

“Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos”

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**OPCION I.- TESIS**

**TRABAJO PROFESIONAL**

**“EFECTO DE LA ADICIÓN DE CONCENTRADO DE VEGETAL AL PURÉ DE  
AGUACATE EN CONGELACIÓN”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS  
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

**PRESENTA:**

***I.Q. Verónica Martínez Aguilar***

**DIRECTOR DE TESIS:**

***Dra. Rosalía Cerecero Enríquez***

**CODIRECTOR DE TESIS:**

***Dr. José Manuel Tejero Andrade***



SEP

SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



Subsecretaría de Educación Superior  
Tecnológico Nacional de México  
Instituto Tecnológico de Orizaba

"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA: 16/03/2017  
DEPENDENCIA: POSGRADO  
ASUNTO: Autorización de Impresión  
OPCIÓN: I

C. VERONICA MARTINEZ AGUILAR  
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:  
CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

"EFECTO DE LA ADICION DE CONCENTRADO DE VEGETAL AL PURE DE AGUACATE EN CONGELACION".

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E

M.C. MA. ELENA GARCÍA REYES  
JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO



SECRETARIA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA  
INSTITUTO  
TECNOLÓGICO  
DE ORIZABA

ggc



Avenida Oriente 9 Núm. 852, Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320 Orizaba, Veracruz, México

Teléfonos: (272) 7 24 40 96 Fax: (272) 7 25 17 28

e-mail: Orizaba@itorizaba.edu.mx www.itorizaba.edu.mx



SEP

SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



Subsecretaría de Educación Superior  
Tecnológico Nacional de México  
Instituto Tecnológico de Orizaba

"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA : 08/03/2017

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

C. M.C. MA. ELENA GARCÍA REYES  
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO E INVESTIGACION.  
P R E S E N T E

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C. :

VERONICA MARTINEZ AGUILAR

la cual lleva el título de:

"EFECTO DE LA ADICION DE CONCENTRADO DE VEGETAL AL PURE DE AGUACATE EN CONGELACION".

Y concluyen que se acepta.

A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : DRA. ROSALIA CERECERO ENRIQUEZ

SECRETARIO : DR. JOSE MANUEL TEJERO ANDRADE

VOCAL : DRA. GUADALUPE LUNA SOLANO

VOCAL SUP. : DR. EUSEBIO BOLAÑOS REYNOSO

FIRMA  
  
FIRMA  
  
FIRMA  
  
FIRMA

EGRESADO(A) DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

OPCION: I Tesis



Avenida Oriente 9 Núm. 852, Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320 Orizaba, Veracruz, México

Teléfonos: (272) 7 24 40 96 Fax: (272) 7 25 17 28

e-mail: Orizaba@itorizaba.edu.mx www.itorizaba.edu.mx



## **AGRADECIMIENTOS**

***Dra. Rosalía Cerecero Enríquez***

*Le agradezco sinceramente su esfuerzo y dedicación, gracias por haberme brindado la oportunidad de trabajar en su equipo, por su apoyo en la realización de esta tesis y más que nada agradezco sus enseñanzas, consejos, orientaciones y su manera de trabajar porque han sido fundamentales para mi formación como investigadora.*

*Gracias por haber inculcado responsabilidad y rigor académico, hoy en día puedo asegurar que soy una persona más preparada no solo en el ámbito profesional sino también en lo personal. A su manera ha sido capaz de ganarse mi lealtad y admiración, así como sentirme en deuda con usted por todo lo recibido durante este tiempo.*

***Dra. Guadalupe Luna Solano***

*Le agradezco el apoyo y disponibilidad que siempre mostró para prestarme sus equipos, pues gran parte de esta tesis no hubiera sido posible realizarse sin su ayuda. Le agradezco por ser parte esencial en mi desarrollo académico, así como también por las aportaciones para este trabajo de tesis como revisora.*

***Dr. José Manuel Tejero Andrade***

*Le agradezco mucho por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, por las aportaciones valiosas a este trabajo de tesis, gracias porque siempre mostró amabilidad y disponibilidad para trabajar.*

***Dr. Eusebio Bolaños Reynoso***

*Le agradezco por haberme sabido transmitir sus conocimientos de la mejor manera, así como sus enseñanzas dentro del aula de clases, por la amabilidad y el tiempo brindado para la revisión de esta tesis.*

***A CONACYT***

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada con número de registro 663052*

## DEDICATORIAS

*Al creador del universo, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado; por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi trabajo a Dios.*

### A MIS PADRES

*Porque en cada paso que doy están ellos en mi mente, son el motor de mis logros, gracias por enseñarme amar la vida, a ser humilde, a luchar por conseguir todo lo que me proponga y dar siempre lo mejor de mí, gracias por su apoyo durante esta travesía.*

### A MIS HERMANOS Y SOBRINITO

*Gracias por su apoyo y consejos durante estos dos años, por compartir conmigo momentos buenos y malos, por sus palabras de aliento, gracias por ser los mejores hermanos del mundo. También le dedico este trabajo a mi sobrinito hermoso Alejandro por traernos mucha felicidad a nuestra casa, es un motivo más para seguirme superando y ser un gran ejemplo para él.*

### A MIS AMIGOS DE LABORATORIO

*A mis amigos de laboratorio Adan, Laurita, Emmanuel y Carlos, gracias por sus buenos consejos, por hacer más amena la estancia en el laboratorio y compartir conmigo momentos agradables, divertidos llenos de risas y sobre todo por ser mis amigos, fue una bonita experiencia trabajar en el mismo laboratorio, siempre tendrán una amiga en quien confiar.*

### A MIS TIOS, PRIMOS

*Este triunfo también es de ustedes por haber creído en mí, por regalarme sonrisas en momentos difíciles, por ser esa familia unida que siempre está para apoyarse. En especial a mi primo Omar y tía Guillermina, aunque ya no están físicamente con nosotros me dejaron una enorme enseñanza, disfrutar cada segundo de vida y luchar hasta el último momento.*

### A CHRISTIAN

*Una parte esencial de este logro se debe a ti, porque siempre me brindaste tu apoyo incondicionalmente y desinteresadamente, siempre tuviste las palabras exactas para hacerme sentir mejor, Gracias por estar presente no sólo en esta etapa de mi vida, sino en todo momento ofreciéndome lo mejor y buscando lo mejor para mi persona. Gracias por brindarme tu amor, comprensión y paciencia.*

*Te quiero mucho.*

## *A MIS COMPAÑEROS DE GENERACIÓN*

*A mis compañeros de generación, gracias por haber sido parte de esta etapa de mi vida, por brindarme su amistad y haber sido una generación unida. Pasamos momentos muy difíciles, pero también momentos muy agradables que siempre voy a recordar.*

## *A MIS AMIGOS*

*A mi amigo Javier, sabes que eres una persona muy importante en mi vida y por algo Dios te puso en mi camino, esta travesía no fue nada fácil, pero a tu lado se hizo más amena, gracias por ese motivo de querer ser mejor persona, por regalarme bonitos momentos llenos de risas y diversión. Gracias por ser un verdadero amigo y acompañarme en mis logros y fracasos, por estar siempre en todo momento apoyándome, por saber escucharme y darme consejos, por compartir tus alegrías y tristezas conmigo. Te quiero mucho minipig y aunque ya no seas una “estrella” siempre brillaras para mí.*

*A mi amigo Luis Antonio, fuimos un gran equipo de trabajo y padecimos muchas cosas, nos costó un poco más de esfuerzo, pero al final siempre encontrábamos la salida. Eres un gran amigo y una persona muy inteligente como te dije un día “lo hermoso del aprendizaje es que nadie te lo puede quitar” ... una calificación no define cuanto sabemos, al final nos iremos satisfechos por lo aprendido.*

*A mi amiga Ariadna, amiga iniciamos esta aventura juntas como muchas otras, pero el destino tenía un mejor plan, gracias por apoyarme en todo y ser mi mejor amiga, te quiero mucho.*

Esta tesis se desarrolló en el Instituto tecnológico de Orizaba durante el periodo agosto 2014-diciembre 2016. Las presentaciones en congresos y publicaciones que se obtuvieron se enlistan a continuación.

## **PRESENTACIONES EN CONGRESOS**

- |      |          |  |
|------|----------|--|
| 2016 | Ponencia | Estudio de la adición de concentrado de vegetal como conservador de puré de aguacate <i>Hass</i> . Presentación en el 2do. Congreso Nacional Multidisciplinario de Educación, Ciencia y Tecnología (CONAMTEC). Pachuca de Soto, Hidalgo, México, 18-21 octubre 2016. |
| 2016 | Cartel   | Inhibición de la polifenoloxidasas en la pulpa de chinene ( <i>persea schiedeana</i> Ness). Presentación en Food & Biotechnology International Congress (F&BIC). Pachuca, Hidalgo, México, 19-21 octubre 2016.   |

## **PUBLICACIONES**

- |      |  |
|------|--|
| 2016 | Martínez-Aguilar, V., Tejero-Andrade, J.M., Luna-Solano, G., Cerecero-Enríquez, R., Estudio de la adición de concentrado de vegetal como conservador de puré de aguacate <i>Hass</i> . <i>Revista de simulación y laboratorio, ECORFAN</i> . ISSN 2410-3462, 3 (8):22-28 |
| 2016 | Martínez-Aguilar, V., Tejero-Andrade, J.M., Cerecero-Enríquez, R., Inhibición de la polifenoloxidasas en la pulpa de chinene ( <i>persea schiedeana</i> Ness). <i>Memorias Food &amp; Biotechnology International Congress</i> . ISBN. 978-607-96797-2-9, 44.            |

## RESUMEN

### Efecto de la adición de concentrado de vegetal al puré de aguacate en congelación

**Realizado por: I.Q. Verónica Martínez Aguilar**  
**Dirigido por: Dra. Rosalía Cerecero Enríquez**  
**Dr. José Manuel Tejero Andrade**

Actualmente el aguacate es considerado como una fruta de segunda generación en el mercado mundial, ha dejado de ser un fruto exótico para incorporarse a la dieta de un gran número de personas, debido a su alto valor nutricional. Sin embargo, por ser un fruto climatérico se ve reducida su vida de anaquel, anudado a ello las reacciones de pardeamiento enzimático que limitan su vida comercial. En este trabajo, se evaluó el efecto de la adición de jugo vegetal (mucílago y apio) al puré de aguacate Hass (*Persea americana mill*) y otro nativo de la región como el Chinene (*Persea schiedeana ness*) antes y después de su almacenamiento en congelación con el fin de prolongar su vida de anaquel proporcionando un producto de calidad mínimamente procesado. La materia prima fue adquirida en el mercado de la localidad de Orizaba (aguacate Hass, apio y nopal) e Ixtaczoquitlan (aguacate Chinene). Los aguacates en estado de madurez (tres días después del corte) fueron llevados a un proceso de sanitización en una solución de ácido acético-agua al 1%, la pulpa de aguacate se adiciona con jugo de apio y mucilago de nopal al 10 y 20 % p/p, respectivamente. Las formulaciones fueron almacenadas a -4°C durante 4 meses. La evaluación de las formulaciones de puré de aguacate consistió en valorar la oxidación de lípidos (acidez), pH, color y actividad enzimática. Los resultados muestran que la adición de extractos vegetales modifica significativamente el color natural del aguacate; las mediciones colorimétricas mostraron incremento en luminosidad (**L**) y en parámetros de cromaticidad (**a** y **b**). La formulación que presentó la menor diferencia de color fue Chinene con adición de mucílago al 20%, así como también, tuvo el mayor porcentaje de inhibición de la PPO en un 56.48%. Las formulaciones con adición de apio favorecieron el pH hacia la alcalinidad, mientras que el mucílago lo redujo significativamente. La acidez es afectada durante el almacenamiento debido a la oxidación de lípidos que tienden acidificar el medio, en mayor grado, en las muestras testigo. El análisis estadístico mostró un efecto significativo entre las medias ( $\alpha=0.05$ ) en pH, acidez y actividad residual, en tanto que la diferencia de color no indicó efectos significativos. El análisis microbiológico indicó calidad sanitaria e inocuidad en las formulaciones.

## **ABSTRACT**

### **Effect of Adding Vegetable Concentrate to Frozen Avocado Puree**

**Realizado por: I.Q. Verónica Martínez Aguilar**

**Dirigido por: Dra. Rosalía Cerecero Enríquez**

**Dr. José Manuel Tejero Andrade**

Currently avocado is considered as a second generation fruit in the world market, it is no longer an exotic fruit to be incorporated into the diet of a large number of people, due to its high nutritional value. However, because it is a climacteric fruit its storage life is reduced, tied to it the reactions of enzymatic browning that limit its commercial life. In this work, the effect of the addition of vegetable juice (mucilage and celery) to Hass avocado purée (*Persea americana mill*) and another native of the region as Chinene (*Persea schiedeana ness*) before and after storage freezing in order to prolong their storage life by providing a minimally processed quality product. The raw material was acquired in the local market of Orizaba (Hass avocado, celery and nopal) and Ixtaczoquitlan (Chinene avocado). The avocados in mature state (three days after cutting) were taken to a sanitization process in a solution of acetic acid-water at 1%, the avocado pulp is added with celery juice and nopal mucilage at 10 and 20 % w / w, respectively. The formulations were stored at -4 °C for 4 months. The evaluation of the avocado puree formulations consisted in evaluating the oxidation of lipids (acidity), pH, color and enzymatic activity. The results show that the addition of plant extracts significantly modifies the natural color of avocado; The colorimetric measurements showed increase in luminosity (L) and in chromaticity parameters (a and b). The formulation with the lowest color difference was Chinene with addition of 20% mucilage, as well as the highest percentage of inhibition of PPO in 56.48%. Formulations with addition of celery favored the pH towards alkalinity, where as the mucilage reduced it significantly. The acidity is affected during storage due to the oxidation of lipids that tend to acidify the medium, to a greater degree, in the control samples. Statistical analysis showed a significant effect among the averages ( $\alpha = 0.05$ ) on pH, acidity and residual activity, while the color difference did not indicate significant effect. The microbiological analysis indicated the sanitary quality and safety in the formulations

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>RESUMEN</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	iv
<b>LISTA DE TABLAS</b>	vi
<b>NOMENCLATURA</b>	viii
<b>INTRODUCCIÓN</b>	ix
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	xi
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	xii
<b>CAPÍTULO I FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b>	
1.1 Generalidades del aguacate	2
1.2 Variedades de aguacates	3
1.2.1 Aguacate <i>Hass</i>	4
1.2.2 Aguacate <i>Shiedeana</i>	4
1.3 Valor nutricional y aplicaciones	5
1.4 Producción nacional e internacional	6
1.5 Causas de alteración fisicoquímica del aguacate	8
1.6 Enzimas	9
1.6.1 Polifenoloxidasa	10
1.6.2 Mecanismo de reacción de la catálisis enzimática	11
1.6.3 Prevención del pardeamiento enzimático	12
1.7 Tecnología de la congelación	13
1.7.1 Temperatura de congelación de un alimento	15
1.8 Vegetales	15
1.8.1 Apio	16
1.8.2 Nopal	18
1.8.3 Mucílago de nopal	18

1.9 Análisis fisicoquímicos	20
1.9.1 Color	20
1.9.2 Actividad enzimática	21
1.9.3 Cuantificación de la actividad enzimática	23
1.9.4 Oxidación de lípidos	23
1.9.5 pH	24
1.10 Análisis microbiológico	25
1.10.1 Mesófilos, termófilos y psicrófilos aerobios	25
1.10.2 Hongos y levaduras	26
1.10.3 Coliformes totales	26
1.11 Análisis sensorial	27
1.11.1 Pruebas afectivas o ensayos hedónicos	28
1.12 Diseño estadístico	29
1.12.1 Diseño factorial 2 <sup>3</sup>	30
1.13 Antecedentes	30
<b>CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
2.1 Metodología general	34
2.2 Selección de la materia prima y grado de madurez	35
2.3 Obtención del jugo de apio	36
2.4 Extracción del mucílago	36
2.5 Formulación del puré de aguacate con concentrado vegetal	37
2.6 Almacenamiento en congelación	37
2.7 Caracterización fisicoquímica del aguacate Hass y Chinene	37
2.7.1 pH	38
2.7.2 Humedad	38
2.7.3 Actividad de agua a <sub>w</sub>	38
2.7.4 Determinación de color	38
2.7.5 Determinación de cenizas	39
2.7.6 Determinación de lípidos	39
2.7.7 Determinación de acidez	39

2.8 Determinación de la actividad de la polifenoloxidasas	40
2.9 Propiedades termofísicas	41
2.9.1 Densidad	41
2.9.2 Calor específico	42
2.9.3 Conductividad térmica	42
2.10 Análisis sensorial	43
2.11 Análisis microbiológico	43
2.12 Diseño de experimentos	45
2.13 Análisis estadístico	45
<b>CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
3.1 Caracterización fisicoquímica del aguacate	48
3.2 Rendimientos	50
3.3 Análisis en formulaciones de aguacate	52
3.4 Análisis sensorial	54
3.5 Curvas de evolución de pH	55
3.5.1 pH final	56
3.6 Curvas de evolución de acidez	57
3.7 Análisis de color	59
3.7.1 Curva de evolución de Luminosidad	60
3.7.2 Curvas de evolución en a	61
3.7.3 Curvas de evolución en b	62
3.7.4 Curvas de evolución de diferencia de color	63
3.8 Actividad enzimática inicial	67
3.9 Curvas de evolución de la actividad enzimática residual	68
3.10 Carga microbiana	71
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	75
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	78
<b>APÉNDICES</b>	90

## LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1.1	Componentes del aguacate variedad <i>Persea americana Mill</i>	3
Figura 1.2	Aguacate variedad <i>Persea schiedeana Ness</i>	4
Figura 1.3	Producción mundial de aguacate	7
Figura 1.4	Fruto afectado por el pardeamiento enzimático	9
Figura 1.5	Oxidación de los derivados catecol para generar o-quinonas	11
Figura 1.6	El monofenol hidroxila al o-difenol correspondiente (catecol)	11
Figura 1.7	Hidroxilación de la tirosina a 3-4dihidroxifenilalanina (DUPA)	11
Figura 1.8	Oxidación no enzimática de los monofenoles por las o-quinonas	12
Figura 1.9	Curva de congelación	14
Figura 1.10	<i>Apium graveolen</i>	16
Figura 1.11	Espacio de color Hunter Lab	21
Figura 2.1	Metodología aplicada del proceso de conservación de puré de aguacate	34
Figura 2.2	Selección de frutos a) Chinene y b) Hass	35
Figura 2.3	Sanitización del aguacate	35
Figura 2.4	Jugo de apio	36
Figura 2.5	Mucílago de nopal deshidratado	36
Figura 2.6	Puré de aguacate empaquetado a) chinene y b) hass	37
Figura 3.1	Color en aguacate a) Hass y b) Chinene	50
Figura 3.2	Grado de aceptación en formulaciones	54
Figura 3.3	Evolución de pH durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass	55

Figura 3.4	Evolución de acidez durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass	58
Figura 3.5	Evolución de L durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass	60
Figura 3.6	Evolución de a durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass	62
Figura 3.7	Evolución de b durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass	63
Figura 3.8	Evolución de la diferencia de color ( $\Delta E$ ) durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass	64
Figura 3.9	Color en las formulaciones de aguacate al término del almacenamiento	66
Figura 3.10	Actividad inicial: a) Chinene y b) Hass	67
Figura 3.11	Actividad residual durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass	69
Figura 3.12	Muestras testigo a) Agar para métodos estándar, b) agar dextrosa papa y c) agar rojo billis	71
Figura 3.13	Determinación de la carga microbiana para la formulación CM20%	72

## LISTA DE TABLAS

		Página
Tabla 1.1	Clasificación botánica del género <i>Persea americana</i>	2
Tabla 1.2	Composición del aguacate en 100 g de pulpa	5
Tabla 1.3	Sustratos específicos de la polifenoloxidasa	10
Tabla 1.4	Composición del apio por cada 100 g de pulpa	17
Tabla 1.5	Lista de FDA de especias, aromatizantes y saborizantes GRAS	18
Tabla 1.6	Composición química del mucilago	19
Tabla 2.1	Densidades en Kg/m <sup>3</sup> para algunos componentes de alimentos como función de la temperatura en ° C	42
Tabla 2.2	Correlaciones para el calor específico en KJ/(Kg°K) de los componentes de los alimentos como función de la temperatura	42
Tabla 2.3	Conductividades térmicas en W/M°K de los alimentos y algunos de sus componentes como función de la temperatura en °C	43
Tabla 2.4	Normas para realización de pruebas microbiológicas	44
Tabla 2.5	Condiciones de incubación	44
Tabla 2.6	Conteo de intervalos UFC de colonias	45
Tabla 2.7	Diseño factorial mixto 2 <sup>3</sup>	46
Tabla 3.1	Caracterización fisicoquímica en función de la variedad de aguacate	48
Tabla 3.2	Rendimientos en drupa de 200 g	51
Tabla 3.3	Rendimientos en apio y mucílago de nopal (500 g)	51

Tabla 3.4	Evaluación de formulaciones de puré en 100 g	52
Tabla 3.5	Evaluación de formulaciones al termino del almacenamiento a 50 días	53
Tabla 3.6	Resultados finales de pH al termino del almacenamiento	56
Tabla 3.7	ANOVA de efectos para la variable pH	57
Tabla 3.8	Resultados de acidez al final del almacenamiento	58
Tabla 3.9	ANOVA de efectos en la variable acidez	59
Tabla 3.10	Resultados experimentales de color al final del período de almacenamiento	65
Tabla 3.11	ANOVA de efectos sobre la diferencia de color al final del almacenamiento	66
Tabla 3.12	Resultados experimentales de actividad residual al final del almacenamiento	70
Tabla 3.13	ANOVA de efectos sobre la actividad residual al final del almacenamiento	70
Tabla 3.14	Resultados finales de la carga microbiana	73

## NOMENCLATURA

Símbolo	Definición	Unidades
$A$	Actividad de la PPO en un tiempo dado	Abs/min
$C_p$	Calor específico	(kJ/kg °C)
$k$	Conductividad térmica	(W/m °C)
$m$	Pendiente de la recta	Abs/min

### Letras griegas

$\rho$	Densidad del fluido	(kg/m <sup>3</sup> )
$\Delta E$	Diferencia de color	-
$\Delta a$	Diferencia de color a	-
$\Delta b$	Diferencia de color b	-

### Subíndices

$i$	Fracción de cada componente nutricional	-
$0$	Actividad de la PPO inicial	-
$b$	Actividad de la PPO inicial para porcentaje de inhibición	-
$x$	Actividad de la PPO en un tiempo dado para porcentaje de inhibición	-

## INTRODUCCIÓN

México es el primer productor de *Persea americana Mill* comúnmente denominado aguacate con 32% de la producción mundial y una exportación del 8% (SE, 2012). Actualmente ha ido incorporándose a la dieta de un gran número de personas debido a alto contenido en lípidos monoinsaturados (Navch *et al.*, 2012). En cambio, el chinene o *Persea schiedeana Ness* se diferencia de otras perseas por tener una pulpa fibrosa de color beige y endocarpio grande ovalado, crece de manera silvestre en las regiones de Veracruz y Tabasco, posee características organolépticas buenas para la comercialización en mercados de mayor exigencia. La vida de anaquel de estas variedades es de  $\pm 4$  semanas y  $\pm 6$  días a partir del corte, respectivamente; durante su traslado y almacenamiento son susceptibles al deterioro, acompañados de reacciones enzimáticas, provocando cambios en la acidez, ablandamiento de tejidos y pardeamiento enzimático. Diferentes esfuerzos se han encaminado a la obtención de un puré estable conservando las características sensoriales de color, sabor, olor y textura. Actualmente existen diversos métodos de conservación de la pulpa de aguacate: deshidratación, hidrolisis de alta presión, radiación gamma y rayos X, antioxidantes químicos para retardar el proceso oxidativo etc. (Restrepo *et al.*, 2012) Sin embargo, la demanda del consumo de alimentos naturales mínimamente procesados ha orientado a la búsqueda de nuevas alternativas naturales para su conservación a fin de reducir el ataque microbiano y la oxidación.

