas". Acribia. Zaragoza.



Referencias bibliográficas



41. Zambrano, Y. (2005). "Efecto de las propiedades reológicas de un fluido modelo fluidificante a la cizalla (goma gelana) sobre el coeficiente convectivo de un intercambiador de calor de superficie raspada". Tesis de Licenciatura FES Cuautitlan. UNAM.
42. <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC1/10/3/2.html>
43. http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/infografias_viejito/Paginas/aguacate.htm.2009