Dentro de las alternativas naturales, existen diversos vegetales antioxidantes, algunos pertenecientes al género *Allium Brassica* capaces de conservar durante más de 30 días la pulpa de aguacate (Bustos *et al.*, 2015) y otros aportan diversas propiedades de conservación, tales como, mucílago de nopal y apio. El mucílago actualmente ha sido objeto de numerosos estudios en la industria alimenticia dado que modifica la viscosidad, elasticidad, retención de agua y tiene un alto poder gelificante y emulsificante (Sáenz *et al.*, 2003). Algunas aplicaciones son en recubrimientos de frutas, debido a sus buenas propiedades reológicas que permiten conservar la vida útil de los frutos frescos (Abraham, 2008 y Mendoza, 2011). En tanto que el apio, una

hortaliza, líquido o en polvo se ha utilizado debido a altas concentraciones de nitratos para la conservación de productos cárnicos, demostrando que no tiene efectos significativos en sabor (Montiel *et al.*, 2013). Además de ser considerado por la FDA como sustancia del tipo GRAS, es decir, agente microbiano de origen natural y aditivo para preservar y/o mejorar las características del alimento (Rodríguez, 2011).

Debido a lo anterior, el presente estudio de investigación busca complementar esta información con el comportamiento de la variedad Hass y Chinene en el procesamiento del puré, con la adición de concentrado de apio y mucílago de nopal en condiciones de congelación para inhibir o retardar posibles reacciones enzimáticas y cambios fisicoquímicos en la pulpa de aguacate, analizando propiedades como color, ácidos grasos y pH que puedan tener efectos negativos en la composición nutrimental del aguacate, durante un período de almacenamiento de 4 meses a fin incrementar el tiempo de vida útil proporcionando un producto estable y de buena calidad. Así mismo se garantiza la inocuidad de la pulpa mediante un análisis microbiológico, bajo normas generales mexicanas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la adición de concentrados de vegetales en puré de aguacate durante el almacenamiento en congelación.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1.- Formular preparaciones de puré de aguacate con concentrado de vegetal.
- 2.- Caracterizar fisicoquímicamente los purés adicionados de concentrado de vegetal, antes y después de la congelación.
- 3.- Validar la inhibición de la actividad de la polifenoloxidasa y oxidación de grasas en la formulación de pulpa de aguacate.
- 4.- Analizar microbiológicamente la mejor formulación de puré de aguacate después del período de almacenamiento.

## JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el aguacate es un cultivo de gran importancia económica dado que México es el principal productor de aguacate a nivel mundial. Sin embargo, sólo exporta cerca del 8% de su producción total debido a ciertas limitantes de manejo y conservación del fruto. En el caso del transporte y mercadeo, se debe al tiempo de envío el aguacate llega en estado de madurez, a pesar de tecnologías como atmósferas controladas o uso de frigoríficos. Sumado a lo anterior, el volumen del fruto y movimiento de traslado provocan daños físicos visible en el producto, es decir, que no sea aceptable su presentación al consumidor. Esto provoca plantear la alternativa de conservación de puré de aguacate mediante la adición de concentrados de vegetales para inhibir el pardeamiento enzimático, potenciando sus cualidades organolépticas y nutritivas. Aplicando la tecnología de congelación como medio de retardar posibles cambios en la vida del puré.

# **CAPÍTULO 1**

## **FUNDAMENTOS TEÓRICOS**

## CAPÍTULO I FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 1.1 Generalidades del aguacate

El aguacate o palta deriva de la palabra nativa "aoacatl" o "ahuacatl", pertenece a la familia de las Lauráceas, originaria de la zona del occidente de México y Guatemala. En estas zonas se generó la primera especie botánica, *Persea americana Mill*, fruto apreciado en el mercado mundial por su consistencia suave, exquisito sabor, alto valor nutritivo y amplias posibilidades de uso tanto culinario como industrial (Sandoval *et al.*, 2010). Actualmente su distribución natural va desde México hasta Perú, pasando por Centro América, Colombia, Venezuela y Ecuador, debido a su facilidad de adaptación climática subtropical o templado (Palacios, 2010).

Su descripción botánica dependiendo la variedad, el árbol de aguacate abarca desde plantas de poca altura y follaje frondoso, hasta plantas altas y esbeltas, de madera frágil. Aunque se clasifica como hoja perenne, los árboles de algunas variedades pierden todas sus hojas en la época de floración. A menudo, las hojas jóvenes son pubescentes de color más o menos rojizo o bronceado, pero en la madurez, son lisas y verdes (Morera, 1983). La familia de las lauráceas se encuentra conformada por 52 géneros y cerca de 3500 especies, su clasificación botánica se describe en la tabla 1.1

Tabla 1.1 Clasificación botánica del género <i>Persea americana</i>	
Clasificación	Vegetal
Reino	Plantae
División	Spermatophyta
Subdivision	Angiospermae
Orden	Ranales
Familia	Lauracea
Género	Persea

Morera 1983

En general, el aguacate es una baya que posee endocarpio, mesocarpio, pedúnculo y epicarpio; el mesocarpio es oleaginoso, suave y casi insípido, manifiesta una respiración acelerada después de haber alcanzado su madurez (aproximadamente 10 días después de la cosecha), se encuentra rodeado de un epicarpio que presenta una textura lisa o rugosa, se sostiene a la rama por su pedúnculo, el cual, sobresale del fruto como se observa en la Figura 1.1. El color dominante es el verde en diferentes tonalidades como brillante, claro, oscuro y amarillento. Cada fruto contiene en su cavidad central una semilla de forma variada, predominando la redonda, ovalada y la cónica (PROHACIENDO, 2001).



Figura 1.1 Componentes del aguacate variedad *Persea americana* Mil.

## 1.2 Variedad de aguacates

En primera instancia, fue clasificado en base a su composición genética, dando origen a la formación de tres grupos ecológicos o variedades como son: la raza mexicana, la raza guatemalteca y la raza antillana (Bernal y Díaz, 2008).

Existen otras variedades de *Persea* como aguacatillos de diversas regiones, que pueden ser usadas como patrones por su resistencia a enfermedades y otros factores adversos; entre ellas están: *Persea cinenerascens*, *Persea longipes*, *Persea chamissonis*, *Persea floccosa* y *Persea schiedeana* (Bernal y Díaz, 2008). Dos variedades de aguacate, una de gran producción nacional y otra nativa de la región, se describen a continuación.

### 1.2.1 Aguacate Hass

El aguacate Hass, es la variedad comercial de mayor importancia económica, obtenida de una rigurosa selección a partir de la raza guatemalteca, tiene un peso entre 150 a 250 g, epidermis gruesa, arrugada y quebradiza. La pulpa es cremosa con una capa externa de color verde y una interna verde amarillo, no tiene fibras y posee un contenido de aceite alrededor del 20%, la semilla es de tamaño pequeño y esférica. Se encuentra disponible durante todo el año, por lo que el árbol es sensible al frío y humedad ambiental, sin embargo, para su óptimo crecimiento se recomienda cultivarlo en regiones libres de heladas, de vientos calurosos y secos (Rodríguez, 1992).

### 1.2.2 Aguacate *Schiedeana*

La variedad *Persea schiedeana* Nees es un árbol frutal conocido comúnmente en Veracruz y Tabasco como chinene y chinin, respectivamente. En forma silvestre crece principalmente en los estados de Puebla, Oaxaca, Chiapas, Tabasco, Veracruz y sur de Tamaulipas (Sánchez, 1999). El chinene como fuente de salud es reconocido de manera empírica por mejorar la digestión; sin embargo, los estudios relacionados con las características del fruto son escasos. Presentan pulpa con buenas características organolépticas, de sabor cremoso constituido por fibras, color verde amarillo y cascara delgada. Es por ello que este fruto es apto para comercialización en mercados de mayor exigencia y competencia comercial, encontrando que presentan concentraciones de ácido oleico y palmítico similares al aguacate Hass (Cruz *et al.*, 2007). En la Figura 1.2 se muestran esta variedad de aguacate.



Figura 1.2 Aguacate variedad *Persea schiedeana* Nees.

### 1.3 Valor nutricional y aplicaciones

El aguacate es una fruta apreciada por sus propiedades organolépticas, nutricionales y medicinales, las cuales son determinadas dependiendo del tipo, aspecto, sabor, contenido de proteínas, vitaminas, minerales y principalmente lípidos que proporcionan una gran fuente de energía (PROHACIENDO, 2001). La porción comestible está constituida por 12 vitaminas de las 13 existentes, minerales como calcio, hierro y fósforo. Así mismo contiene diez ácidos grasos, cinco monos y poliinsaturados como: Omega-9, Omega-7, Omega-6 y Omega-3, lo que significa que son fisiológicamente asimilables, y 95% digeribles, por consiguiente, no se deposita en el tejido graso del cuerpo. Además de contener fibra, proteínas, carbohidratos, y 74% de agua (Palacios, 2010). En la tabla 1.2 se muestra el análisis composicional en 100 g de pulpa de aguacate variedad Hass.

Tabla 1.2 Composición del aguacate en 100 g de pulpa	
Componente	Valor (%)
Humedad	87.7
Carbohidratos	12.2
Grasa o lípidos	26.4
Proteína	2.4
Ceniza	1.7
Fibra cruda	3.7
Calcio	3.6
Fosforo	64.1

(Morera, 1983)

La importancia alimenticia del aguacate se debe a que aportan beneficios al ser humano. O'Toole (2000) informó que investigaciones del Instituto Nacional de Cáncer de USA desde 1992 demuestran que el péptido glutatión del aguacate (27.7 mg/100g), funciona como antioxidante, neutralizando radicales libres que pueden causar daño a células durante el envejecimiento, daños al corazón y diversos tipos de cáncer, incluyendo el de boca y faringe.

Otras investigaciones en enfermedades tratadas demostraron que el aguacate tiene beneficios importantes por los ácidos grasos monoinsaturados en la dieta, lo que evita la hiperlipidemia al disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos, además de no provocar la disminución del nivel de lipoproteínas de alta densidad (Cornejo, 2010). Dado lo anterior, el 95% de la producción del país se consume como fruto fresco en: productos untables de pulpa, aceites tradicionalmente para fines cosméticos, farmacéuticos y, de uso comestible como aceite extrafino. Actualmente el puré de aguacate congelado ha tenido mayor demanda de producción, al ser utilizado como base para productos untables en canapés, papas fritas, helados y galletas saladas entre otros (Olaeta, 2003).

#### **1.4 Producción nacional e internacional**

En 2010 la producción total de aguacate en la República Mexicana reportó un poco más de 1 millón 77 mil toneladas. Donde la mayor producción se focaliza en el estado de Michoacán, lugar donde se concentran 920 mil toneladas de la fruta equivalente al 85% del total de la producción, siendo el productor líder. Ofertando en promedio 76 mil toneladas mensuales que se destinan al mercado internacional y doméstico. Jalisco produce 29 mil toneladas, representan el 3% de la producción nacional. En tanto que, Morelos, Nayarit, Edo. México, Guerrero y Yucatán en conjunto producen 97 mil toneladas, las cuales representan el 8% de la producción total (SAGARPA, 2011) (Figura 1.3). En la actualidad el aguacate es considerado como una fruta de segunda generación en el mercado mundial, al igual que el plátano, piña y mango, ha dejado de ser un fruto exótico para incorporarse cada vez más a la dieta de un importante número de países, por ejemplo, USA, Unión Europea, Canadá y Japón. El aguacate se cultiva en 58 países con una producción mundial de 2.6 millones de ton (FAOSTAT, 2002) con una tasa media de crecimiento del 3.1 % en el periodo 1997-2001. La FAO estimó una producción para México de aguacate de 3.1 millones de ton en el 2010, que corresponde al 40% de la producción mundial total.

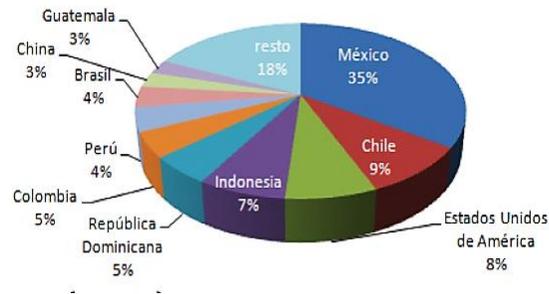


Figura 1.3 Producción mundial de aguacate (FAO, 2009).

Actualmente, México exporta alrededor de 70,000 ton que corresponde al 8 % de la producción total, cifra que contrasta con otros países como Israel que exporta más del 50% de su producción o Sudáfrica y República Dominicana que exportan el 45 y 44%, respectivamente. Las limitantes de los mercados internacionales son por el establecimiento de períodos de exportación o por la lejanía, como es el caso del mercado europeo. Se requiere 20 a 24 días de traslado marítimo y el fruto arriba en avanzado estado de madurez pese al uso de contenedores climatizados y/o atmosferas controladas de alto costo (Osuna, 2004). Se estiman pérdidas poscosecha a nivel mundial en frutas del 2 al 23% en países desarrollados y hasta 50% en países en desarrollo (Kader, 2005). Estas pérdidas ocurren en la pos-cosecha, especialmente por la manipulación y transporte (Osuna, 2004).

Anudado a esto, 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, 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. El aguacate es considerado un fruto climatérico, el cual, presenta la desventaja de ser altamente perecedero, es por ello que la problemática de la industrialización de puré o pulpa es el rápido oscurecimiento enzimático durante el procesamiento y almacenamiento, fenómeno de la oxidación bioquímica que es catalizada por enzimas específicas que están presentes en la misma pulpa.

## 1.5 Causas de alteración fisicoquímica del aguacate

Para determinar la vida de anaquel del alimento, es esencial conocer que factores la limitan, 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 *et al.*, 2003):

**a) 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, etc.

**b) Biológicas y microbiológicas:** estas causas 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. El proceso de deterioro de naturaleza microbiana es un fenómeno variable, dado que está condicionado por el tipo y número de especies microbianas presentes, 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 a 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.

**c) Causas químicas:** pardeamiento no enzimático denominado 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 modificaciones en el olor y sabor de los alimentos, tales como color oscuro que se desarrollan durante el almacenamiento (Casp *et al.*, 2003).

## 1.6 Enzimas

Una enzima es una proteína que actúa como catalizador biológico, llevando a cabo reacciones bioquímicas a gran rapidez, en general presenta un elevado grado de especificidad (Badui, 2006). Las enzimas y sustratos se encuentran normalmente en alimentos, localizados en compartimentos tisulares o celulares distintos, separados por membranas (Cheftel, 1992). Su estudio en el campo de los alimentos es de interés debido a que son responsables de cambios químicos que pueden resultar en beneficio (maduración de frutas) o desfavorables (oxidación de ácidos grasos y oscurecimiento enzimático) (Badui, 2006). Estas reacciones enzimáticas implican pérdida de nutrientes y calidad, en general dan origen a compuestos de color oscuro (AID, 1968.). Tal reacción ocurre ante la presencia de tres componentes oxígeno, enzima y sustrato oxidables (tirosina, catecol, ác. clorogénico, ác. cafeico, ác. gálico, hidroquinonas antocianos o flavonoides entre otros). Si falta uno de estos componentes o se impide que actúe, se evita el oscurecimiento enzimático (Schmidt-Hebbel, 1981).

El pardeamiento enzimático surge cuando las frutas presentan daño mecánico o fisiológico, cuando se elimina el epicarpio o cáscara, cortan, golpean o comprimen (Schmidt-Hebbel, 1981) un ejemplo de esto se visualiza en la Figura 1.4. El aguacate contiene las enzimas: amilasa, celulasa, pectinmetilesterasa (PME), *L*-fenilalanina amoniliasa (FAL), polifenoloxidasas (PFO) y peroxidasa (Tirilly *et al.*, 2001); estas dos últimas de importancia en elaboración y conservación de la pulpa debido a las modificaciones organolépticas mencionadas anteriormente.



Figura 1.4 Fruto afectado por el pardeamiento enzimático.

### 1.6.1 Polifenoloxidasas

La comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB) clasifica la polifenoloxidasas (PPO) con el número 1.10.3.1 dentro de la clase Oxidoreductasas (Nevin-Ridley, 2009). Dentro de los sustratos de los cuales actúa se encuentra principalmente: el catecol, seguido en orden decreciente por catequinas, ácido cafeico, ácido clorogénico y dehidroxifenilalanina; no tiene ninguna actividad sobre fenoles monohidroxilados (Tabla 1.3) (Baile y Young, 1971). La característica estructural más importante de la PPO es la presencia en su centro activo de dos átomos de cobre, unidos a histidinas; alrededor de los cobres, se sitúan aminoácidos hidrofóbicos, con anillos aromáticos importantes para la unión de los sustratos (Calvo, 2007). En el aguacate es considerada como la enzima más importante en las reacciones de pardeamiento, cabe mencionar que en estado de madurez avanzado presentan la desventaja de tener mayor actividad enzimática y mayor concentración de fenoles, provocando un tiempo corto de vida (Tirilly *et al.*, 2001).

El pardeamiento enzimático en los vegetales se cree que desempeñan importantes funciones fisiológicas en la prevención al ataque de insectos y microorganismos (Marshall *et al.*, 2000). En efecto Cheftel en 1976 considera que los polímeros coloreados que se forman cuando un tejido se lesiona, pueden constituir una defensa contra la penetración de microorganismos, o incluso retrasar su proliferación (Braverman, 2011).

Tabla 1.3 Sustratos específicos de la polifenoloxidasas	
Sustrato	Acción relativa
Catecol	100
Ácido clorogénico	33
Ácido cafeico	33
Catequina	81
Dehidroxifenilalanina	12

Fuente: Knapp 1965, citado por Nicolas *et al.* (1994)

### 1.6.2 Mecanismo de reacción de la catálisis enzimática

La etapa inicial del pardeamiento enzimático es la oxidación catalizada por enzimas, de los derivados del catecol para generar las o-quinonas correspondientes (Figura 1.5). Las enzimas involucradas se denominan polifenoloxidasas, catecolasas o polifenolasas.

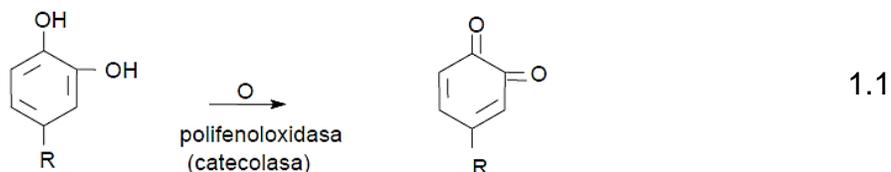


Figura 1.5 Oxidación de los derivados catecol para generar o-quinonas.

Frecuentemente, el sustrato original no es un polifenol si no un monofenol ej. tirosina. En este caso, el sustrato primero se hidroxila a o-difenol correspondiente catecol (Figura 1.6). La enzima que interviene es una monofenolasa o cresolasa.

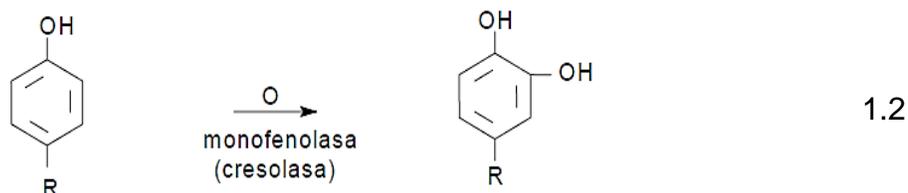


Figura 1.6 El monofenol hidroxila al o-dife nol correspondiente (catecol).

La actividad de la cresolasa forma la hidroxilación de la tirosina a 3-4-dihidroxiifenilalanina (Figura 1.7). Esta reacción es importante en el pardeamiento enzimático del parénquima de las papas.

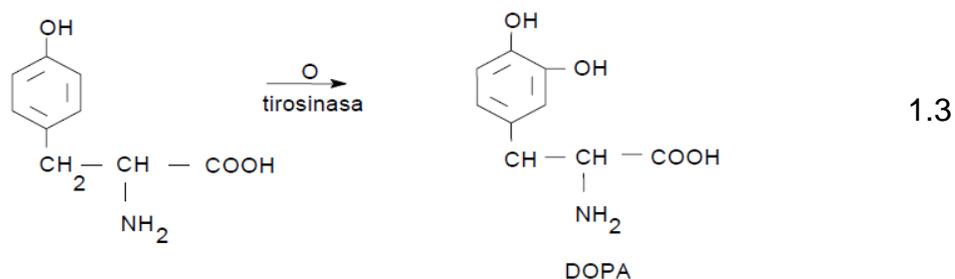


Figura 1.7 Hidroxilación de la tirosina a 3-4-dihidroxiifenilalanina (DOPA).

En los preparados enzimáticos obtenidos a partir de tejidos vegetales resulta difícil separar dos tipos de actividad de la fenolasa. Los primeros investigadores sobre el tema llegaron a cuestionar la existencia de la actividad de la cresolasa, y postularon la oxidación no enzimática de los monofenoles por las o-quinonas de la siguiente manera (Figura 1.8) (Calvo, 2007).

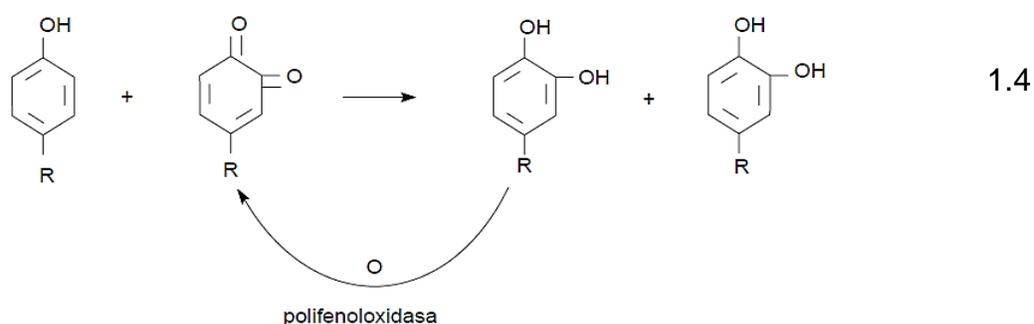


Figura 1.8 Oxidación no enzimática de los monofenoles por las o-quinonas.

### 1.6.3 Prevención del pardeamiento enzimático

Los métodos usados para prolongar la vida de anaquel del aguacate son empleados en combinación con métodos físicos y químicos para ser controlado el pardeamiento enzimático. Los métodos físicos utilizados son: reducción de temperatura Liofilizados, deshidratación osmótica, secado por aspersión, adición de inhibidores químicos (sulfatos, agentes antioxidantes o reductores, acidulantes, ácidos y compuestos quelantes), evitando el contacto del oxígeno con la superficie de corte, estabilizando el pH de la polifenoloxidasas (cerca o menores a 3), desnaturalizando la enzima (Hernández, 2009) y almacenamiento en congelación son algunos ejemplos. Actualmente se están desarrollando nuevas tecnologías de conservación por tratamiento con rayos X, gamma o haz de electrones, luz intensa y procesamiento de la pulpa usando el secado hasta la extracción del aceite (Restrepo, 2012). Algunas pulpas que se comercializan en la actualidad contienen aditivos químicos que pueden alcanzar niveles superiores al 20% disminuyendo la calidad del producto final (Olaeta, 2003). La tendencia de los consumidores son productos mínimamente procesados.

Una de las medidas usadas para controlar la actividad enzimática de vegetales es el uso baja temperatura durante el manejo, procesamiento y almacenamiento. A baja temperatura no sólo reduce o inactiva la acción enzimática, prevé la calidad del producto, además la cinética de metabolismo desciende significativamente esto incrementa la conservación del producto (Pérez, 2003). Procesos como la ultra congelación, congelación y refrigeración, son tecnologías que permiten preservar significativamente la calidad sensorial y nutricional de los alimentos, además de tener costos asumibles comercialmente (Umaña, 2007). Sin embargo, el conocimiento para preservar la pulpa de aguacate es incipiente, por lo que se deberá generar mayor conocimiento para conservar la calidad del producto final.

### **1.7 Tecnología de la congelación**

La técnica de congelación se basa en el proceso de reducción de la temperatura por debajo de aquella en la que se comienzan a formar cristales en material alimenticio. Debe su poder conservador a la casi total eliminación del agua líquida por transformación en hielo (reducción de la actividad de agua), obstaculizando la actividad microbiológica y enzimática, y por consecuencia reducción de la actividad biológica por descenso de la temperatura que generalmente se lleva hasta un valor entre -4 y -10 ° C (Orrego, 2010) temperatura de elección a nivel internacional es -18°C. Hay que destacar que, después de la refrigeración, la congelación es el tratamiento más apropiado de conservación de los alimentos. Después de la descongelación los alimentos son casi idénticos a los productos crudos empleados como materia prima (Umaña, 2007). La evolución de la temperatura con el tiempo durante el proceso de congelación es denominada curva de congelación (Figura 1.9). Esta curva posee las siguientes secciones las cuales son descritas a continuación:

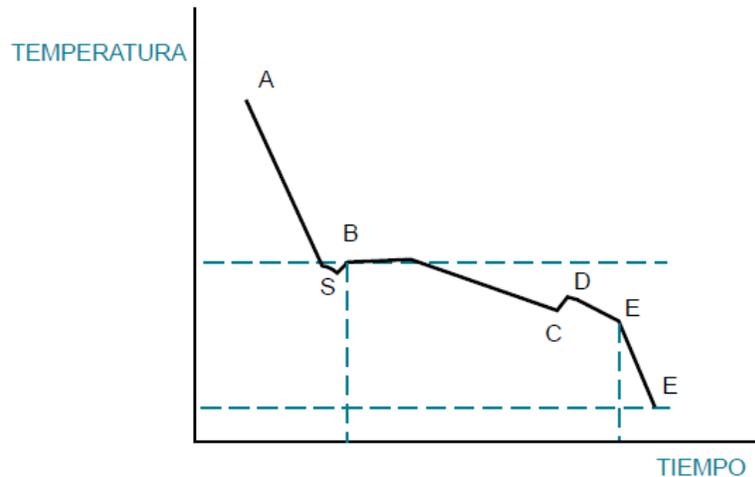


Figura 1.9 Curva de congelación (Umaña, 2007).

**AS:** el alimento se enfría por debajo de su punto de congelación inferior a  $0^{\circ}\text{C}$ . En el punto S, al que corresponde una temperatura inferior al punto de congelación.

**SB:** la temperatura aumenta rápidamente hasta alcanzar el punto de congelación, pues al formarse los cristales de hielo se libera el calor latente de congelación.

**BC:** el calor se elimina a la misma rapidez que en las fases anteriores, eliminándose el calor latente con la formación de hielo, permaneciendo la temperatura prácticamente constante. El incremento de la concentración de solutos en la fracción de agua no congelada provoca el descenso del punto de congelación, por lo que la temperatura disminuye ligeramente. En esta fase es en la que se forma la mayor parte del hielo.

**CD:** uno de los solutos alcanza la sobresaturación y cristaliza. La liberación del calor latente correspondiente provoca el aumento de la temperatura hasta la temperatura del soluto.

**DE:** la cristalización del agua y los solutos continúa.

**EF:** la temperatura de la mezcla de agua y hielo desciende (Umaña, 2007).

### 1.7.1 Temperatura de congelación de un alimento

La cantidad de agua del alimento determina la formación de hielo en relación directa a mayor temperatura de congelación. La formación de un cristal de hielo requiere primeramente de una nucleación, puede ser homogénea o heterogénea, ésta última es la más frecuente en el caso de los alimentos, donde los núcleos se forman sobre partículas en suspensión o sobre la pared celular. La nucleación es la combinación de moléculas dentro de una partícula ordenada de tamaño suficiente para sobrevivir sirviendo a su vez de sitio para el crecimiento cristalino. Los alimentos no muestran un punto de congelación definido, como lo tienen las sustancias puras, sino que congelan en un rango apreciable de temperatura, aun cuando normalmente la mayoría del agua presente lo hace a un intervalo más estrecho (usualmente entre  $-1$  y  $-5^{\circ}\text{C}$  para la mayoría de los alimentos). Cabe mencionar que el aguacate tiene una temperatura de inicio de congelación de  $-2.7^{\circ}\text{C}$ . El congelado de pulpa de aguacate procesada en puré, resulta adecuada, debido a que conserva índice de calidad sensorial, color, pH y acidez. A diferencia del congelado de la pulpa de aguacate procesada en mitades, debido a que sufre un fuerte pardeamiento enzimático una vez descongelada, afectando dichos índices de calidad (Valenzuela, 1996).

### 1.8 Vegetales

Los vegetales son propios del reino al que pertenecen los organismos que viven y crecen sin poder moverse de lugar voluntariamente, en especial los que crecen fijados al suelo y se nutren de las sales minerales y del anhídrido carbónico que absorben por las raíces o por los poros de las hojas. En su composición son ricos en fibra, vitaminas y minerales, a la vez que son pobres en lípidos y proteínas. El agua es el principal componente de las mismas, supone un peso aprox. 90% de su peso, seguido por hidratos de carbono, principalmente polisacáridos. Este grupo de alimentos destaca por su aporte en vitamina C y carotenos, que les conceden alta capacidad antioxidante, también por la cantidad y calidad antioxidante los compuestos fenólicos totales (flavonoles, catequinas y antocianinas) que se encuentra en la mayoría de los

vegetales. Existen otras series de compuestos azufrados que potencian las defensas antioxidantes del organismo. Algunos de ellos como el disulfuro y sulfuro de alilo se encuentran en plantas del género *Allium* (cebolla y ajo) y el benzil isotosianato en especies del género *Brassica* (brócoli, repollo, coliflor) (Aranceta, 2006).

Actualmente se ha encontrado que algunas especies del género vegetal con ciertas propiedades pueden ayudar a la conservación de ciertos alimentos, puesto que son ricos en antioxidantes naturales (Bustos *et al.*, 2015; Jacobo, 2013). Algunos vegetales fueron tomados para el desarrollo de esta investigación como el apio y mucílago de nopal debido a ciertas propiedades que resultan ser tema de interés.

### 1.8.1 Apio

El apio pertenece a la familia de *umbeliferae*, se distinguen dos variedades botánicas: *Apium graveolens var. dulce* y *Apium graveolens var. Rapaceum*. Tiene raíz pivotante, potente y profunda, con raíces secundarias superficiales. Posee hojas grandes que brotan en forma de corona; el pecíolo es una penca muy gruesa y carnosa que se prolonga en gran parte del limbo (Figura 1.10). La floración en el apio se motiva principalmente por la acción de temperatura (10°C), actuando entre 14 a 28 días. (Calderón *et al.*, 2002). Es originario de Europa, se cultiva como hortaliza para condimentar carnes, sopas y ensaladas debido a su sabor fresco característico, de textura crujiente. Se considera que la raíz, hojas y semillas de la planta ofrecen beneficios medicinales. Estudios recientes demuestran que ciertos productos químicos en semillas del apio pueden ayudar con la tensión arterial alta, artritis y ansiedad.



Figura 1.10 *Apium graveolens* (Fonnegra y Jiménez, 2007).

En la tabla 1.4 se presenta las propiedades nutricionales del apio. En cuanto a su composición química, contiene 3% de aceite esencial constituido básicamente por *d*-limodeno y del 60% contiene apiol, ácido linoleico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido petroselinico (Calderón *et al.*, 2002).

Tabla 1.4 Composición del apio por cada 100 g	
Composición	Valores
Calorías	17 cal
Agua	92%
Glúcidos	1 g
Proteína	2 g

(Calderón *et al.*, 2002)

Posee altas concentraciones de nitratos (2114 ppm), los cuales funcionan como agentes antimicrobianos y antioxidantes, evitan la oxidación de las grasas, limitando la formación de compuestos de bajo peso molecular que producen sabores y olores desagradables. El jugo de apio es utilizado en la preparación de carnes curadas (jamón y salchicha), aporta muy pocos pigmentos y tiene un perfil de sabor suave, no compite con el sabor del producto final, versátil para generar productos libres de aditivos sintéticos con mejor aceptación por los consumidores (Sebranek y Bacus, 2007). Además, este vegetal se encuentra en la lista de especias, aromatizantes y saborizantes naturales considerados GRAS (generally recognized as safe) por la FDA (Food and Drug Administration). En la tabla 1.5, figuran productos vegetales de los que se obtienen aceites esenciales, oleorresinas, y extractos naturales incluyen destilados para uso como agentes antimicrobianos (Roberts, 1986), con el propósito de controlar el crecimiento de microorganismos (bacterias y hongos). Existen pocos estudios enfocados a comprender el mecanismo involucrado en la inhibición microbiana por especias y sus aceites esenciales. Sin embargo, dada la estructura fenólica de muchos de los compuestos con actividad antimicrobiana presentes en especias y aceites esenciales, el modo de acción debe ser similar al de otros compuestos fenólicos (Davidson, 1997).

Tabla 1. 5 Lista de FDA de especias, aromatizantes y saborizantes GRAS

Agentes antimicrobianos naturales		
Ajo	Canela	Manzanilla
Ajonjolí	Cardamomo	Mejorana
Albahaca	Cebolla	Mostaza
Alcaparra	Cilantro	Nuez moscada
Alfalfa	Clavo	Orégano
Anís	Glicirrizo	Perejil
Apio	Hinojo	Pimienta
Azafrán	Jengibre	Vainilla

(Hernández, 2003)

### 1.8.2 Nopal

La especie *Opuntia ficus-indica*, conocida popularmente como nopal pertenecen a la familia de *Cactaceae*. Es una planta importante de diverso uso en nuestro país, destaca como verdura. Originaria de América tropical y subtropical se encuentran en una gran variedad de condiciones agroclimáticas, en forma silvestre o cultivada. Las características de estas especies son variables, diferenciándose en la forma de los cladodios, en la presencia o ausencia de espinas, en tamaño y color de los frutos y, en otras características botánicas (Sáenz, 2007).

### 1.8.3 Mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*)

Este compuesto se encuentra presente tanto en los cladodios como en la cáscara y pulpa del nopal en distintas proporciones, respectivamente; siendo un polisacárido de alto peso molecular. Este hidrocoloide oferta una gran gama de agentes espesantes de amplio uso en la industria de alimentos, cosméticos, farmacéutica, construcción y ambiental. Su poder viscosante, gelificante y emulsificante está siendo actualmente estudiado. También se le atribuye propiedades como reemplazantes de grasas de diversos alimentos, así como ligante de sabor (Sáenz, *et al.*, 2003).

Se encuentra conformado principalmente por *L-arabinosa* (24.6-42%), *D-xilosa* (22-22.2%), *D-galactosa* (21-40.1%), *L-ramnosa* (7-13.1%) y *ácido galacturónico* (8-12.7%) (Sáenz *et al.*, 2004). En la tabla 1.6 se describe su composición química promedio.

Tabla 1.6 Composición química del mucílago	
Componentes	valores (%)
Humedad	84.2
Proteína	8.9
Cenizas	0.7
Azucares	4.1

(Rodríguez, 2011)

Algunos estudios han utilizado el mucílago como agente emulsionante, con propiedades reológicas; reduce la tensión superficial y estabilizante de emulsiones tipo aceite en agua (Sáenz, 2007). Hidratado, este polisacárido es altamente susceptible al ataque microbiano debido a su composición y actividad de agua (mayor a 0.8), por lo que su vida de anaquel es de 2 y 3 días a 25°C. Para su conservación es conveniente deshidratarlo (Martínez *et al.*, 2010 y Salinas, 2014). Además de tener rendimientos del  $2.4 \pm 1.5\%$  en base seca de acuerdo con la metodología propuesta por Arizmendi (2004). Dado lo anterior se ha comenzado a investigar el uso del mucílago de nopal en la elaboración de películas o recubrimientos comestibles aplicados a frutas y hortalizas (Salinas, 2014). May (2009) desarrollo un recubrimiento comestible a base de mucílago de nopal (*opuntia ficus indica*) para incrementar el tiempo de vida de anaquel de la fresa. Arizmendi (2004) elaboró películas comestibles a partir de mucílago de nopal de la especie *opuntia tormentosa* para optimizar el uso de dos plastificantes en la elaboración de la misma, además de hacer las correspondientes caracterizaciones mecánicas. Esta aplicación es una nueva alternativa para la conservación de alimentos altamente perecederos.

## 1.9 Análisis fisicoquímicos

Además del valor nutricional de los alimentos, existen otras propiedades de igual importancia que hacen que los alimentos sean consumibles y aceptables comercialmente. El objeto de procesar es producir, transformar o conservar estas propiedades (Cheftel *et al.*, 1989). Sin embargo, existen cambios fisiológicos en los alimentos que van acompañados de un aumento en la tasa de respiración y producción de etileno, una pérdida de sabor, color y vitaminas, acelerándose también los procesos de deterioro, con la consecuente pérdida de calidad y reducción de la vida de anaquel (Casado, 2004). El deterioro de los alimentos, como los frutos y vegetales frescos involucra cambios fisicoquímicos, principalmente en deterioro de la textura, variación en el contenido de sólidos solubles y ácidos (Salinas, 2007).

### 1.9.1 Color

El color de un alimento involucra importantes consideraciones para el consumidor, relacionadas con la preferencia y aceptabilidad de un producto. El papel que el color juega en la reacción del consumidor hacia un alimento es automático y por ello, debe ser conservado al máximo. Muchos de los pigmentos naturales de los alimentos se destruyen durante su procesamiento, por transformaciones químicas que tienen lugar como consecuencia de cambios en el pH, o por oxidaciones durante el almacenamiento. Como consecuencia de ello, el alimento elaborado pierde su color característico y, por tanto, parte de su valor (Beretta, 1997). Los métodos de medición del color de los alimentos pueden clasificarse en tres grupos:

- 1) Métodos visuales.
- 2) Espectrofotometría.
- 3) Colorimetría.

La aplicación e interpretación de cada uno requiere una formación física, fisiológica, psicológica, instrumentación y estadística.

El espacio de color Hunter L, a, b, es un sistema que se deriva del sistema CIE, se aproxima a la apreciación visual humana, y ha sido recomendado por diversas sociedades científicas para su uso en las mediciones del color en los alimentos (Gilabert, 1992). Este sistema ubica el color mediante coordenadas equivalentes a X, Y, Z, con la finalidad de que los cambios sean iguales con respecto a la percepción, por lo que se combinó un espacio en coordenadas rectangulares ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) con otro en coordenadas cilíndricas ( $L^*$ ,  $H^*$  y  $C^*$ ) (Westland, 2001). En el sistema Hunter L, a, b, (Figura 1.11);  $L^*$  es la luminosidad,  $a^*$  es la saturación y  $b^*$  es el ángulo de tono, mientras que  $C^*$  es chroma (equivalente a la saturación, es la distancia del punto de color con respecto al punto blanco) y  $H^*$  el matiz (que proporciona información sobre la longitud dominante); el parámetro colorimétrico  $a^*$  define al componente rojo-verde, mientras que el parámetro  $b^*$  define el componente amarillo-azul (Ranganna, 1986 y Westland, 2001).

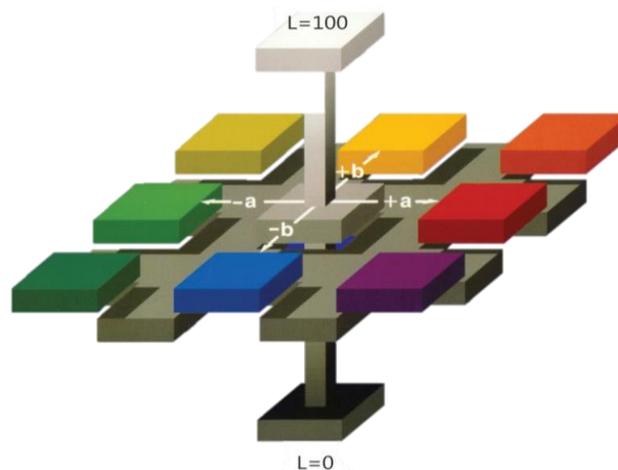


Figura 1.11 Espacio de color Hunter Lab (Source HunterLab.com).

### 1.9.2 Actividad enzimática

La cinética de una reacción catalizada por una enzima está determinada por un número de factores tanto inherentes como externos. La rapidez a la cual una enzima cataliza una reacción es conocida como “actividad enzimática”. Esta puede ser medida

por la rapidez de formación de productos o desaparición de reactivos en presencia de una cantidad de enzima dada (Engel, 1996). La actividad enzimática de la PPO está determinada por su cinética, de esta forma se puede evaluar la disminución o inhibición del pardeamiento enzimático en presencia de los antioxidantes estudiados.

Diversos métodos de medición han sido utilizados tales como; espectrofotométricos, basados en la formación de compuestos coloreados que ocurre durante la reacción con el hidrógeno y el sustrato donador. También puede ser estimada por el método de densitometría visual, o por la actividad residual después de un tratamiento por calentamiento, así como por la composición de las isoenzimas (Sharma, 1994). Los métodos colorimétricos se basan en la medida de la razón de la oxidación de un sustrato determinado, pero muchos de ellos no son satisfactorios debido a la extensión de los pigmentos formados durante la reacción enzimática no son necesariamente proporcionales a la razón de la oxidación, porque el desarrollo de los pigmentos está influenciado por el pH, la temperatura, presencia de aminoácidos, agentes reductores, cationes metálicos, etc. Los dos principales métodos para medir la actividad de la PPO son la espectrometría de absorción y los métodos de reflectancia (Ramírez *et al.*, 2003).

Muchos autores utilizan diversos procedimientos y sustratos dependiendo de la actividad estudiada, Pointing y Joslyn (1948) desarrollaron un método colorimétrico rápido basado en la medida de la razón de oxidación del catecol a pH 6.5 y 25°C de temperatura. En este procedimiento se adiciona 20 mL de buffer de pH 5 a 25°C, éste es colocado en un tubo colorimétrico con 2 mL de catecol recientemente preparado y 1 mL de extracto enzimático, luego se realiza la lectura de la absorbancia a 420 nm en un espectrofotómetro UV. En general, el resto de procesos colorimétricos se basan en este con modificaciones como: concentración de sustrato, buffer, extracto enzimático, tipo de sustrato y forma de extraer la enzima (Joslyn 1970).

### 1.9.3 Cuantificación de la actividad enzimática

La potencia o actividad de una enzima no puede medirse en términos de su concentración, ya que puede estar presente, pero en forma desnaturalizada y sin funcionalidad; por esta razón se emplea la unidad de actividad enzimática (UPPO) definida como la cantidad de enzima que se requiere para transformar en producto una  $\mu\text{mol}$  de sustrato por minuto, en las condiciones óptimas de PH y temperatura. Para la determinación se debe medir la velocidad inicial de consumo de sustrato o la aparición de producto ( $\Delta P/\Delta t$ ),  $\Delta P$  equivale a la cantidad de sustrato y de producto que se transformaron en el intervalo inicial de tiempo  $\Delta t$  (Badui, 2006).

### 1.9.4 Oxidación de lípidos

La oxidación de lípidos, generalmente conocida como rancidez o enranciamiento, es causada por una reacción bioquímica entre las grasas y el oxígeno. Durante este proceso, los ácidos grasos de cadena larga son degradados, formándose compuestos de cadenas cortas. Uno de los productos de esta reacción es el ácido butírico, el cual produce el característico sabor a rancio (Nickerson y Karel, 1964).

Uno de los factores que influencia el proceso de rancidez es la temperatura. Es así que, a bajas temperaturas, como en la refrigeración o congelación, la reacción ocurre, pero a muy baja velocidad. Consecuentemente, en los alimentos frescos listos para consumir mantenidos a temperatura de refrigeración, la proliferación de bacterias y, por ende, el deterioro del producto ocurrirá generalmente antes que la rancidez pueda ser detectada (Opazo *et al.*, 2003). Por su alto contenido en ácidos grasos insaturados, la palta es muy susceptible a la rancidez oxidativa e hidrolítica debido a la acción del oxígeno y de hongos hidrolíticos, respectivamente, reacciones que inducen aromas y sabores extraños que alteran los caracteres organolépticos del producto final (Nickerson y Karel, 1964) haciendo que el alimento sea inaceptable para el consumidor y reduciendo o limitando su vida útil. Para valorar el grado de oxidación de las grasas se han puesto a punto una gran variedad de métodos. Sin embargo, ninguna

de las pruebas por si solas puede medir todas las reacciones de oxidación de una vez, ni es capaz de medir todas las etapas del proceso de oxidación.

Existe tres tipos de rancidez dependiendo de los agentes causales de esta alteración:

- Rancidez biológica, es causada por la presencia de microorganismos vivos.
- Rancidez estónica, debido a la oxidación de ácidos grasos saturados.
- Rancidez oxidativa, generada por la oxidación de ácidos grasos no saturados como el oleico, linoleico y linolénico (Schmidt-Hebbel, 1981).

La rancidez oxidativa se debe a la oxidación de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados con formación de peróxidos o hidroperóxidos, que posteriormente se polimerizan y descomponen dando origen a la formación de aldehídos, cetonas y ácidos de menor peso molecular, entre ellos el aldehído epihidrial. Este proceso es acelerado en presencia de la luz, calor, humedad, otros ácidos grasos libres y ciertos catalizadores inorgánicos como las sales de hierro y cobre. Además, destruye las vitaminas liposolubles, particularmente las vitaminas A y E (tocoferoles). La rancidez es un problema común en casi todas las investigaciones acerca de la conservación de pulpa de palta, que puede ser del tipo biológica u oxidativa. Aunque se considera a la rancidez de tipo oxidativa como la de mayor importancia, muchas veces es difícil la eliminación del oxígeno dentro del envase; por el contrario, la rancidez de tipo biológica, generalmente, depende sólo de la buena higiene con que se trabaje (Olaeta, 2003).

### **1.9.5 pH**

El pH se calcula por la concentración de iones de hidrógeno, indica si una sustancia es ácida, neutra o básica es un factor que controla la regulación de muchas reacciones químicas, bioquímicas y microbiológicas. En estado natural las frutas tienen pH bastantes ácidos y las verduras, carnes y pescados son ligeramente ácidos (Barreiro & Sandoval, 2001).

Los valores bajos de pH pueden ayudar a la conservación de los alimentos de dos maneras: directamente, inhibiendo el crecimiento microbiano, e indirectamente a base de disminuir la resistencia al calor de los microorganismos, en los alimentos que vayan a ser tratados térmicamente. El pH afecta a muchas propiedades funcionales como son: el color, sabor y textura de los alimentos (Ordoñez, 2015). Un factor de importancia en el crecimiento de los microorganismos es el pH. La mayoría de los alimentos presentan niveles de pH en un rango entre 2 y 7. Los microorganismos presentan pH óptimos, máximos (generalmente en la región alcalina que no es de uso práctico en los alimentos) y mínimos de crecimiento, por debajo de los cuales no se desarrollan, aunque pueden quedar viables (Barreiro & Sandoval 2006).

### **1.10 Análisis microbiológico**

Generalmente, cuando se establece la calidad de un alimento se debe considerar el aspecto microbiológico que resulta fundamental porque influye en la conservación y la vida útil del producto, pero, además, porque los microorganismos pueden ser causantes de enfermedades conocidas como enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's) cuyas siglas en inglés es FBI (Foodborne illness). De tal manera que, para garantizar inocuidad del alimento, se requiere la determinación de criterios para los microorganismos patógenos y/o toxinas y en algunos casos la utilización de microorganismos indicadores (relacionados con la presencia de un patógeno). Los microorganismos indicadores se pueden dividir en dos grupos, de los cuales uno de ellos de interés en esta investigación los Indicadores de condiciones de manejo o de eficiencia de proceso (Casp *et al.*, 2003).

#### **1.10.1 Mesófilos, termófilos y psicrófilos aerobios**

En este grupo se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse en rangos bien amplios de temperaturas inferiores y mayores a los 30° C. Todas las bacterias patogénicas de origen alimenticio son mesófilas. Esta determinación indica el grado de contaminación de una muestra y las condiciones que

han favorecido o reducido la carga microbiana, es decir indica, la calidad sanitaria del alimento y se utiliza para monitorear la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura. Desde luego, no se aplica a alimentos fermentados, y puede dar escasa información sobre el manejo del alimento cuando éste es poco favorable para el desarrollo microbiano por su pH o actividad de agua ( $a_w$ ). Se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos, reflejando la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima, además, permite obtener información sobre la descongelación incontrolada de los alimentos o los fallos en el mantenimiento de las temperaturas de refrigeración (ICMSF, 2000).

Así mismo es un indicador importante en alimentos frescos, refrigerados y congelados, en lácteos y en alimentos listos para consumir (RTE por sus siglas en inglés: ready to eat). En alimentos no perecederos es indicativo de uso de materia prima contaminada o de procesamiento insatisfactorio. Por el contrario, en alimentos perecederos indica almacenamiento a tiempos y temperaturas inadecuado (Casp *et al.*, 2003).

### **1.10.2 Hongos y levaduras**

Los hongos tienen potencial para crecer en valores extremos de pH (1-11), mientras que las levaduras lo hacen en pH de 2 a 9. Se caracterizan porque disminuyen la vida útil del producto y se les asocia con materia prima contaminada o ambiente contaminado y su presencia es indicativo de: alimentos de baja acidez y alta actividad de agua ( $a_w$ ), el crecimiento es lento. Alimentos ácidos de baja  $a_w$ , el crecimiento de hongos es mayor. Ejemplo: frutas frescas, vegetales, cereales, jugo de frutas, quesos y alimentos congelados (Casp *et al.*, 2003).

### **1.10.3 Coliformes totales**

Este grupo de bacterias pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, se caracterizan porque fermentan la lactosa con producción de gas a 35 – 37° C en 48 horas, son

bacilos gram negativos, no formadores de esporas de vida libre y se transmiten por malos hábitos de manipulación en los alimentos. Este grupo incluye los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* y *Klebsiella*. Son particularmente útiles como componentes de criterios microbiológicos para indicar contaminación postproceso térmico. La presencia de bacterias coliformes en los alimentos no significa necesariamente que hubo una contaminación fecal o que hay patógenos entéricos presentes. Algunos coliformes (*E. coli*) son comunes en las heces del hombre y otros animales, pero otros (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Erwinia*) comúnmente se encuentran en el suelo, agua y semillas. Generalmente, se encuentran recuentos bajos de bacterias coliformes en la leche cruda, vegetales, carne, aves y otros alimentos crudos, por lo que presentan poco o ningún valor para el monitoreo de los mismos.

Estos organismos se eliminan fácilmente por tratamiento térmico, por lo cual su presencia en alimentos sometidos al calor sugiere una contaminación posterior al tratamiento térmico o que éste ha sido deficiente. Esto debería generar la determinación del punto del proceso donde se produjo la contaminación, lo que puede explicarse porque probablemente existieron fallas (ausencia o deficiencia) en la refrigeración post-cocción (Madigan *et al.*, 2004).

El análisis microbiológico en la industria de alimentos se constituye en una herramienta básica para el control de materias primas, procesos y productos y manipuladores, ya que permite establecer el valor grado de contaminación biológica de estos, por lo cual es una parte fundamental (Camacho *et al.*, 2009).

### **1.11 Análisis sensorial**

La aceptación de un alimento depende de muchos factores, entre los que destacan sus propiedades sensoriales como el color, el aspecto, sabor, aroma y textura. Los compuestos responsables del aroma y del sabor son los constituyentes que están en la menor concentración, pero tienen un efecto fundamental en la calidad y aceptación de los alimentos (Badui, 2006). La Evaluación Sensorial es una disciplina científica

mediante la cual se evalúan las propiedades organolépticas a través del uso de uno o más de los sentidos humanos. Mediante esta evaluación pueden clasificarse las materias primas y productos terminados, conocer que opina el consumidor sobre un determinado alimento, su aceptación o rechazo, así como su nivel de agrado, criterios estos que se tienen en cuenta en la formulación y desarrollo de los mismos (Espinosa, 2007). Existen tres tipos principales de pruebas: las afectivas, las discriminativas y las descriptivas.

### **1.11.1 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, cual es la aceptación que tiene el producto entre los consumidores, ya que en este último caso los cuestionarios deberán contener no sólo 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 20 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 muestra la elección de un producto entre varios. Esta elección, se mide directamente, por comparación entre dos o más productos, registrando cuál 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 y Barcina, 2000).

El diseño o interpretación correcta de los resultados de la evaluación sensorial, requiere del conocimiento de los aspectos psicológicos y fisiológicos de los analizadores humanos, que se definen como un mecanismo nervioso complejo, que empieza en un aparato receptor externo y termina en la corteza cerebral. Los analizadores reciben los estímulos del mundo exterior, lo transmiten a través de un nervio conductor y lo transforman en sensaciones, las que se interpretan e integran con otras sensaciones y con la experiencia anterior conforman la percepción (Espinosa, 2007).

### **1.12 Diseño estadístico**

Los diseños factoriales se usan ampliamente en experimentos que incluyen varios factores cuando es necesario estudiar el efecto conjunto de los factores sobre la respuesta. Este tipo de diseño involucra  $k$  factores, cada uno con dos niveles. Estos niveles pueden ser cuantitativos o cualitativos. El diseño  $2^k$  es de particular utilidad en las etapas iniciales del trabajo experimental, cuando probablemente se estén investigando muchos factores (Mongomery, 2005). En general, los diseños factoriales ofrecen muchas ventajas tales como: eficiencia en los experimentos de un factor a la vez, no es necesario cuando se presenten iteraciones a fin de evitar llegar a conclusiones incorrectas, además permiten la estimación de los efectos de un factor con varios niveles de los factores restantes, produciendo conclusiones que son válidas para un rango de condiciones experimentales.

### 1.12.1 Diseño factorial $2^3$

El diseño  $2^3$  tiene tres factores,  $A$ ,  $B$  y  $C$  cada uno con dos niveles. Se utiliza la notación geométrica “+” y “-“ para representar los niveles alto y bajo de los factores, este tipo de diseño presenta un total de 8 ( $2^3=8$ ) combinaciones de tratamientos, dentro de los cuales hay 7 grados de libertad, tres grados de libertad se asocian con los efectos principales de  $A$ ,  $B$  y  $C$ . Cuatro grados de libertad se asocian con las interacciones; uno con cada una de las iteraciones  $AB$ ,  $AC$  y  $BC$  y uno con la iteración  $ABC$ . Es debido a lo anterior que para el desarrollo de la parte experimental del presente trabajo se optó por este tipo de diseño (Mongomery, 2005).

### 1.13 Antecedentes

Algunos antecedentes que respaldan la presente investigación se describen a continuación.

Campos *et al.* (2011) estudiaron las características químicas y sensoriales del aceite extraído de aguacate *Persea schiedeana* Nees. Dicha extracción se realizó con isopropanol y hexano, obteniendo rendimientos del 12% aceite/pulpa (v/p). Concluyendo que el aceite de *P. schiedeana* presentó la menor insaturación y más ácidos grasos de cadena larga en comparación con el aceite de oliva y de aguacate. Los índices de acidez y de peróxidos indicaron que la ligera oxidación del aceite está en el nivel permitido. En cuanto a la característica sensorial reportaron que el aceite tenía aroma a aguacate, herbal y limón, olor a alcohol etílico y pegamento.

Olvera (2013) evaluó la inactivación de la enzima polifenol oxidasa en un aderezo de aguacate mediante un tratamiento térmico para establecer condiciones de tratamiento y posteriormente llevarlas a operación en un intercambiador de calor de superficie raspada. Utilizando 6000 mL de alimentación a 50 rpm y a una temperatura de 75 °C. Se observó que el aderezo tratado con el intercambiador no presentó actividad de la enzima, obteniéndose también una carga microbiana nula. De igual manera se evaluó

la vida útil del producto por un periodo de 9 semanas, analizando la carga microbiana, la actividad polifenol oxidasa, pH y color en las muestras control y muestra tratada. Los resultados demostraron que el aderezo tratado térmicamente presentó una mayor estabilidad.

Bustos *et al.* (2015) estudiaron la eficacia de extractos de verduras (*Allium* y *Brassica*) utilizados para inhibir el pardeamiento enzimático de la pulpa de aguacate durante el almacenamiento en refrigeración a 4 °C. Determinando que el extracto de *Allium* retrasa la disminución de la luminosidad durante los primeros días de almacenamiento de la pulpa de aguacate, inhibieron la polifenol oxidasa (PPO) durante más de 30 días. La escalona y el ajo (género *Brassica*) mostraron grandes índices antipardeamiento (0.96 y 0.77, respectivamente). Concluyendo que el contenido de polifenoles de extractos vegetales influye en el cambio de variables de color durante los primeros días de almacenamiento, mientras que la actividad de PPO tiene influencia de estos parámetros en el último período de la refrigeración.

Aquino *et al.*, (2009) realizó un estudio para inhibir el oscurecimiento enzimático durante la deshidratación de plátano Roatán (*Musa cavendish*), usando una solución de mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) combinado con diferentes concentraciones de ácido cítrico y bisulfito de sodio. La combinación de mucílago con ácido cítrico y bisulfito de sodio a altas concentraciones tuvo un efecto sinérgico que favorece en la disminución del oscurecimiento del plátano durante el secado. El mucílago formó una cubierta protectora en la superficie que proporcionó brillo al material deshidratado.

Salinas (2014) desarrolló películas comestibles a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) con un componente proteínico (grentina) y uno lipídico (cera de abeja), a base de 0.5% de mucílago de nopal, 0.5% de grenetina y 0.5% de cera de abeja mejoró la apariencia final de las ciruelas recubiertas.

Ruiz (2009) y Cisneros (2012) evaluaron el uso de recubrimientos en fresa, jícama y manzana obteniendo resultados favorables debido a la capa semipermeable que

posee, logra retener la humedad propia del fruto por lo que se ve beneficiada la disminución de pérdida de peso y la conservación de la textura, logrando disminuir la actividad enzimática, mejorando los parámetros de color, no afectando la calidad sensorial de los alimentos.

# **CAPÍTULO 2**

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

## CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Metodología general

El desarrollo experimental del presente proyecto se muestra en la Figura 2.1, consiste en: (1) selección de la materia prima y grado de madurez, (2) obtención y adición de concentrado de vegetal (apio o mucílago) en el puré de aguacate, (3) formulación del puré de aguacate a partir de las variedades Hass y Chinene, (4) almacenamiento en congelación, (5) análisis microbiológico y (6) análisis de resultados.

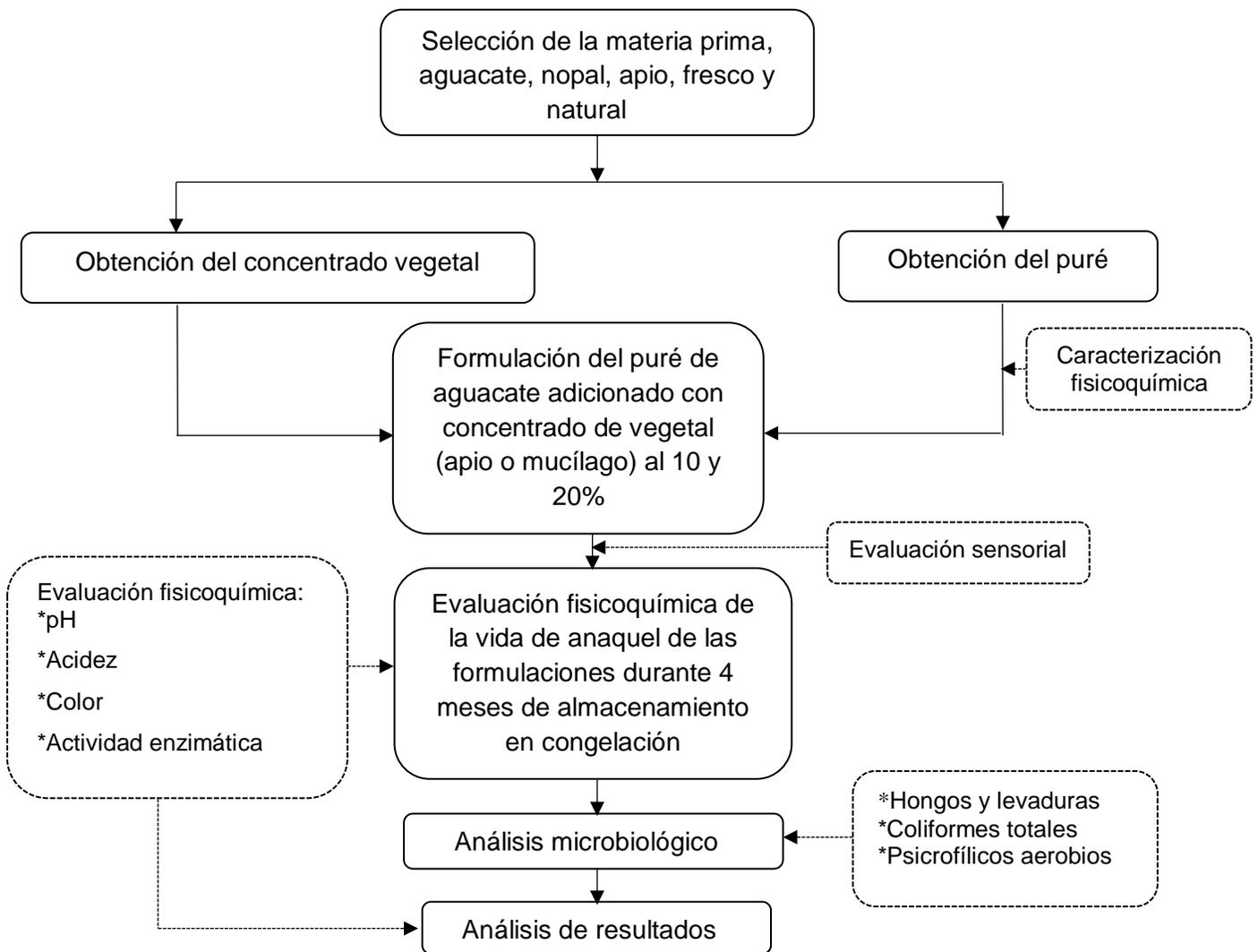


Figura 2.1 Metodología aplicada del proceso de conservación de puré de aguacate.

## 2.2 Selección de la materia prima y grado de madurez

En el desarrollo de la presente investigación se utilizan dos variedades de aguacate Hass (*Persea americana*) y Chinene (*Persea schiedeana*), obtenidos en un mercado local de la ciudad de Orizaba e Ixtaczoquitlan Ver., respectivamente, al 1 o 4 día después del corte. Ambas variedades fueron seleccionadas procurando un peso de  $200 \pm 5$  g de consistencia firme al tacto color verde brillante. Almacenados y envueltos en papel al menos 3 días hasta que la cáscara presentó un color negro uniforme, sin aparente mancha (Figura 2.2).



Figura 2.2 Selección de frutos a) Chinene y b) Hass.

Los frutos fueron lavados a chorro de agua y sometidos a un proceso de sanitización, en una disolución agua-ac. acético al 1% durante 10 min. Posteriormente, se enjuagaron con agua potable y la superficie secada con toallas de papel (Figura 2.3).



Figura 2.3 Sanitización del aguacate.

### 2.3 Obtención del jugo de apio

En la obtención del jugo de apio *Apium graveolens* variedad dulce, una vez lavado y troceado el apio, se hace pasar por un extractor de vegetales Hamilton Beach. El jugo fue filtrado evitando así el paso de partículas sólidas (Figura 2.4).

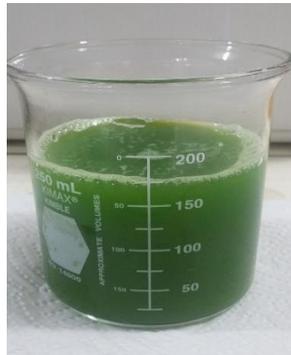


Figura 2.4 Jugo de apio.

### 2.4 Extracción de mucílago

El mucílago fue extraído del cactus de nopal *opuntia ficus*. Los clautidos o nopal fueron lavados, cortados y homogenizados con agua en relación 1:1. Posteriormente, se filtran para obtener un líquido libre de residuos de pulpa dado que generan coloración oscura en el extracto de mucílago. El líquido obtenido adicionado con alcohol etílico 1:3 forma un precipitado que es separado por decantación, correspondiendo a él mucílago. Finalmente, el mucílago obtenido se somete a un proceso de secado a 65 °C durante 3 h. El mucílago se tritura hasta obtener un polvo fino, e hidratado al 1 % presente en la Figura 2.5.



Figura 2.5 Mucílago de nopal deshidratado.

## 2.5 Formulación del puré de aguacate con concentrado de vegetal

Los frutos fueron cortados por la mitad con un cuchillo plástico para disminuir la oxidación del fruto, se separaron la cáscara y semilla cuidando de no presionar ni lastimar al fruto. La pulpa se dispuso en un recipiente para su mezcla homogénea, caracterizada por una textura cremosa. Para ello se utilizó una batidora de inmersión marca Proctor Silex durante 10 min (Figura 2.6). Utilizando dos niveles de concentración 10 y 20 % p/p tanto de apio como mucílago de nopal. El puré aprox. 100 g, fue colocado en bolsas foodsaver de 5 x 3.5 cm, selladas y etiquetadas.



Figura 2.6 Puré de aguacate empaquetado a) Chinene y b) Hass.

## 2.6 Almacenamiento en congelación

Se utilizó un congelador convencional marca Daewoo Dual Multiflow, se realizó la calibración de la temperatura en la cabina de congelación observando un min. y máx. entre 0 a -21.8 °C, dicha temperatura se encuentra en el intervalo óptimo de congelación del aguacate que es de -4°C. Los resultados de calibración se adjuntan en el APÉNDICE A.1.

## 2.7 Caracterización fisicoquímica del aguacate Hass y Chinene

Se realizó la caracterización fisicoquímica en ambas variedades de aguacate, siguiendo normas mexicanas y procedimientos establecidos.

### **2.7.1 pH**

En esta determinación se utilizó un potenciómetro marca Hanna Instruments modelo HI212, con previa calibración de disoluciones de pH 4 y 7. La medición se realizó a 25° C. La muestra consistió de una mezcla homogénea, siguiendo el método recomendado por la A.O.A.C. (1995).

### **2.7.2 Humedad**

Para su determinación se utilizó una termobalanza de halógeno marca OHAUS, modelo MB35. La metodología consistió en colocar dentro de la termobalanza aproximadamente 1 g de muestra sobre un plato de aluminio previamente tarado y limpio. Este equipo realiza la medición en minutos proporcionando el porcentaje de humedad.

### **2.7.3 Actividad de agua $a_w$**

Este parámetro también es un indicador de alimentos altamente perecederos y, donde valores por debajo de 0.5 indican estabilidad microbiológica presente en los alimentos. La determinación de actividad de agua ( $a_w$ ) se realizó con un equipo marca AquaLab serie 3, colocando en un recipiente de polietileno 1 g aproximadamente de muestra.

### **2.7.4 Determinación de color**

La determinación de color se llevó a cabo en un colorímetro MiniScan XE plus marca Hunterlab. La medición se realizó colocando en la cámara del equipo una cantidad suficiente de puré de aguacate hasta cubrir el centro de medición, el software del equipo muestra los valores para L (luminosidad), a, b (parámetros de cromaticidad) y  $\Delta E$  (diferencia de color entre la muestra inicial y final) en la escala Hunter L, a, b. La  $\Delta E$  mostrado en la ecuación 2.1, es un valor único en el que se encuentran las

diferencias entre L, a y b de la muestra al final del proceso de secado comparada con la muestra testigo.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (2.1)$$

Donde:

$$\Delta L = L_{final} - L_{inicial} \quad (2.2)$$

$$\Delta a = a_{final} - a_{inicial} \quad (2.3)$$

$$\Delta b = b_{final} - b_{inicial} \quad (2.4)$$

### **2.7.5 Determinación de cenizas**

Se requirió de una previa calcinación de la muestra hasta no percibir desprendimiento de humo blanco. La medición se realizó utilizando una mufla marca Thermo Scientific a una temperatura de 630°C bajo la norma oficial A.O.A.C 923.03 (2005).

### **2.7.6 Determinación de lípidos**

La determinación de grasas se realizó por extracción repetida en un extractor tipo Soxhlet, utilizando hexano como disolvente, bajo la norma oficial A.O.A.C. (1990) con algunas modificaciones para alimentos semisólidos. Previo a realizar esta determinación, la muestra se sometió a un proceso de secado hasta llegar a un porcentaje de humedad del 10%, con el fin de facilitar la extracción de lípidos.

### **2.7.7 Determinación de acidez**

La determinación de acidez titulable por el método AOAC 942,15A (AOAC 1990), con pequeñas modificaciones.

Inicialmente se preparó una solución de aguacate con 30 g de pulpa y 90 mL de agua destilada. Las muestras se titularon con hidróxido de sodio 0.1 N y fenolftaleína como indicador, hasta un vire rosa tenue, se mide el volumen de NaOH ocupado, expresando los resultados en porcentaje de ácido oleico de la ecuación 2.5.

$$\% \text{ ácido oleico} = \frac{V \cdot N \cdot \text{Meq} \cdot 100}{P} \quad (2.5)$$

Donde:

N= Normalidad del NaOH

P= Peso de la muestra (mL)

Meq= Miliequivalente del ácido oleico (0.282)

Vol= mL de NaOH gastados en la titulación.

## 2.8 Determinación de actividad de la polifenoloxidasas

Esta determinación se realizó bajo el método propuesto por Soliva (2001), con algunas modificaciones y realizado en dos etapas:

1.- Extracción de la PPO: se toma una porción representativa de 20 g de puré de aguacate homogenizado con 20 mL de solución Buffer McIlvaine con pH 6.5 y 0.4 g de polivinilpolipirrolidona, se centrifuga a 4000 rpm durante 20 min a 4 °C. El líquido sobrenadante construirá el extracto enzimático que se obtiene por succión con una micropipeta.

2.- Medición de la actividad de polifenoloxidasas, se colocan 1 mL de 0.5 M de catecol (APENDICE A.2) con 2 mL de Buffer McIlvaine y 0.5 mL de extracto enzimático en una celda de plástico, la lectura se llevó a cabo utilizando un espectrofotómetro a 420 nm durante diez minutos. Para la muestra en blanco se utilizó una celda que contiene 0.5 mL de agua en lugar de extracto enzimático. La actividad enzimática se determinó como el cambio de absorbancia 420 nm/min, de 1 mL de extracto enzimático bajo las condiciones de ensayo a 25°C.

La tasa inicial de la reacción se calculará a partir de la porción lineal de la curva trazada. La actividad residual (AR) se determinó como:

$$AR = 100 \cdot \frac{A}{A_0} \quad (2.6)$$

Dónde:

A= actividad de la PPO en un tiempo dado (Abs/min)

A<sub>0</sub>= actividad inicial de la PPO (Abs/min)

Se obtuvieron los porcentajes de inhibición de la PPO con las pendientes trazadas de cada formulación, aplicando la siguiente ecuación (Muñoz *et al.*, 2007):

$$\% inh = 100 \cdot \left(1 - \frac{mx}{mb}\right) \quad (2.7)$$

Dónde:

mx= pendiente de la recta trazada para cada formulación a evaluar.

mb= pendiente de la recta trazada al inicio.

## 2.9 Propiedades termofísicas

Para la estimación de las propiedades termofísicas se utilizaron las ecuaciones propuestas por Choi y Oikos (1986) que correlacionan los datos experimentales de diferentes propiedades como conductividad térmica, densidad y calor específico usando un modelo basado en las fracciones másicas de los principales componentes de los alimentos (proteínas, grasa, ceniza y agua).

### 2.9.1 Densidad

Se utilizaron las ecuaciones presentes en la tabla 2.1 a temperatura ambiente, haciendo uso de la expresión 2.8 se puede obtener un estimado de la densidad en el aguacate.

$$\rho = \sum w_i \rho_i \quad (2.8)$$

Dónde:

$w_i$  = fracción másica de cada componente.

$\rho_i$  = valor estimado de densidad para cada componente.

Tabla 2.1 Densidades en Kg/m<sup>3</sup> para algunos componentes de alimentos como función de la temperatura en °C

Componente	Ecuación
Grasas <sup>a</sup>	$\rho = 925.59 - 0.41757T$
Cenizas <sup>a</sup>	$\rho = 2423.8 - 0.28063T$
Agua <sup>a</sup>	$\rho = 997.18 + 0.0031439T - 0.0037574T^2$

<sup>a</sup>T en °C. En el rango entre -40 a 150 °C Choi y Oikos (1986)

### 2.9.2 Calor específico

Para la determinación del calor específico se utilizaron las ecuaciones mostradas en la tabla 2.2 y empleando la ecuación 2.9.

$$Cp = \sum w_i c_i \quad (2.9)$$

Dónde:

$w_i$  = fracción másica de cada componente.

$c_i$  = valor estimado de calor específico para cada componente.

Tabla 2.2 Correlaciones para el calor específico en KJ/(Kg°K) de los componentes de los alimentos como función de la temperatura

Componente	Ecuación
Agua <sup>b</sup>	$C = 4.1762 + 9.0864 \times 10^{-5}T + 5.4731 \times 10^{-6}T^2$
Grasas <sup>c</sup>	$C = 1.9842 + 1.4733 \times 10^{-3}T - 4.8008 \times 10^{-6}T^2$
Ceniza <sup>c</sup>	$C = 1.0926 + 1.8896 \times 10^{-3}T - 3.6817 \times 10^{-6}T^2$

<sup>a</sup>T: -40 a 0° C, <sup>b</sup>T: 0 a 150 °C, <sup>c</sup>T: -40 a 150 °C. Choi y Oikos (1986)

### 2.9.3 Conductividad térmica

Para el cálculo de la conductividad térmica se tiene la ecuación 2.10, la cual se obtiene de los datos presentes en la tabla 2.3.

$$k = \sum w_i k_i \quad (2.10)$$

Dónde:

$w_i$ = fracción másica de cada componente.

$k_i$ = valor estimado de calor específico para cada componente.

Tabla 2.3 Conductividades térmicas en W/M<sup>°K</sup> de los alimentos y algunos de sus componentes como función de la temperatura en °C

Componente	Ecuación
Grasa <sup>b</sup>	$k = 0.183 + 1.25 \times 10^{-3}T - 3.17 \times 10^{-6}T^2$
Cenizas	$k = 0.571 - 1.76 \times 10^{-3}T - 6.70 \times 10^{-6}T^2$
Agua	$k = 2.2196 - 6.25 \times 10^{-3}T + 1.20 \times 10^{-6}T^2$

<sup>a</sup>T en °C <sup>b</sup>Entre -40 a 50 °C <sup>c</sup>Aire seco <sup>d</sup>Aire húmedo <sup>e</sup>P en mm Hg

<sup>f</sup>P ≤ 2 mm Hg <sup>g</sup>P ≥ 2 mm Hg 1: Luikov (1964); 2:Fito y otros (1984); 3:Renaud y otros (1992); 4:Moroullis y otros (1991); 5:Choi y Oikos (1986)

## 2.10 Análisis sensorial

Para la evaluación sensorial se llevaron a cabo pruebas afectivas a un panel formado de 20 personas no entrenadas que, evaluaron una muestra de cada tratamiento estableciendo diferencias respecto al color, textura, sabor, aroma y apariencia (APÉNDICE B) con el fin de conocer el grado de satisfacción o aceptación del producto.

## 2.11 Análisis microbiológico

Se realizaron las pruebas microbiológicas a la mejor formulación después del almacenamiento, para determinar la inocuidad en el puré de aguacate. Las pruebas microbiológicas se realizaron en base a lo establecido en la normatividad mexicana, en la tabla 2.4 se especifican las normas empleadas.

Tabla 2.4 Normas para realización de pruebas microbiológicas	
Prueba microbiológica	Norma
Preparación de la muestra	NOM-110-SSA1-1994, Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
Hongos y levaduras	NOM-111-SSA1-1994, método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
Coliformes totales	NOM-113-SSA1-1994, Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa
Psicrofílicos aerobios	NOM-092-SSA1-1994, Método para la cuenta de bacterias anaerobias en placa.

**Preparación de la muestra:** en un área estéril, se colocaron en una gradilla 3 tubos de ensayos con tapón estériles, donde se realizaron 3 disoluciones, a cada tubo se le agregaron 9 mL de agua salina. En el primer tubo se colocó 1 g de formulación de aguacate, se tapó el tubo y se agitó. Del tubo de la mezcla 1 se tomó 1 mL y se colocó en el tubo 2 y así sucesivamente hasta obtener 3 disoluciones.

**Inoculación:** en una caja petri con medio de cultivo se agregaron 100 $\mu$ L de la disolución 2 (1/100) y 3 (1/1000) con una micropipeta. Se dispersó la disolución en la caja petri con asa. Se voltearon las cajas y se colocaron en la incubadora a la temperatura adecuada, dependiendo del microorganismo que se deseó estudiar, en la tabla 2.5 se presentan las condiciones de incubación para cada microorganismo.

Tabla 2.5 Condiciones de incubación	
Microorganismo	Condiciones
Mohos y levaduras	25°C -3 días
Coliformes totales	35°C-24h-2 días
Psicrofílicos aerobios	5°C-7-10 días

Una vez transcurrido el tiempo establecido se contaron las colonias desarrolladas en cada caja, expresada como unidades formadoras de colonias (UFC/mL) determinados mediante la ecuación 2.11.

$$UFC/mL = \frac{\text{No. de colonias por placa} * \text{inversa del factor de dilusion}}{\text{mL de muestra sembrada}} \quad (2.11)$$

Cada colonia contada y su número total representan el número total de bacterias viables en la muestra. Cabe mencionar que los recuentos significativos por placa se encuentran descritos en la tabla 2.6.

Tabla 2.6 Conteo de intervalos UFC de colonias	
Microorganismos	UFC
Psicrofílicos aerobios	30-300
Coliformes totales	20-200
Hongos y levaduras	15-50

## 2.12 Diseño de experimentos

Se empleó un diseño factorial de niveles mixtos 2<sup>3</sup> con una variable cuantitativa y dos variables cualitativas. Las variables cuantitativas son la concentración de vegetal (10 y 20 % p/p), las variables cualitativas son tipo de aguacate (Hass y Chinene) y extracto vegetal (Apio y Mucílago de nopal). Las corridas experimentales son replicadas. En la tabla 2.7 se muestran los factores decodificados.

## 2.13 Análisis estadístico

Las variables de respuesta para evaluar el experimento son pH, color, acidez y actividad de la polifenoloxidasas, anteriormente descritas. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el software NCSS 97 y, prueba de Tukey  $\alpha = 0.05$  utilizando el

software minitab, para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos y seleccionar el mejor experimento.

No. De experimento	Variedad de Aguacate	Extracto vegetal	Concentración (% p/p)
1	Chinene	Apio	10
2	Chinene	Apio	20
3	Chinene	Mucílago	10
4	Chinene	Mucílago	20
5	Hass	Apio	10
6	Hass	Apio	20
7	Hass	Mucílago	10
8	Hass	Mucílago	20

# **CAPITULO 3**

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Caracterización fisicoquímica del aguacate

En el desarrollo de la presente investigación se utilizaron aguacate variedad Hass y Chinene, las cuales, fueron caracterizadas fisicoquímicamente en estado de madurez ( $\pm 4$  días). En la tabla 3.1 se muestra la media de réplicas del estudio en la caracterización fisicoquímica de las muestras de aguacate.

Tabla 3.1 Caracterización fisicoquímica en función de la variedad de aguacate

Propiedades	Parámetros	Media	
		Hass	Chinene
Fisicoquímica	Cenizas (%)	1.36 $\pm$ 0.01	0.94 $\pm$ 0.02
	Lípidos (%)	21.20 $\pm$ 0.11	35.94 $\pm$ 0.16
	Humedad (%)	62.91 $\pm$ 0.19	64.93 $\pm$ 0.15
	$a_w$	0.97 $\pm$ 0.05	0.973 $\pm$ 0.01
	pH	6.45 $\pm$ 0.07	6.64 $\pm$ 0.05
	Acidez (% ac. oleico)	0.11 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.02
	Densidad (Kg/m <sup>3</sup> )	1024.11 $\pm$ 0.08	1054.18 $\pm$ 0.05
	L	32.90 $\pm$ 0.23	42.45 $\pm$ 0.21
	a	-6.31 $\pm$ 0.19	0.71 $\pm$ 0.02
	b	16.64 $\pm$ 0.12	14.06 $\pm$ 0.19
Termofísicas	Actividad de PPO	0.0682 $\pm$ 0.07	0.0981 $\pm$ 0.39
	*Calor específico (KJ/Kg°K)	3.07 $\pm$ 0.02	3.44 $\pm$ 0.04
	*Conductividad térmica (W/m°K)	0.41 $\pm$ 0.02	0.44 $\pm$ 0.04

\*valores estimados con las ecuaciones propuestas por Choi y Oikos (1986)

De acuerdo con los resultados obtenidos el porcentaje de cenizas en Hass indica el contenido de minerales, siendo mayor en comparación con el Chinene, sin embargo, es menor al reportado por Restrepo *et al.* (2012) de 2.41% en fruto Hass cultivado en Colombia, debido a la diferencia de suelo.

En el aguacate el porcentaje de ácido oleico, es el principal acumulado durante el período de crecimiento, en tanto que los ácidos: palmítico, palmitoleico y linoleico

aumentan levemente. La determinación de acidez es una de las características que mejor definen la calidad de una grasa, encontrándose que a valores inferiores de 3.5% se mantiene una pulpa de buena calidad (Chávez, 2010); ante lo cual se puede afirmar que el producto fresco no presenta, en ambas variedades, ninguna característica indicadora de rancidez. Su acidez titulable muestra un valor moderado, debido al contenido abundante de ácido oleico

Se observó que ciertos parámetros como la humedad, pH, lípidos, y parámetros de color (L, a, b) son fuertemente influenciados dependiendo del grado de madurez presente en ambas variedades de aguacate. Buelvas (2012) reporta para el aguacate Hass en estado verde una humedad de 64.73%, con tendencia a disminuir debido a su maduración. Esto basado en el metabolismo de los lípidos que aumentan con la madurez del fruto, en forma paralela incrementa peso y disminuye la humedad (Astudillo, 1995). En estado de madurez alcanza valores de humedad del 62.91%, 64.93% para el aguacate Hass y Chinene, respectivamente. El Chinene presenta alto contenido en lípidos 35.94%, comparado con el aguacate Hass de 21.20%. Resultados similares fueron obtenidos por Márquez *et al.* (2014) en Hass a madurez de consumo de 23.8% y 22.4%. Otros trabajos reportan un porcentaje de 19.9% (Villa *et al.*, 2010) y 22.5% (Woolf *et al.*, 2009). En tanto que en Chinene se obtuvieron resultados similares a lo reportado por Joaquín *et al.* (2007) encontrando alto porcentaje de lípidos del 36% en frutos de la localidad de Mecayapan Veracruz. A pesar de su alto porcentaje lipídico, poseen un bajo porcentaje en pulpa, debido a que el 28.48% la conforma su endocarpio (tabla 1.2).

En cuanto al pH, tiende a incrementarse acercándose a la neutralidad, aunque en estado firme (verde) presenta valores de 6.26 en Hass (Buelvas, 2012). Ambas variedades se encuentran en un rango de 6.4 y 6.6 por lo que su sabor es insípido.

Los parámetros de color basados en el espacio de color Hunter L, a, b, indican luminosidad **L**, cromaticidad **a**, que representan la tonalidad rojo-verde y **b** la tonalidad amarilla-azul. El aguacate Hass en estado maduro presentó tonalidades amarillas-verdosas de intensidad baja debido a la luminosidad que se encuentra por debajo del

50%, en tanto que para el Chinene tiene un efecto contrario, puesto que presenta un valor alto en luminosidad inclinándose a los cuadrantes positivos tanto de *a* y *b*, es decir, que prevalecen los tonos Amarillo-rojo, como se muestra en la Figura 3.1.



Figura 3.1 Color en aguacate a) Hass; b) Chinene.

En cuanto a las propiedades térmicas estimadas para el aguacate Hass, se obtuvieron buenos resultados, similares a los reportados por Orrego (2003) a 28°C, una conductividad térmica de 0.429 W/m°K y capacidad calorífica de 3.06 KJ/Kg°K teniendo como porcentaje de error 3.7 y 0.3, respectivamente. Los valores obtenidos también fueron comparados con las ecuaciones propuestas por Sweet (1986) y Dickerson (Singh y Heldman, 1998) encontrando mayor porcentaje de error 6.6 y 1.96 respectivamente. No hubo variaciones significativas de estos parámetros para el aguacate Chinene debido a que su composición fisicoquímica es similar al del aguacate Hass. Ambas correlaciones muestran que son viables para determinar las propiedades termofísicas en los alimentos. Sin embargo, para determinar la densidad real en ambas variedades estas correlaciones no resultaron ser adecuadas por lo que se determinó de forma experimental. Orrego (2004) reportó la densidad aparente del aguacate de 1060 Kg/m<sup>3</sup>, aunque son densidades distintas, el resultado obtenido no difiere significativamente.

### 3.2 Rendimientos

Con el fin de identificar la cantidad de puré que se puede obtener se realizó la cuantificación del volumen de la pulpa por fruto.

En la tabla 3.2 se muestran los rendimientos del fruto donde se observa que el aguacate Hass presenta un rendimiento en pulpa de 74.66%, indicando que se encuentra dentro de los estándares de calidad permitidos  $\pm 70\%$ , lo que garantiza un mayor beneficio económico (Sandoval, 2016). El endocarpio presentó  $\pm 12.55\%$  Hass y  $\pm 28.48\%$  en Chinene (tabla 3.2). Este último, muestra una desviación estándar mayor debido al tamaño y forma variante del fruto.

Tabla 3.2 Rendimientos en drupa de 200 g			
variedad	Cáscara (%)	Hueso (%)	Pulpa (%)
Hass	12.77 <sup>1.25</sup>	12.55 <sup>0.96</sup>	74.66 <sup>0.30</sup>
Chinene	12.90 <sup>9.11</sup>	28.48 <sup>8.10</sup>	58.60 <sup>0.77</sup>

En tanto que el jugo de apio, muestra alto rendimiento, dado que su principal componente químico es agua en 92%, en la extracción de cada 500 g se obtiene 350 mL, es decir 70%.

El mucilago de nopal extraído presentó un bajo rendimiento de 0.03 %, varía desde 0.07% (Cárdenas *et al.*, 1997) hasta 1.56% (Sáenz y Sepúlveda, 1993). Se ha encontrado que el porcentaje de mucílago en cáscara es de 0.005% mientras que en la pulpa es de 1.2% (tabla 3.3) (Sáenz y Sepúlveda, 1993). Cabe mencionar que se obtuvo un rendimiento bajo de 0.03% debido al nopal utilizado en estado tierno, menor a 1 año de edad. Según lo señalado por Mendoza (2014), sugiere para obtener un alto rendimiento (0.84%) de este compuesto, el nopal debe tener por lo menos un año de edad y utilizar en la extracción una relación 1:3 mucílago/etanol.

Tabla 3.3 Rendimientos en apio y mucílago de nopal (500 g)	
Vegetal	(%)
Apio	70 <sup>0.10</sup>
Mucílago	0.03 <sup>0.05</sup>

### 3.3 Análisis en formulaciones de aguacate

En la tabla 3.4 se muestran los resultados del análisis de puré de aguacate para concentraciones distintas al inicio del almacenamiento, donde se observa que a mayores concentraciones de mucílago de nopal la luminosidad en el puré de aguacate se incrementa significativamente y, por consiguiente, la diferencia de color. Contrario a los purés formulados con concentrado de apio, la luminosidad disminuye a medida que se incrementa la concentración. El pH y acidez no son afectados significativamente, sin embargo, con la adición de mucílago sigue una tendencia hacia la alcalinidad y baja acidez, mientras que con apio tiende a incrementar la acidez y disminuir el pH. Así mismo la adición de apio a altas concentraciones incrementa el parámetro de color *a*, provocando que se intensifique el tono verde en la pulpa, mientras que el mucílago lo atenúa e incrementa el parámetro de color *b* haciendo que el puré se torne más claro. Por esa razón la diferencia de color se ve afectada significativamente.

Tabla 3.4 Evaluación de formulaciones de puré en 100 g						
Parámetros	Color				Acidez	pH
Concentración (%)	L	a	b	$\Delta E$	%	-
2.5 A	39.23 <sup>0.12</sup>	-5.78 <sup>0.13</sup>	17.18 <sup>0.08</sup>	1.54 <sup>0.15</sup>	0.126 <sup>0.07</sup>	6.43 <sup>0.03</sup>
2.5 M	40.11 <sup>0.09</sup>	-3.96 <sup>0.10</sup>	17.45 <sup>0.05</sup>	3.89 <sup>0.17</sup>	0.110 <sup>0.05</sup>	6.51 <sup>0.01</sup>
5 A	39.81 <sup>0.19</sup>	-5.65 <sup>0.14</sup>	17.65 <sup>0.13</sup>	2.32 <sup>0.24</sup>	0.128 <sup>0.21</sup>	6.36 <sup>0.04</sup>
5 M	40.67 <sup>0.16</sup>	-4.11 <sup>0.14</sup>	17.30 <sup>0.06</sup>	4.75 <sup>0.31</sup>	0.102 <sup>0.04</sup>	6.65 <sup>0.02</sup>
10 A	38.83 <sup>0.08</sup>	-5.88 <sup>0.06</sup>	17.80 <sup>0.12</sup>	3.12 <sup>0.24</sup>	0.134 <sup>0.12</sup>	6.31 <sup>0.01</sup>
10 M	41.09 <sup>0.17</sup>	-4.19 <sup>0.13</sup>	17.75 <sup>0.17</sup>	3.82 <sup>0.29</sup>	0.097 <sup>0.31</sup>	6.63 <sup>0.05</sup>
20 A	37.11 <sup>0.27</sup>	-5.19 <sup>0.22</sup>	17.93 <sup>0.13</sup>	4.81 <sup>0.32</sup>	0.137 <sup>0.12</sup>	6.22 <sup>0.08</sup>
20 M	43.03 <sup>0.14</sup>	-3.70 <sup>0.17</sup>	17.44 <sup>0.21</sup>	6.18 <sup>0.37</sup>	0.069 <sup>0.17</sup>	6.83 <sup>0.04</sup>
30 A	36.56 <sup>0.23</sup>	-5.64 <sup>0.18</sup>	17.51 <sup>0.24</sup>	5.26 <sup>0.33</sup>	0.156 <sup>0.11</sup>	6.13 <sup>0.12</sup>
30 M	44.25 <sup>0.21</sup>	-3.30 <sup>0.22</sup>	17.57 <sup>0.34</sup>	7.08 <sup>0.48</sup>	0.053 <sup>0.15</sup>	6.95 <sup>0.07</sup>
T	41.78 <sup>0.17</sup>	-4.54 <sup>0.38</sup>	17.74 <sup>0.18</sup>	-	0.16 <sup>0.45</sup>	6.46 <sup>0.10</sup>

A: Apio; M: Mucílago; T: Testigo

En la tabla 3.5 se muestran los resultados a los 50 días de almacenamiento en congelación observando que existe una tendencia decreciente del pH hasta un mínimo de 6.13 para 2.5% M generando un puré de baja acidez. En 10 y 20% M alcanza un pH de 6.42 y 6.48, respectivamente; cercanos al puré sin adición de vegetal.

En cuanto al porcentaje de ácido oleico, tiende a incrementar sus valores debido a las reacciones de oxidación lipídica de los ácidos grasos, a excepción de las muestras al 30%, los demás valores se encuentran por debajo del límite permitido (3.8% ácido oleico) indicando un producto de calidad (Chávez, 2010). La luminosidad se mantiene en las muestras con mucílago a concentraciones altas (20 y 30%), mientras que las muestras con apio presentan baja luminosidad. Las concentraciones 10 y 20 % presentan una baja diferencia de color indicando que estas muestras no fueron afectadas significativamente durante el periodo de almacenamiento en congelación.

Tabla 3.5 Evaluación de formulaciones al termino del almacenamiento a 50 días						
Parámetros	Color				acidez	pH
Concentración (%)	L	a	b	$\Delta E$	%	-
2.5 A	36.17 <sup>0.29</sup>	-4.86 <sup>0.21</sup>	16.35 <sup>0.31</sup>	7.42 <sup>0.01</sup>	0.148 <sup>0.08</sup>	6.22 <sup>0.08</sup>
2.5 M	38.17 <sup>0.12</sup>	-4.84 <sup>0.45</sup>	17.15 <sup>0.28</sup>	7.95 <sup>0.09</sup>	0.169 <sup>0.15</sup>	6.13 <sup>0.02</sup>
5 A	37.81 <sup>0.13</sup>	-4.57 <sup>0.23</sup>	16.94 <sup>0.19</sup>	8.17 <sup>0.03</sup>	0.172 <sup>0.08</sup>	6.29 <sup>0.03</sup>
5 M	38.25 <sup>0.31</sup>	-4.71 <sup>0.43</sup>	17.17 <sup>0.16</sup>	9.53 <sup>0.02</sup>	0.180 <sup>0.04</sup>	6.38 <sup>0.09</sup>
10 A	36.51 <sup>0.27</sup>	-5.21 <sup>0.21</sup>	17.54 <sup>0.23</sup>	7.21 <sup>0.19</sup>	0.147 <sup>0.02</sup>	6.25 <sup>0.01</sup>
10 M	38.90 <sup>0.34</sup>	-3.76 <sup>0.38</sup>	17.27 <sup>0.07</sup>	7.74 <sup>0.14</sup>	0.123 <sup>0.07</sup>	6.42 <sup>0.01</sup>
20 A	35.87 <sup>0.19</sup>	-5.10 <sup>0.23</sup>	17.32 <sup>0.24</sup>	7.41 <sup>0.05</sup>	0.186 <sup>0.12</sup>	6.08 <sup>0.06</sup>
20 M	39.43 <sup>0.24</sup>	-3.45 <sup>0.30</sup>	17.11 <sup>0.18</sup>	6.78 <sup>0.02</sup>	0.113 <sup>0.06</sup>	6.48 <sup>0.02</sup>
30 A	34.31 <sup>0.44</sup>	-4.79 <sup>0.48</sup>	17.22 <sup>0.32</sup>	10.95 <sup>0.12</sup>	0.221 <sup>0.25</sup>	5.99 <sup>0.09</sup>
30 M	40.59 <sup>0.16</sup>	-3.09 <sup>0.14</sup>	17.38 <sup>0.13</sup>	7.80 <sup>0.24</sup>	0.189 <sup>0.06</sup>	6.65 <sup>0.02</sup>
T	41.78 <sup>0.17</sup>	-4.54 <sup>0.38</sup>	17.74 <sup>0.18</sup>	-	0.16 <sup>0.45</sup>	6.46 <sup>0.10</sup>

A: Apio; M: Mucílago; T: Testigo

### 3.4 Análisis sensorial

Con el objetivo de evaluar los posibles cambios de las propiedades organolépticas sobre el puré de aguacate con adición de vegetal, se realizó el análisis sensorial a tres formulaciones (5, 10 y 20% con apio o mucílago) las cuales después de 50 días de almacenamiento conservaron la calidad del ac. Oleico, pH y mínima diferencia de color.

El panel define las mejores concentraciones en cuando al grado de aceptación para posteriormente ser evaluadas en un período de almacenamiento mayor, encontrándose que concentraciones de 10% y 20% fueron de mayor agrado al consumidor tanto en la adición de apio como de mucílago. En cuanto a los parámetros evaluados durante el análisis: color, sabor, textura y olor (APÉNDICE D y E), el panel indicó que no se observaron diferencias significativas entre las muestras dadas, debido a las moderadas concentraciones utilizadas en el análisis, por lo que la adición de los vegetales no tuvo efectos significativos sobre las características sensoriales del puré de aguacate (Figura 3.2). Este resultado se afirma en el trabajo de Rodríguez (2010), el cual menciona que la adición de mucílago de nopal a una crema de huitlacoche no altera las características organolépticas, por lo que puede ser utilizado en la industria alimentaria como aditivo, debido a que mejora la textura y consistencia de los alimentos.

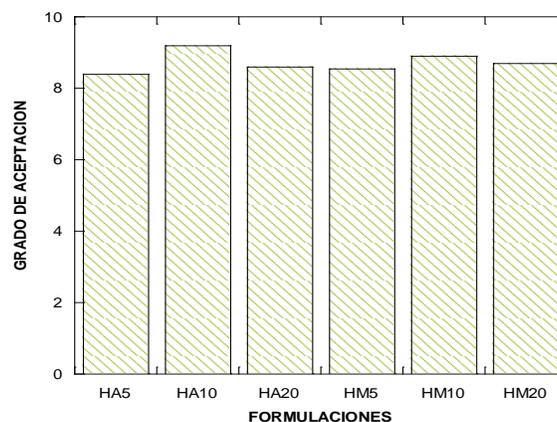


Figura 3.2 Grado de aceptación en formulaciones.

### 3.5 Curvas de evolución de pH

Los resultados en cuanto al pH inicialmente se observan que el Chinene se ve afectado por la adición de mucílago (Figura 3.3a), el cual, disminuye su valor significativamente en ambas concentraciones, mientras que al adicionar apio el valor se reduce mínimamente, manteniéndose de esta manera durante el período de almacenamiento. Al finalizar la muestra testigo tuvo una reducción de pH significativa de 6.06, en comparación con la inicial de 6.61. La combinación que mantuvo el pH sin ser afectado significativamente fue la adición de apio al 10% teniendo finalmente un puré de aguacate de baja acidez (6.23). En la Figura 3.3b se observa el comportamiento de aguacate Hass, presenta diferencias tanto al adicionar apio al 10 y 20% afectando su pH al finalizar el almacenamiento, reducido a 6.23 y 6.29, respectivamente; mientras que con la adición de mucílago al 20% mantiene el pH cercano a la inicial. Cabe mencionar que al adicionar mucílago en Chinene se reduce el pH, en tanto que para el Hass aumenta. La variación del pH puede explicarse por la liberación que ocurre durante el almacenamiento de algunos ácidos grasos, debido a la rancidez de los glicéridos y que incide en la acidificación del medio, esto mismo concuerda con lo señalado por Nickerson y Karel (1964).

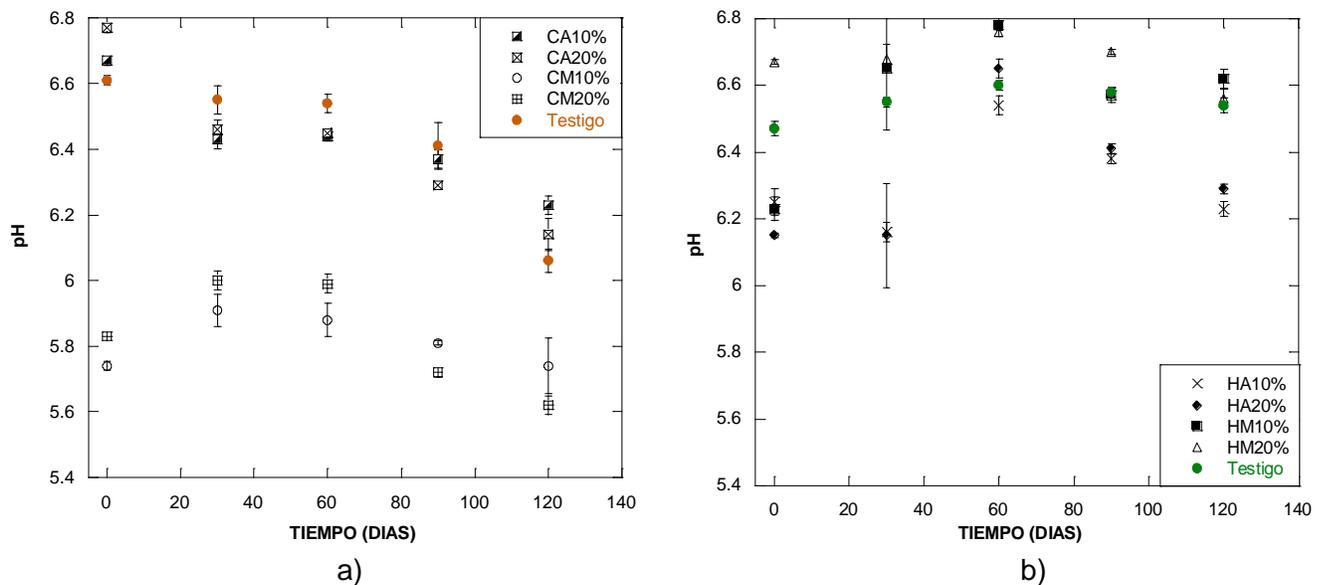


Figura 3.3 Evolución de pH durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass.

Ambas gráficas tienden a reducir el pH, lo que significa que los tratamientos son afectados por el fenómeno de rancidez; debido a la reacción de oxidación lipolítica.

### 3.5.1 pH final

En la tabla 3.6 se presentan los resultados de pH al término del almacenamiento. Se mantiene en un rango mínimo de 5.62 y máximo de 6.62, por lo que este parámetro resultó ser afectado significativamente por la adición de estos vegetales, proporcionando un puré de baja acidez.

No. De experimento	Variedad	Extracto	Concentración (%)	pH
1	Chinene	Apio	10	6.23 <sup>0.03</sup>
2	Chinene	Apio	20	6.14 <sup>0.02</sup>
3	Chinene	Mucílago	10	5.74 <sup>0.04</sup>
4	Chinene	Mucílago	20	5.62 <sup>0.08</sup>
5	Hass	Apio	10	6.56 <sup>0.02</sup>
6	Hass	Apio	20	6.23 <sup>0.02</sup>
7	Hass	Mucílago	10	6.62 <sup>0.01</sup>
8	Hass	Mucílago	20	6.29 <sup>0.02</sup>
9	Chinene	-	-	6.06 <sup>0.02</sup>
10	Hass	-	-	6.54 <sup>0.02</sup>

De acuerdo con el análisis de varianza mostrado en la tabla 3.7, se observó que el valor de P para la variedad de aguacate (Factor A), extracto vegetal (Factor B), concentración (Factor C) y su interacción entre estos, fue menor a 0.05, por lo que las variables muestran efecto e influencia en el valor de pH; En cuanto a la prueba Tukey ( $\alpha= 0.05$ ) presente en el APÉNDICE C.1 mostró diferencias significativas entre las medias, por lo que los datos no fueron distribuidos de acuerdo con la normal. La variedad Hass presenta menos variación de pH en comparación con la variedad Chinene. Se recomienda trabajar con la variedad Chinene y mucílago a concentraciones altas, debido a que esta interacción provocó una disminución significativa del pH (5.62), cabe mencionar que al disminuir este parámetro la enzima

disminuye su óptimo funcionamiento perdiendo su estructura nativa. Esto favorece a la conservación de las características organolépticas del aguacate.

Tabla 3.7 ANOVA de efectos para la variable pH

Source TermDF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	
A: Variedad	1	0.970225	0.970225	574.95	0.000000*
B: Extracto	1	0.0324	0.0324	19.20	0.002343*
AB	1	0.697225	0.697225	413.17	0.000000*
C: Concentración	1	0.011025	0.011025	6.53	0.033855*
AC	1	0.01	0.01	5.93	0.040925*
BC	1	0.005625	0.005625	3.33	0.105322
ABC	1	0.0016	0.0016	0.95	0.358710
S	8	0.0135	0.0016875		
Total (Adjusted)	15	1.7416			
Total	16				

\* Term significant at alpha = 0.05

### 3.6 Curvas de evolución de acidez

Los resultados de acidez en la Figura 3.4a muestran un aumento al inicio en la formulación Chinene-Apio 20%, así como también con Chinene-Mucílago al 10%, mientras que con la adición de Chinene-Apio al 10% y Chinene-mucílago al 20% se logra disminuir este parámetro. Durante el período de almacenamiento la acidez se mantiene por debajo de la muestra testigo, esto indica que las muestras no fueron afectadas por los ácidos grasos libres. La muestra testigo presentó un aumento (35.71%) significativo a los 90 días de almacenamiento. Los experimentos que no afectaron significativamente la acidez fueron con la adición de apio al 10% y 20%. En cuanto a la Figura 3.4b, se puede observar que la acidez se ve reducida tanto con la adición de apio como de mucílago en comparación con la muestra testigo, la cual sufrió un aumento significativo al finalizar el almacenamiento (0.178%). Este parámetro es suma importancia puesto que indica el grado de oxidación de las grasas debido a que a un estado avanzado de oxidación se acidifican por la acumulación de productos de la fisión de los ácidos grasos (Alton, 2001).

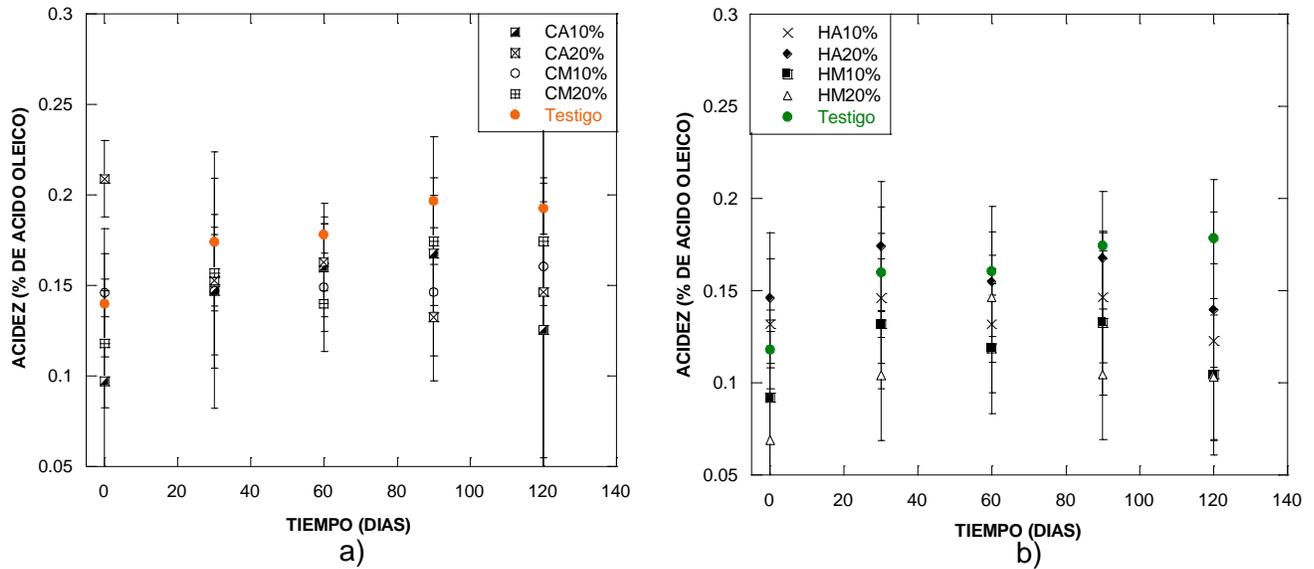


Figura 3.4 Evolución de acidez durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass.

En la tabla 3.8 se pueden observar los resultados finales del almacenamiento, los cuales indicaron que las muestras testigos en ambas variedades presentaron alta acidez, por lo que hubo mayor concentración de ácidos grasos libres degradando la calidad principalmente de grasas monoinsaturadas. Sin embargo, Los experimentos realizados presentaron acidez por debajo de lo señalado como máximo permisible (3.6% de ac. Oleico), se puede decir que las muestras no presentaron características de rancidez.

Tabla 3.8 Resultados de acidez al final del almacenamiento

No. De experimento	Variedad	Extracto	Concentración (%)	Acidez (% de ácido oleico)
1	Chinene	Apio	10	0.125 <sup>0.03</sup>
2	Chinene	Apio	20	0.146 <sup>0.03</sup>
3	Chinene	Mucílago	10	0.160 <sup>0.03</sup>
4	Chinene	Mucílago	20	0.174 <sup>0.01</sup>
5	Hass	Apio	10	0.122 <sup>0.07</sup>
6	Hass	Apio	20	0.139 <sup>0.03</sup>
7	Hass	Mucílago	10	0.104 <sup>0.04</sup>
8	Hass	Mucílago	20	0.125 <sup>0.03</sup>
9	Chinene	-	-	0.192 <sup>0.01</sup>
10	Hass	-	-	0.178 <sup>0.02</sup>

En la tabla 3.9 se muestra el ANOVA de efectos que indicó un valor de P menor a 0.05 para la variedad de aguacate (Factor A) y la interacción entre la variedad de aguacate y extracto vegetal (Factor AB), por lo que las variables muestran un efecto significativo sobre la variable de respuesta. La prueba Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) (APÉNDICE C.2) muestra que las medias de los experimentos 4, 7 y 8 son significativamente diferentes, es decir, las formulaciones Hass-mucílago a 10 y 20% presentan la menor concentración de ácidos grasos libres (0.104 y 0.103), favoreciendo la conservación de grasas insaturadas, lo que representa calidad en el producto. En tanto que la formulación Chinene-mucílago al 20% muestra una mayor degradación (0.174). Se tiene un mayor incremento de acidez en la variedad Chinene, esto podría deberse a que presenta un alto contenido en lípidos.

Tabla 3.9 ANOVA de efectos en la variable acidez

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level
A: Variedad	1	4.69225E-03	4.69225E-03	28.26	0.000714*
B: Extracto	1	1.89225E-05	1.89225E-05	0.11	0.744346
AB	1	3.42225E-03	3.42225E-03	20.61	0.001899*
C: Concentración	1	6.325225E-04	6.325225E-04	3.81	0.086734
AC	1	9.604E-05	9.604E-05	0.58	0.468724
BC	1	1.575025E-04	1.575025E-04	0.95	0.358573
ABC	1	3.136E-05	3.136E-05	0.19	0.675321
S	8	1.32813E-03	1.660163E-04		
Total (Adjusted)	15	1.037898E-02			
Total	16				

\* Term significant at alpha = 0.05

### 3.7 Análisis de color

Se obtuvieron como resultados los parámetros de color L, a y b de cada formulación. Cabe mencionar que la luminosidad del producto, así como a y b (coordenadas de cromaticidad) determinan el color final, de suma importancia como índice de transformaciones naturales de los alimentos frescos o de cambios ocurridos en el proceso natural.

### 3.7.1 Curvas de evolución de Luminosidad

En la Figura 3.5a se presenta la evolución del parámetro de color L en el puré de Chinene. Inicialmente es posible observar un aumento de este parámetro mediante la adición de ambos vegetales en comparación con la muestra testigo, debido a las propiedades presentes que contiene tanto el apio como el mucílago. Este parámetro no sigue una tendencia, sino que se muestra de manera oscilatoria, debido a la diferencia significativa entre las muestras. Al día 60 la luminosidad disminuye por debajo de la muestra testigo, sin embargo, al finalizar el almacenamiento aumentó considerablemente con la combinación de mucílago al 10% (L=40.76) y apio al 20% (L=40.86). La muestra testigo redujo su valor en comparación con la inicial debido a formación de pigmentos oscuros provocados por la presencia enzimática afectando principalmente la apariencia del fruto y con ello el grado visual de aceptación ante el consumidor. En la Figura 3.5b se muestra la evolución de luminosidad para la variedad Hass la cual, contrario de la variedad Chinene la luminosidad se encuentra por debajo de L=35, valores similares a los reportados por Márquez *et al.* (2014), en frutos Hass pertenecientes a la localidad de Antioquia, Colombia en grado de madurez fisiológica presentaron una luminosidad por debajo de 40 con tendencia a continuar disminuyendo.

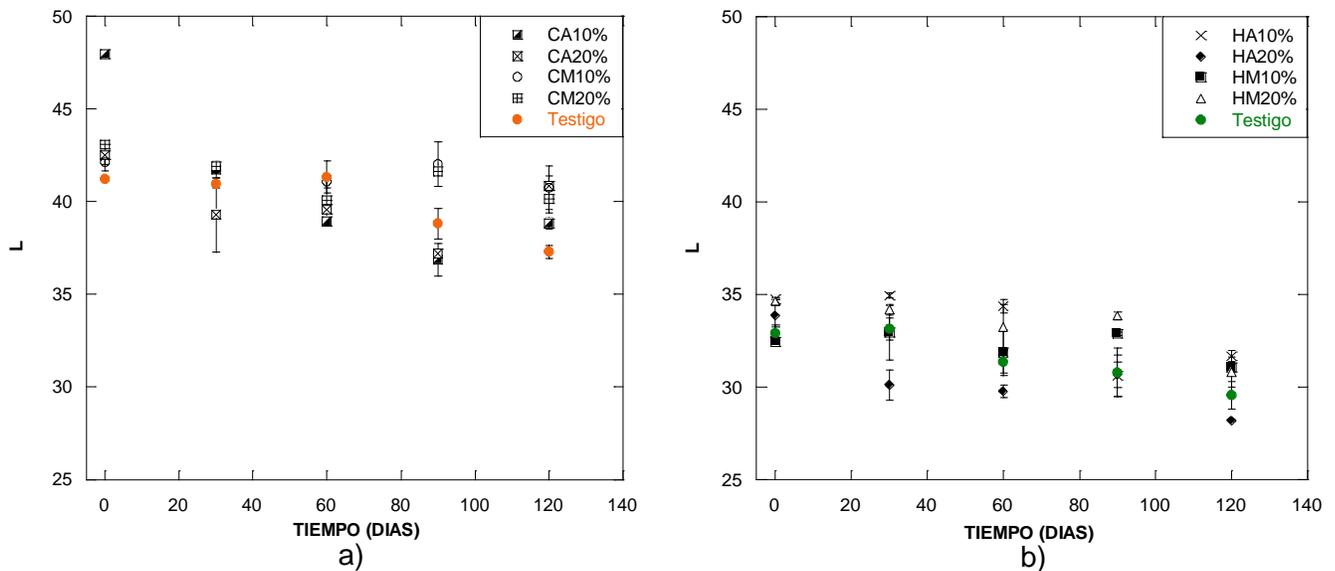


Figura 3.5 Evolución de L durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass.

Las muestras con adición de mucílago aumentan la luminosidad debido a las propiedades pseudoplásticas de este vegetal, esto mismo es señalado por Aquino *et al.* (2009) durante el secado de plátano Roatán, el mucílago proporcionó brillo al fruto. De manera similar Cisneros (2012) aseguran que las propiedades de este vegetal evitan los cambios de color y pérdida de textura en manzanas cortadas. Los valores más bajos de luminosidad se presentaron a los 60 días con la adición de apio al 20% y los valores más altos se dieron al día 30 con la adición de apio al 10% en Hass. El comportamiento de las formulaciones presenta la misma tendencia del Chinene de forma oscilatoria, sin embargo, al finalizar el almacenamiento los experimentos que presentaron mayor luminosidad fueron con la combinación de Hass-apio al 10% ( $L=31.37$ ) y Hass-mucílago al 10% ( $L=31.04$ ) muy cercanos a los valores de la muestra estándar ( $L=32.65$ ), por lo que a estas concentraciones la luminosidad no es afectada significativamente.

### 3.7.2 Curvas de evolución en $a$

Debido a que el parámetro de color  $a$  se vio afectado significativamente por la adición de apio y mucílago en ambas variedades, es de importancia conocer su comportamiento durante el período de almacenamiento. En la Figura 3.6a se presenta la evolución del parámetro de color  $a$  (verde-rojo) en aguacate Chinene, cuyo comportamiento es de manera oscilatoria debido a la diferencia entre las muestras. Inicialmente el parámetro disminuyó con las formulaciones Chinene-apio 20%, Chinene-mucílago a 10 y 20% proporcionando un puré con tendencia hacia los tonos rojos, característicos de esta persea, en comparación con la muestra testigo. Cabe resaltar que este parámetro se inclinó hacia tonalidades verdes durante el período de almacenamiento con la adición de Chinene-apio al 10%, esto no favoreció el color del puré afectando la luminosidad, por lo tanto, el puré se inclinó hacia tonalidades más oscuras. En cuanto a la evolución del parámetro  $a$  en aguacate Hass mostrados en la Figura 3.6b al presentar valores negativos, indica que el color de esta pulpa se encuentra en el tercer cuadrante del espacio Hunter L,  $a$ ,  $b$ , es decir que tiende a acercarse más a las tonalidades verdes, propias del Hass. La adición tanto de apio

como de mucílago intensificaron la tonalidad verde, siendo más evidente la adición de apio al 20%, esto se puede atribuir a la pigmentación presente en los glucosinolatos propios de los vegetales como el apio (Cameán y Repetto, 2012). Esto favorece a la conservación del aguacate debido a que al intensificarse su color retarda los posibles cambios en su coloración como pigmentación marrón causada por la presencia enzimática.

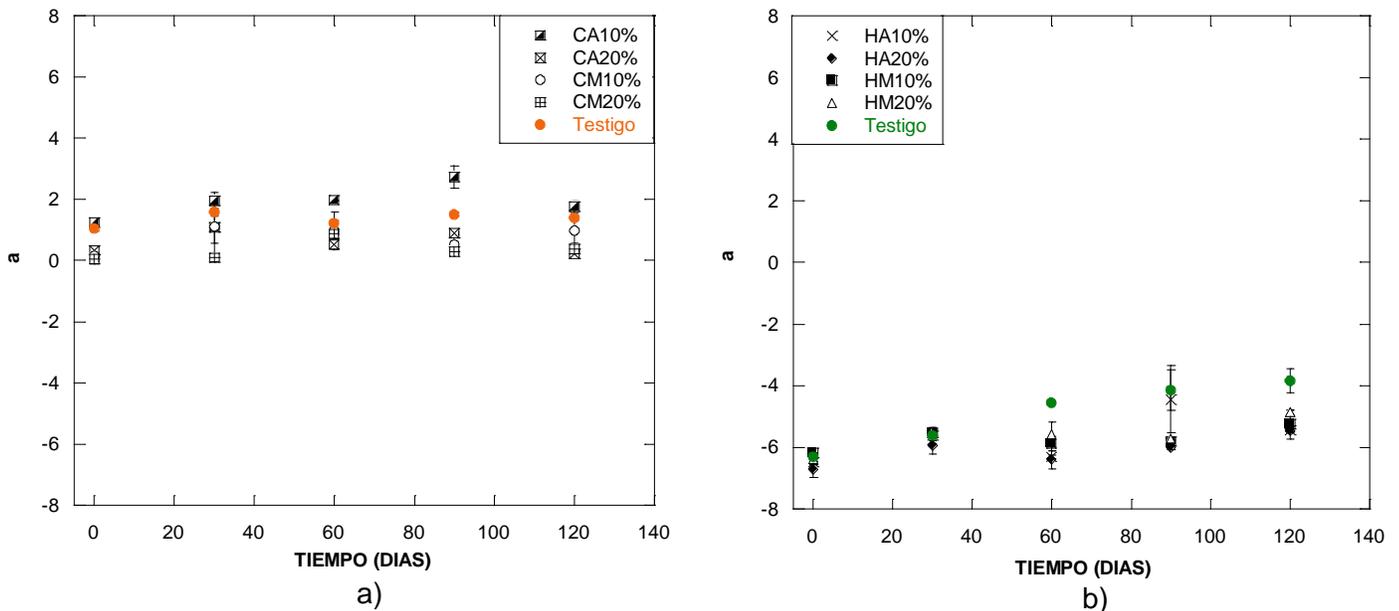


Figura 3.6 Evolución de *a* durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass.

La muestra testigo, fue perdiendo paulatinamente su tonalidad, esto se debe a que hubo una mayor degradación de pigmentos por la oxidación del puré. Resultados similares obtuvieron Márquez (2014) en frutos de la localidad de Antioquia, Colombia sin pretatamiento, dentro de un intervalo mínimo de  $a=-3$  y un máximo de  $a=-8$ , con tendencia a incrementarse durante el periodo de almacenamiento.

### 3.7.3 Curvas de evolución en b

En la Figura 3.7a se muestra la evolución del parámetro *b* en Chinene definido por la tonalidad amarillo-azul. Es posible observar que generalmente al adicionar tanto apio como mucílago presentan diferencias significativas en comparación con la muestra

testigo. Al día 60 los cuatro experimentos se inclinaron a presentar tonalidades amarillas de baja intensidad, sin embargo, al finalizar el almacenamiento la adición de apio a 10% ( $b=14.72$ ) y 20% ( $b=15.45$ ) intensificaron este parámetro favoreciendo el color característico de esta variedad. Tanto que, con la adición de mucílago bajo la intensidad del color, es decir, el puré se apreció más clarificado debido a las propiedades físicas del mucílago.

En la Figura 3.7b se observa la evolución para el Hass del parámetro  $b$ , indicando una tendencia a disminuir durante el período de almacenamiento, con la adición de mucílago tuvo un comportamiento similar al del Chinene, mientras que al adicionar apio se intensificó la tonalidad amarilla, al finalizar el almacenamiento la adición de apio al 10% ( $b=16.22$ ) mantuvo el color muy cercano al de la muestra testigo inicial, es decir, esta combinación no tuvo un efecto significativo sobre el parámetro de color  $b$ .

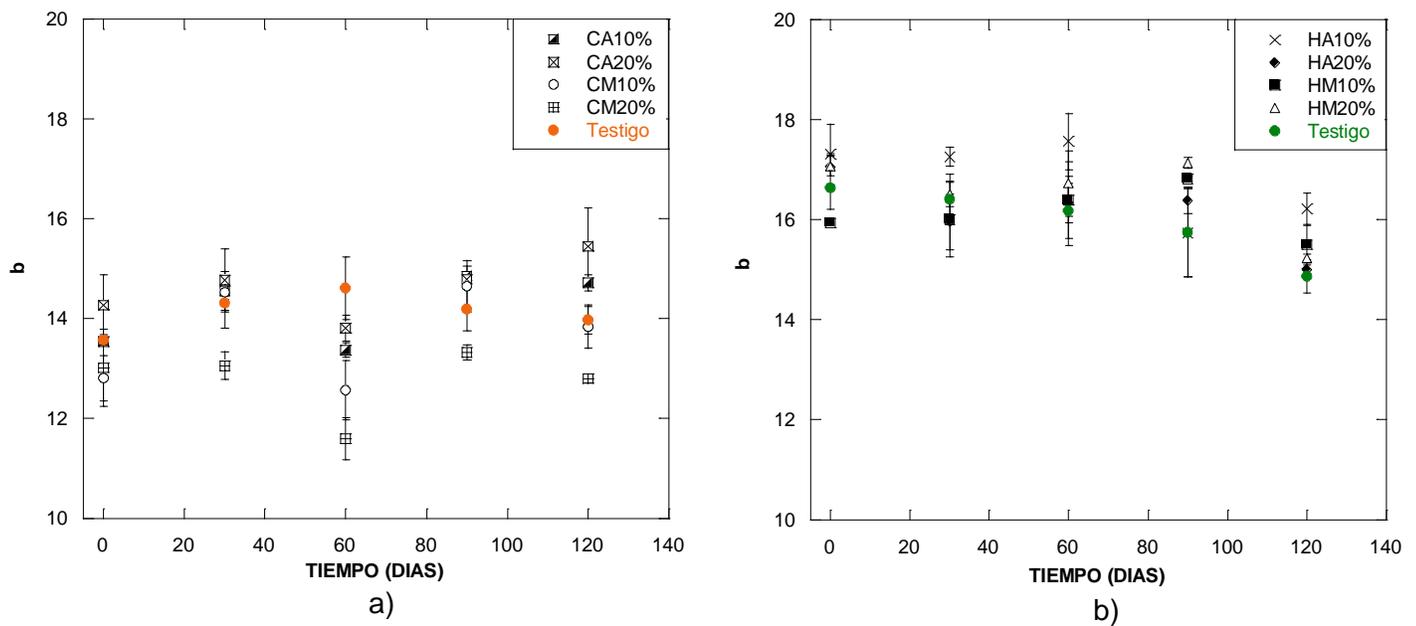


Figura 3.7 Evolución de  $b$  durante en almacenamiento: a) Chinene y b) Hass.

### 3.7.4 Curvas de evolución de diferencia de color

La diferencia de color ( $\Delta E$ ) durante el almacenamiento del Chinene y Hass se muestra en la Figura 3.8a y 3.8b, respectivamente.

Se puede observar una tendencia a aumentar la diferencia de color conforme el paso de los días, la muestra testigo al finalizar el almacenamiento presentó una mayor diferencia de color con respecto a la muestra inicial, es decir, que hubo una mayor degradación de pigmentos (Figura 3.8a).

La menor diferencia de color se dio en la formulación Chinene-mucílago 10%, esto significa que esta combinación o experimento conservó el color durante los 4 meses de almacenamiento a -4°C. En la Figura 3.8b para el aguacate Hass presenta la misma tendencia a aumentar la diferencia de color, debido a los cambios y efectos durante el almacenamiento, durante los días 30 y 60 se dio la mayor diferencia de color con la adición de apio al 20%, dato que concuerda con lo señalado anteriormente debido a que los glucosinoloatos afectaron los parámetros a y b incrementándolos, por consiguiente, la diferencia de color es mayor, sin embargo, al finalizar el almacenamiento la adición de Hass-mucílago al 20% presentó una diferencia mínima de color en comparación con la muestra estándar.

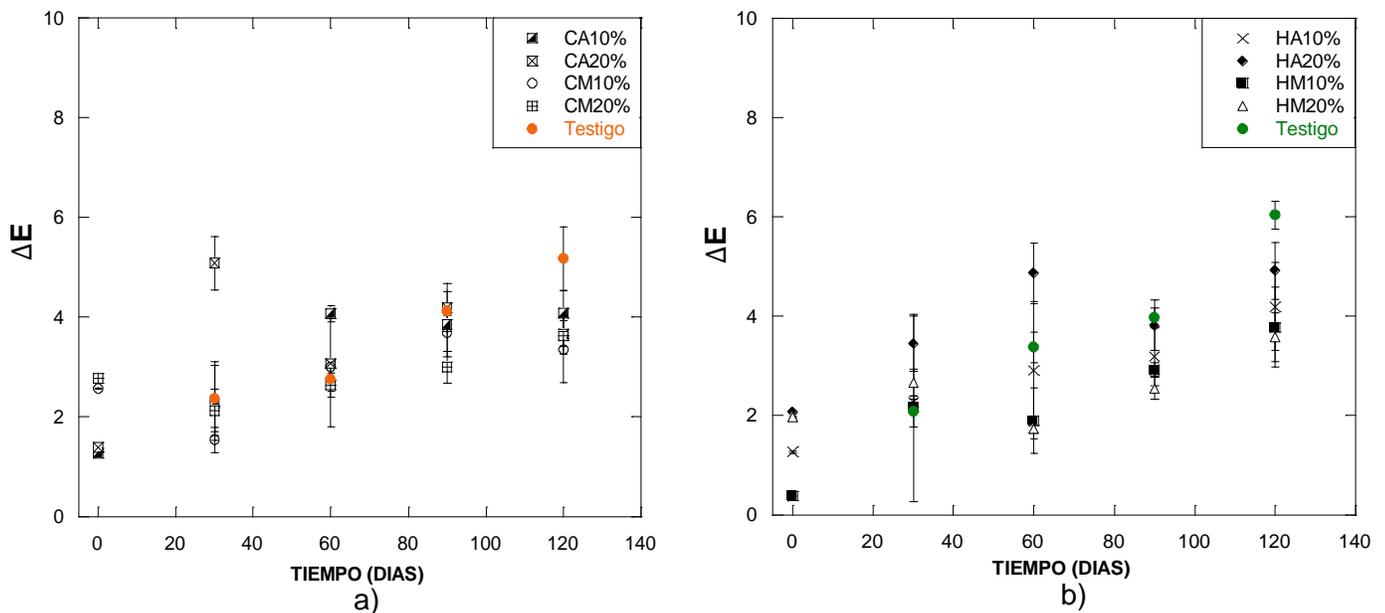


Figura 3.8 Evolución en la diferencia de color ( $\Delta E$ ) durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass.

En la tabla 3.10 se muestran los resultados finales de los parámetros de color (L, a, b y  $\Delta E$ ) al finalizar el almacenamiento en congelación, cabe mencionar que los valores de la muestra testigo del aguacate Chinene fueron L=41.23, a=1.05, b= 13.57 y para aguacate Hass L=32.9, a=-6.31, b=16.64. Comparando los valores finales presentados en la tabla 3.10 se observa que el experimento 3 y 8 presentan la menor diferencia de color, mientras que la mayor diferencia se dio en las muestras testigo debido a que fueron las más afectadas por la oxidación enzimática.

Tabla 3.10 Resultados experimentales de color al final del periodo de almacenamiento

No. De experimento	Variedad	Extracto	Conc. (%)	Color			
				L	a	b	$\Delta E$
1	Chinene	Apio	10	38.82 <sup>0.30</sup>	1.76 <sup>0.20</sup>	14.72 <sup>0.16</sup>	4.09 <sup>0.44</sup>
2	Chinene	Apio	20	40.86 <sup>0.54</sup>	0.23 <sup>0.07</sup>	15.45 <sup>0.76</sup>	3.67 <sup>0.26</sup>
3	Chinene	Mucílago	10	40.76 <sup>0.18</sup>	0.99 <sup>0.50</sup>	13.84 <sup>0.43</sup>	3.36 <sup>0.66</sup>
4	Chinene	Mucílago	20	40.14 <sup>0.73</sup>	0.37 <sup>0.20</sup>	12.80 <sup>0.08</sup>	3.63 <sup>0.37</sup>
5	Hass	Apio	10	31.37 <sup>0.28</sup>	-5.45 <sup>0.04</sup>	16.22 <sup>0.31</sup>	4.20 <sup>0.88</sup>
6	Hass	Apio	20	28.20 <sup>0.04</sup>	-5.46 <sup>0.07</sup>	15.01 <sup>0.08</sup>	4.92 <sup>0.57</sup>
7	Hass	Mucílago	10	31.04 <sup>0.16</sup>	-5.26 <sup>0.46</sup>	15.51 <sup>0.36</sup>	3.78 <sup>0.80</sup>
8	Hass	Mucílago	20	30.82 <sup>0.80</sup>	-4.86 <sup>0.08</sup>	15.24 <sup>0.07</sup>	3.58 <sup>0.49</sup>
9	Chinene	-	-	37.30 <sup>0.36</sup>	1.39 <sup>0.07</sup>	13.97 <sup>0.27</sup>	5.18 <sup>0.64</sup>
10	Hass	-	-	29.56 <sup>0.74</sup>	-3.84 <sup>0.38</sup>	17.87 <sup>0.33</sup>	6.04 <sup>0.27</sup>

En la Figura 3.9 se puede comprobar los resultados obtenidos de L, a y b al finalizar los 4 meses de almacenamiento. Se presentan las diferentes formulaciones con adición de mucílago y apio conforme al diseño de experimentos. Es posible observar que la adición de mucílago presenta una tendencia a colores más claros y luminosos, en tanto que la adición de apio la intensidad luminosa disminuye, haciendo que las formulaciones se tornen oscuras. Las muestras testigos de ambas variedades presentaron mayor diferencia de color, se observa que fueron afectadas en pigmentación a comparación de las otras formulaciones, debido al daño sufrido por la enzima. El color es un parámetro de importancia en la calidad de los alimentos, debido a que es la primera característica en contacto con el consumidor para comprar un producto y posteriormente consumirlo.

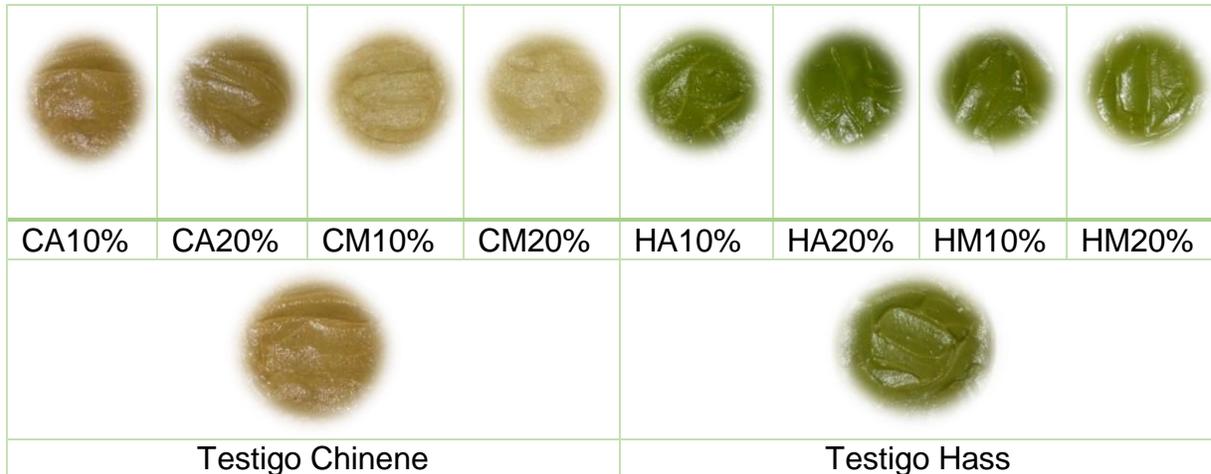


Figura 3.9 Color en las formulaciones de aguacate al termino del almacenamiento.

En la tabla 3.11 se puede observar el ANOVA de efectos sobre la diferencia de color al final del almacenamiento, lo cual indicó que los factores como la variedad de aguacate, el tipo de vegetal y la concentración no tuvieron efectos significativos en este parámetro. En análisis estadístico con prueba Tukey ( $\alpha= 0.05$ ) (APENDICE C.3) aplicado a los resultados finales no presentaron diferencias significativas entre las medias.

Tabla 3.11 ANOVA de efectos sobre la diferencia de color al final del almacenamiento

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level
A: Variedad	1	0.7439063	0.7439063	2.09	0.186674
B: Extracto	1	1.619256	1.619256	4.54	0.065716
AB	1	0.2475062	0.2475062	0.69	0.428987
C: Concentraci_n	1	3.515625E-02	3.515625E-02	0.10	0.761581
AC	1	0.1105563	0.1105563	0.31	0.592922
BC	1	1.265625E-02	1.265625E-02	0.04	0.855272
ABC	1	0.6520563	0.6520563	1.83	0.213314
S	8	2.85325	0.3566563		
Total (Adjusted)	15	6.274344			
Total	16				

\* Term significant at alpha = 0.05

### 3.8 Actividad enzimática inicial

La materia prima fue caracterizada determinando la actividad enzimática inicial en ambas variedades ( $A_0$ ), la cual es la pendiente de la fracción lineal de la curva y a su vez indispensable para la determinación de la actividad residual de cada tratamiento. La cinética enzimática presenta mayor absorbancia para el Chinene (Figura 3.10a) y menor para el Hass (Figura 3.10b), debido a la pendiente obtenida experimentalmente de cada variedad  $A_{0C}= 0.00981$  abs/min y  $A_{0H}= 0.00682$ , respectivamente. Dado lo anterior el Chinene tiende a formar pigmentos de color marrón con más rapidez que el aguacate Hass, esto pudiera atribuirse al color natural de su pulpa, la cual presenta una coloración café, lo que facilita la rápida degradación de pigmentos. En cuanto al aguacate Hass, presenta una actividad inicial menor que puede compararse con la de otros frutos como el jugo de fique, el cual tiene una  $A_{0F}= 0.0347$  abs/min, de acuerdo con lo reportado por Latorre *et al.* (2013), así mismo el mamey con  $A_{0M}= 0.0500$  abs/min y el mango  $A_{0Ma}= 0.0416$  abs/min, frutos considerados con mayor actividad de la PPO en un estudio realizado por Jiménez *et al.* (2011).

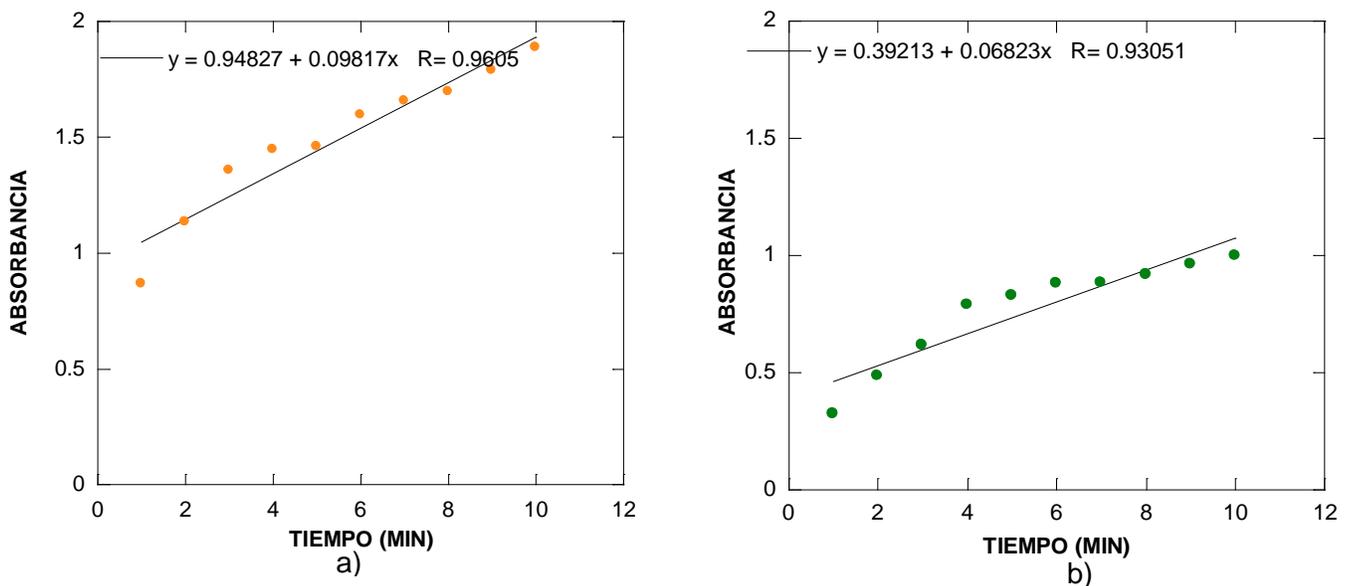


Figura 3.10 Actividad inicial: a) Chinene y b) Hass.

### 3.9 Curvas de evolución de la actividad enzimática residual

En la Figura 3.11a se muestra la evolución de la actividad residual en el aguacate Chinene, donde se puede observar que en los cuatro experimentos realizados se logra reducir significativamente la actividad de la enzima en comparación con la muestra testigo, la adición de mucílago al 20% tiene un efecto significativo al final de almacenamiento, por lo que en combinación con la congelación se logra retardar los efectos provocados por la enzima. La Figura 3.11b, muestra para el aguacate Hass un incremento en los primeros días de actividad residual, posiblemente esta variedad presente una mayor actividad por parte de la enzima PPO, sin embargo, durante el período de almacenamiento tiende a disminuir, la adición de apio al 20% presentó 47.32% de residual indicando una considerable inhibición de actividad enzimática, seguido de la adición de mucílago al 20%. En tanto que la adición de apio al 10% se tiene un porcentaje de actividad residual de 88.84%.

El mayor porcentaje de inhibición puede atribuirse a las formulaciones que presentaron valores de pH bajo (ácido) en el cual la enzima es desnaturalizada y disminuye su velocidad de reacción, debido a que el medio ácido actúa como un antioxidante, esto mismo menciona Jiménez *et al.* (2011) en un estudio realizado a distintos frutos, señalando que el kiwi y la fresa presentan menor velocidad de reacción de oscurecimiento dado que presentaron el pH más ácido. Cabe resaltar que al final del almacenamiento la formulación que muestra un alto porcentaje de inhibición de 56.48% en cuanto a la variedad Chinene fue CM20%, la cual presentó un pH final de 5.62, seguido de la formulación CM10% con un pH final de 5.74 y un 44.81% de inhibición, en tanto que en las formulaciones con aguacate Hass no se logra un alto valor de inhibición, puesto que su pH se mantuvo en un rango de 6.23 en la formulación HA20% y 6.56 en la formulación de HA20%, logrando alcanzar un porcentaje de inhibición de 52.98% y 33.34%, respectivamente.

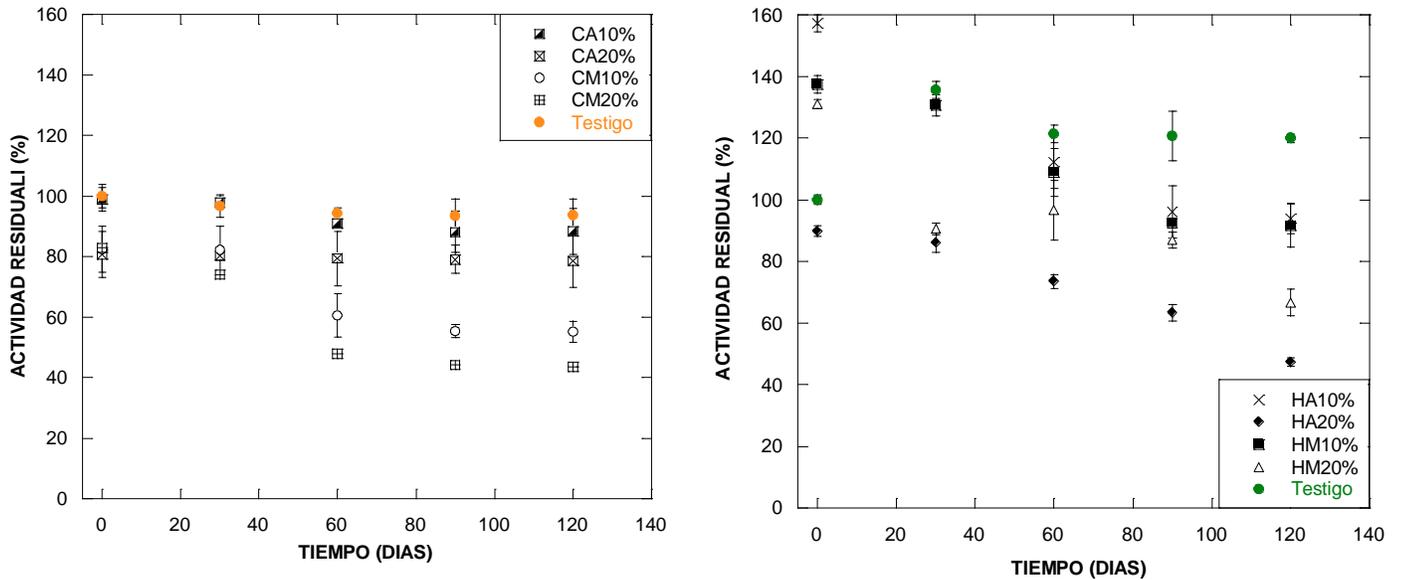


Figura 3.11 Actividad residual durante el almacenamiento: a) Chinene y b) Hass.

En la tabla 3.12 se presentan los resultados experimentales de la actividad residual y porcentaje de inhibición al final del almacenamiento. Los resultados obtenidos pueden compararse con los presentados por Soliva (2011), el cual a través de métodos combinados logra reducir la actividad de la PPO en puré de aguacate, entre 52.4 a 85.5% con la adición de ácido ascórbico en un período de almacenamiento de 4 meses durante refrigeración, y entre 76.8 a 99.2% con la adición de EDTA. En tanto que la adición de mucílago se obtuvo un porcentaje de inhibición mayor (56.48%) que con adición de ácido ascórbico y menor a la adición de EDTA. Estudios llevados a cabo sobre el efecto de la temperatura de almacenamiento en la PPO en dos variedades de mango por Wen *et al.* (2006) ponen de manifiesto que la temperatura óptima de almacenamiento fue a 8 y 11°C. De hecho, a 25°C, actividad después de 10 días fue mayor que la obtenida a temperaturas de almacenamiento menores. Estos experimentos muestran que la temperatura más baja podría retrasar la actividad de la PPO.

Tabla 3.12 Resultados experimentales de actividad residual al final del almacenamiento

No. De experimento	Variedad	Extracto	Conc. (%)	Actividad residual (%)	Inhibición de la PPO (%)
1	Chinene	Apio	10	88.34 ±0.75	11.66±0.75
2	Chinene	Apio	20	78.65 ±0.87	21.35±0.87
3	Chinene	Mucílago	10	55.19 ±0.35	44.81±0.35
4	Chinene	Mucílago	20	43.52 ±0.23	56.48±0.23
5	Hass	Apio	10	93.91 ±0.49	06.09±0.49
6	Hass	Apio	20	47.32 ±0.14	52.68±0.14
7	Hass	Mucílago	10	91.57 ±0.07	08.43±0.07
8	Hass	Mucílago	20	66.66 ±0.42	33.34±0.42
9	Chinene	-	-	93.64 ±0.54	06.36±0.54
10	Hass	-	-	120.06 ±0.14	00.0±0.14

En la tabla 3.13 se muestra el ANOVA de efectos sobre los resultados finales de actividad residual final, se muestra que todos los factores tienen diferencias significativas entre las variables estudiadas. Es decir, tanto la variedad como el tipo de extracto vegetal y la concentración afectan la actividad residual. En análisis estadístico con prueba Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) (APENDICE C.4) indica diferencias significativas entre las medias, es decir, si se busca disminuir la actividad de la enzima, la formulación Hass-apio a 10% resultó ser la menos eficiente al presentar la mayor actividad, en tanto que la formulación Chinene- mucílago a 20% se obtiene un efecto contrario.

Tabla 3.13 ANOVA de efectos sobre la actividad residual al final del almacenamiento

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level
A: Variedad	1	274.6395	274.6395	26.98	0.000568*
B: Extracto	1	612.6986	612.6986	60.20	0.000028*
AB	1	1893.359	1893.359	186.03	0.000000*
C: Concentración	1	2243.183	2243.183	220.41	0.000000*
AC	1	629.3952	629.3952	61.84	0.000025*
ABC	1	127.5262	127.5262	12.53	0.006316*
S	9	91.59786	10.17754		
Total (Adjusted)	15	5872.399			
Total	16				

\* Term significant at alpha = 0.05

### 3.10 Carga microbiana

Otro parámetro para garantizar la inocuidad y posibles alteraciones sobre las variables de respuesta fue la determinación de la carga microbiana en la mejor formulación, siendo el experimento 4 (CM20%) una vez concluido el almacenamiento. En la Figura 3.12 se presentan las muestras (sin inóculo), las cuales no indicaron la presencia de microorganismos validando la correcta aplicación de la técnica, sin contaminación de otros microorganismos.

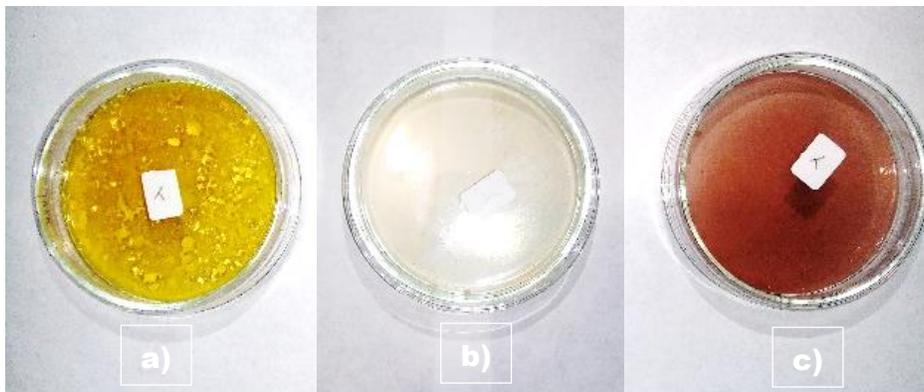


Figura 3.12 Muestra testigo: a) Agar para métodos estándar b) Agar dextrosa papa y c) Agar Rojo billis.

En la Figura 3.13 se presentan las muestras de cada análisis realizado, se puede observar que no presentaron crecimiento microbiano tanto en la segunda como en la tercera dilución de psicrófilos aerobios, esto indica la efectividad en los procedimientos de limpieza y desinfección durante la preparación de las formulaciones, además de asegurar que las condiciones de almacenamiento y empaquetado fueron las óptimas (Casp *et al.*, 2003).

En cuanto a las pruebas de hongos y levaduras de igual manera, no se observa la presencia de colonias por lo que las muestras no fueron afectadas en la calidad del alimento por la presencia de estos microorganismos, sin embargo, en la prueba de coliformes totales se tienen bajo número de colonias, las cuales presentan una

coloración rojiza. No se consideran significativas, por lo tanto, indicó que la manipulación y elaboración de las formulaciones fue eficiente.

Resultados de pruebas como mesofilos aerobios, coliformes, hongos y levaduras fueron reportados por Olvera (2013) en la elaboración de aderezos de aguacate tratados térmicamente a diferentes condiciones, en donde observaron que no hubo presencia de colonias en ninguno de los casos, indicando la inocuidad de su producto utilizando temperaturas de 65, 75 y 85°C. Cabe mencionar que las muestras almacenadas a -4°C resultan ser viables para la conservación del puré de aguacate debido a que no presentaron crecimiento microbiano durante 4 meses de almacenamiento.

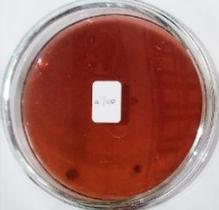
Análisis microbiológico	Segunda dilución	Tercera dilución
Hongos y levaduras		
Coliformes totales		
Psicrofílicos aerobios		

Figura 3.13 Determinación de la carga microbiana para la formulación CM20%.

En la tabla 3.14 se presenta un resumen de la carga microbiana expresado en UFC/mL. Se consideran representativas las cajas que tienen un número de colonias dentro del rango de sensibilidad del método, en este caso, entre 25 y 250, por lo que se puede garantizar que la formulación de CM20% no presentó actividad microbiana.

Tabla 3.14 Resultados finales de la carga microbiana				
Prueba	Serie duplicado	Diluciones		Resultado
		$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Hongos y levaduras	a	0	0	< 100 valor estimado
	b	0	0	
Coliformes totales	a	2	1	3.6 UFC/mL
	b	0	1	
Psicrofílicos aerobios	a	0	0	< 100 valor estimado
	b	0	0	

**CONCLUSIONES**

**Y**

**RECOMENDACIONES**

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### CONCLUSIONES

El uso de vegetales naturales para la conservación del aguacate como el apio y el mucílago de nopal mostró buenos resultados para incrementar el tiempo de vida de la pulpa al menos 4 meses proporcionando un producto de calidad. Este tiempo de vida media es mayor al reportado por Bustos *et al.* (2015) que utilizó conservadores naturales del género *Allium brasica*, sin realizar evaluación sensorial.

La adición de extractos vegetales al puré de aguacate incrementó parámetros de color como L, a y b. Sin embargo, las formulaciones que presentaron la menor diferencia de color fueron Hass-mucílago 10% y Chinene-mucílago 20% de 3.36 y 3.63 respectivamente.

Las formulaciones Chinene-mucílago a 20% y Hass-apio a 20% lograron inhibir significativamente la actividad enzimática en un 56.48% y 52.68%, respectivamente. Este porcentaje de inhibición es mayor al obtenido por Soliva (2001) al adicionar ácido ascórbico a la pulpa de aguacate almacenada en refrigeración.

Las variables de respuesta indicaron que el pH tiende a disminuir en el tiempo (120 días), obteniendo un producto de baja acidez, en tanto que el porcentaje de ácido oleico no presentó efectos significativos entre las formulaciones, por lo que se concluye que no fueron afectados los lípidos presentes en los purés.

El mayor porcentaje de inhibición se observó en las formulaciones que presentaron pH bajo de 5.62 en la formulación Chinene-mucílago a 20% y 6.23 en Hass-apio a 20%.

En análisis sensorial no mostró diferencias significativas entre las formulaciones, por lo que, la adición de estos vegetales no afecta las cualidades sensoriales en el puré de aguacate obteniendo una aceptación del 92%.

El análisis microbiológico garantizó la inocuidad y calidad sanitaria en las muestras, no presentan crecimiento microbiano por hongos, levaduras, coliformes totales, y psicrófilos aerobios. Estos microorganismos no afectaron la calidad de los purés.

## **RECOMENDACIONES**

Realizar formulaciones con adición de mucílago manteniendo el pH bajo (entre 3 y 4) con la finalidad de inhibir la actividad enzimática en un 100% para generar un puré de calidad.

Realizar un análisis sensorial más definido a un panel entrenado con la finalidad de detectar posibles alteraciones hacia las características organolépticas.

Realizar un análisis más específico para cuantificar la oxidación de lípidos, determinando el índice de saponificación con el objetivo de obtener el peso molecular del lípido e indicar si hay un porcentaje de degradación mayor.

Realizar un estudio de calidad e ingeniería a partir de las condiciones de conservación del puré para escalar el proceso a nivel piloto y alcanzar una producción en continuo.

Realizar pruebas reológicas en las formulaciones con adición de mucílago para cuantificar si este extracto de vegetal proporciona mayor viscosidad y emulsión al puré de aguacate, haciendo la suspensión más estable mejorando su textura.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abrajan, V. M. A. (2008). Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucilago del nopal (*Opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible. Tesis de doctorado. Universidad Politécnica de Valencia.
2. AID. 1968. Cómo proteger nuestros alimentos. CENTRO REGIONAL DE AYUDA TÉCNICA. UTEHA. México.
3. Alton, E. B. 2001. Aceites y grasas industriales. Editorial Reverte, S.A. Barcelona España.
4. Alvarado, J. 1995. Propiedades mecánicas de aceites y grasas vegetales. RIPFADI. 46 fasc. 4-5 264-269.
5. Anzaldúa, A. 1994. La evolución sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
6. Aquino, V. L., Rodríguez, J., Méndez L. L., Torres, F.K. (2009). Inhibición del oscurecimiento con Mucílago de Nopal (*Opuntia ficus indica*) en el secado de plátano Roatán. *Información tecnológica*. 20 (4): 15-20.
7. Aracenta, B. J. & Perez, R. C. 2006. Frutas, verduras y salud. Editorial MASSON. Barcelona España.
8. Arizmendi, C. D. 2004. Optimización de dos compuestos plastificantes (glicerol y polietilenglicol) en la elaboración de una película plástica comestible obtenida a partir del mucílago de nopal de la especie *Opuntia tormentosa* Salm-Dyck. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México, México.
9. Astudillo, J. 1995. Variación estacional en el porcentaje de aceite, humedad, aceptabilidad y calidad en frutos de palto (*Persea americana Mill*) cvs. Fuerte y Zutano. Tesis Ingeniería Agrónoma Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. Disponible en: [http://www .avocadosource. com/ papers / Chi l e\\_Paper s \\_A- Z/ A- B - C/ AstudilloJorge1995.pdf](http://www.avocadosource.com/papers/Chile_Papers_A-Z/A-B-C/AstudilloJorge1995.pdf).
10. Badui, S., 2006. Química de los alimentos. 4ª edición. Pearson educación, México D.F.

11. Barreiro, J. y Sandoval, A. 2001. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Editorial Equinoccio. 359 p.
12. Biale, J. and Young, R. 1971. Pate I The avocado pear. IN: Hulme, A. Eds. The biochemistry of fruit and their producís. London Acad Press.
13. Bernal E., J.A; Díaz D., C. A. 2008. Tecnología para el cultivo del aguacate. Corporación de investigación agropecuaria. CORPOICA. Centro de investigación La selva, Antioquia. Colombia.
14. Beretta, G. 1997. Is color appearance matching necessary. *The society for umaging science and technology*, sprinfield, USA, 217-222.
15. BRAVERMAN, J. 2011. Introducción a la bioquímica de los alimentos. Editorial Omega S.A. Barcelona.
16. Bustos, M.C., Mazzobre, M.F. & Buera M.P. 2015. Stabilization of refrigerated avocado pulp: Effect of Allium and Brassica extracts on enzymatic browning. *Elsevier*. **61**:89-97.
17. Buelvas, S. G.A., Patiño, G. J. H., Cano, S.J.A. (2012). Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate hass (*persea americana Mill*) utilizando tratamiento enzimático. *Revista lasallista de investigación*. **2** (9): 138-150.
18. Calderón, G.E., Castañeda, M. J.C., Romero, E. H.R., 2002. Caracterización y aprovechamiento del extracto y aceite esencial de apio (*Apium graveolens*), para su uso farmacéutico, a través de un proceso de destilación a nivel planta piloto. Informe Final Proyecto 40-01. SENACYT.
19. Calvo, M. 2007. Bioquímica de los alimentos. Clorofila. Disponible en: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/pigmentos/clorofila.html>. (consultada en junio 24 de 2016).
20. Cameán, A.M., Repetto, M. 2012. Toxicología Alimentaria. ISBN 978-84-9969-208-1.
21. Campos, N., Cruz, J.G., Hernández, A., Rubio, D.2011. Aceite de frutos de *persea schiedeana* en sobremaduración y cosechados de árboles en estado silvestre. *Uciencia*. **27**(2): 179-189.

22. Camacho, A., M.Giles, A.Ortegón, M.Palao, B.Serranoy O.Velázquez. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM México.
23. Cárdenas, A., Higuera-Ciapara, I. y Goycoolea, F. 1997. Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficusindica*) mucilage in solution. *J. Profess. Assoc. Cactus Develop.* **2**:152-159.
24. Casado, J. 2004. Purificación y caracterización cinética de la polifenoloxidasas de tomate.
25. Casp, A., Abril, J. 2003. Procesos de conservación de alimentos. 2ed. Mundi-Prensa. España.
26. Chávez, S. P. 2010. Efecto de la potencia y el tiempo de escaldado en horno microondas sobre la actividad de la polifenoloxidasas, características fisicoquímicas y sensoriales del puré refrigerado de palta (*Persea Americana Millar*) var. Fuerte. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de Trujillo, facultad de ciencias agropecuarias.
27. Cheftel, J.C., H. Cheftel y P. Besacon. 1992. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. 404 p. Vol 2. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
28. Cisneros, A. 2012. Efecto de la aplicación de recubrimientos de nanoemulsión-mucílago de nopal sobre la actividad enzimática de manzanas fresca cortada. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
29. Cornejo, M.V. 2010. Deshidratación de rebanadas de aguacate variedad Hass por el método OSMO-VAC (osmótico vacío) y evaluación de la calidad del producto. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional de Ciencias Biológicas.
30. Cruz-Castillo J.G., Del Ángel-Coronel O.A., Cruz-Medina J. & Joaquín-Martínez M.C. 2007. Características morfológicas y bioquímicas de frutos de chinene (*persea schiedeana nees.*). *Chapingo Serie Horticultura.* **13**(2):141-147.
31. Davidson, P.M. 2001. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. *Food Microbiology: and Fundamentals and frontiers*, **29**: 593-627.
32. Engel, P.C. 1996. Enzyme Kinetics. *Enzymology*. San Diego, CA: Academic Press: 77-112.

33. Espinosa, J. 2007. Evaluación sensorial. Editorial universitaria.
34. FAOSTAT.2002. Stastical databases. [Http//apps.fao.org](http://apps.fao.org)
35. FAO. 2009b. Base de datos estadísticos FAOSTAT. Roma (disponible en [fao.faostat.org](http://fao.faostat.org)).
36. Gilabert, E. J. 1992. Medida de color. Universidad Politécnica de valencia. Valencia.
37. Guzmán, G., R., I., Dorantes, L. 2008. Cambios en el perfil de ácidos grasos y microestructura de aguacate Hass tratado con microondas. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. **58**(3): 298-302.
38. Hernández Martínez, E. 2005. Evaluación del pardeamiento enzimático durante el almacenamiento en congelación del puré de palta (*Persea americana Mill*) var. Hass. Tesis licenciatura. UNAM.
39. Hernández, V. C. E. (2009). Acción y efectos de la polifenoloxidasas en alimentos. Tesis de licenciatura. Universidad veracruzana. Orizaba ver.
40. Hernández, P.L.C. 2003. Actividad inhibitoria y letal de los extractos de ajo para *E. coli* y *L. innocua*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Las Américas. Cerdas, A. M. M. 2004.
41. Ibáñez, F.C., Barcina, Y. 2000. Análisis Sensorial de Alimentos: métodos y Aplicaciones. Editorial Springer. Barcelona.
42. International commission on Microbial specifications for Food, of the international Union of Biological Societies. (ICMSF). 2000. Microorganismos de los alimentos: su significado y métodos de enumeración. 2ª ed. Editorial Acribia S. A. Zaragoza, España.
43. Jacobo, V. D. A., Castellanos, D. G., Caballero, M. P. & Hernández, B. C. 2013. Cambios bioquímicos durante el almacenamiento de puré de aguacate adicionado con antioxidantes naturales y procesado con alta presión hidrostática. *Journal of Food*. **11**(4):379-391.
44. Jiménez, M. E., Zambrano, M. L., & Aguilar, M. R. 2004. Estabilidad de Pigmentos en Frutas Sometidas a Tratamiento con Energía de Microondas. *Información tecnológica*. **15**(3):61-66.

45. José A Barreiro Méndez, Aleida J. Sandoval Briceño. 2006. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. editorial Equinoccio.
46. Joaquín, C.M., Cruz, J.G., De la cruz, J., Del ángel, O. 2007. Distribución ecogeográfica y características del fruto *persea schiedeana* Ness en los Tuxtlas Veracruz México. *Revista fifotec*. **30**(4):403-410.
47. Joslyn. 1970. Methods in food analysis physical. Chemical instrumental methods or analysis. 2ª ed. Academic Press. New York. Pág. 730-740.
48. Jiménez, M.E., & Zambrano, M.L. 2011. Cuantificación de cobre en Polifenoloxidasas de frutas tropicales por espectrofotometría de absorción atómica. *Información Tecnológica*. **22**(2): 15-22.
49. Kader, A., Arpaia, M. 2002. Aguacate: recomendaciones para mantener la calidad poscosecha. <http://www.ucdavis.edu/Produce/Producefacts/Espanol/Aguacate.html>.
50. Knapp, F. W. 1965. Some characteristics of eggplant and avocado polyphenolases. *Journal Food and Science*. **30**(6):930-936.
51. Latorre, L.I., Pantoja, A.L., Mejía, D.F., Osorio, O., Hurtado, A. M. 2013. Evaluación de tratamientos térmicos para inactivación de enzimas en jugo de fique (*Furcraea gigantea vent.*). *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. **11**(1): 113-122.
52. Madigan, M., Matinko, J., Parker, J. 2004. Brock, Biología de los microorganismos. 10ª edición. Editorial Pearson Education, S.A. Madrid. Pag. 927-929.
53. Márquez, C.J., Yepes, D. P., Sánchez, L., Osorio, J.A. 2014. Cambios fisicoquímicos del aguacate (*persea americana mil.cv.* "Hass") en poscosecha para dos municipios de Antioquia. *Temas agrarios*. **19**(1):32-47.
54. Marshall, M. R., KIM. J. & eongmok and WEI, C. 2000. Enzymatic Browning in Fruits, Vegetables and Sea foods. FAO, Nueva York. Disponile en: <http://www.fao.org/ag/Ags/agsi/ENZYMFINAL/Enzymatic%20Browning.html> (consultada en junio 16 de 2016).

55. Martínez, F. M. 2010. Secado por aspersión de mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) y su efecto en las propiedades reológicas de polvos reconstituidos. Tesis de maestría. Instituto politécnico nacional. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca.
56. May, M.E., 2009. Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de mucílago de nopal (*Opuntia* spp.). Querétaro. Universidad autónoma de Querétaro. Tesis de maestría en ciencia y tecnología de alimentos. 48-76.
57. Mendoza A. V. (2011). Nanoemulsión de mucilago de nopal *Opuntia ficus* con dl- $\alpha$ -tocoferol, una nueva alternativa para preservar la manzana fresca cortada y conservada a bajas temperaturas. Tesis licenciatura. FESC. UNAM.
58. Mendoza, B., Gómez, E., Hernández, E., Rodríguez, A., Chavarría, N. 2014. Elaboración y caracterización de películas biodegradables a partir de mucílago de nopal-caseinato de sodio y mucílago de nopal-pectina. Ciencias agropecuarias Headbook, ECORFAN.1:129-136.
59. Montiel, E. F., López M., Bárcenas, E. P. (2013). Vegetales como fuentes de nitritos: una alternativa para el curado de carnes. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*.1:57-67.
60. Morera, J. A. 1983. El aguacate. Unidad de recursos fotogénicos. Turrialba, Costa Rica.
61. Montgomery, D.C. 2005. Diseño de experimentos. 2ª ed. Editorial LIMUSA WILEY, México D.F.
62. Muñoz, K., Bravo, K., Zapata, P., Londoño, J. 2007. Caracterización preliminar de la enzima polifenol oxidasa en frutas tropicales: implementaciones de un proceso de industrialización. *Scientia et Technica*, **33**:694-1701.
63. Navch, E., Werman, M., Sabo, E., & Neeman, I. (2012). Defatted avocado pulp reduces body weight and total hepatic fat but increases plasma cholesterol in male rats fed diets with cholesterol. *Jornal of Nutrition*, **132**(7):2015-2018.
64. Nevin-Ridley. 2009. Enzyme Structures Database. Londres. Disponible en: <http://www.ebi.ac.uk/thorntonsrv/databases/enzymes/> (consultada en agosto 11 de 2016).

65. Nicolas, J. J.; Richard-Forget, F. C.; Goupy, P. M.; Amiot, M. J. and Aubert, S. Y. 1994. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **34**(2):109-157.
66. Nickerson, J. and Karel, M. 1964. Preservation of foods by freezing. In: Joslyn, Mandl, J. Food Processing operations. V3. Westport Connecticut, the Avi. Publ.
67. Olaeta, J. A. 2003. Industrialización del aguacate: estado actual y perspectivas futuras. *Proceedings V World Avocado Congress*. **1**:749-754.
68. Olvera, C. M. 2013. Inactivación de la enzima Polifenol oxidasa en un aderezo de aguacate, mediante un tratamiento térmico. Tesis de licenciatura. Ingeniería en alimentos. Universidad Autónoma de México.
69. Opazo, G.; J.A. Olaeta y P. Undurraga. 2003. Caracterización histológica y bioquímica de desórdenes fisiológicos en paltas (*Persea americana Mill.*) cv. Hass en almacenaje refrigerado, en dos estados de madurez. Granada – Málaga, España. 653-658 p.
70. Ordoñez, Ávila, Luis Carlos, 2005. El pH en la conservación de alimentos. Monografía.
71. Orrego, A. C. E. 2010. Congelación y liofilización de alimentos. Editorial Artes gráficas Tizan Ltda. Manizales. Colombia.
72. Osuna, G. J. A. 2004. Mejoramiento de vida de anaquel y calidad de frutos de aguacate Hass con 1-Metilciclopropeno (1-MCP). INIFAP. CIRPAC. Campo Experimental Santiago Ixcuintla. Folleto técnico No.1, Santiago Ixcuintla, Nayarit, México.
73. Palacios, S. M. B. 2010. El aguacate y sus diferentes aplicaciones en 25 recetas. Monografía de licenciatura. Gastronomía y servicios de alimenticios y bebidas. Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias de la Hospitalidad. Ecuador.
74. Pérez C. L. 2003. Aplicación de métodos combinados para el control del desarrollo del pardeamiento enzimático en pera (variedad blanquilla) mínimamente procesada. Trabajo de tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

75. PROHACIENDO. 2001. Corporación para la promoción del desarrollo rural y agroindustrial del Tolima: El cultivo de aguacate. Módulo para el desarrollo tecnológico de la comunidad rural, Ibagué.
76. Ranganna, S. 1986. Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products. 2ª ed. McGraw Hill Publishing Co. New Dehli.
77. Ramírez, E.C. & Whitaker, J.R. 2003. Polyphenol Oxidase: Handbook of Food Enzymology. Marcel Dekker Inc., New York.
78. Restrepo, D., A., M., Londoño, L., J., González, A., D., Benavides, P., Y., Cardona, S., B., L. 2012. Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad. *Lasallista de investigación*. **9(2)**:151-161.
79. Roberts H.A. 1986. Persistence of seeds of some grass species in cultivated soil. *Grass and Forage Science*. **41(3)**: 273-276.
80. Rodríguez, E.N. 2011. uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Ra Ximhai .
81. Rodríguez-González, S, Martínez-Flores, H. E., Loaiza-Anaya, S. G., Ornelas-Núñez, J. L. 2010. Aplicación del mucílago de nopal (*Ficus Indica*) como espesante en una crema de huitlacoche (*UstilagoMaydis*) en la producción de un alimento funcional, y su evaluación sensorial. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, Guanajuato. 442-448.
82. Rodríguez, S. F. 1992. El aguacate. Programa Nacional de Investigación de Aguacate. Grupo interdisciplinario de aguacate (GIA). En el Campo Experimental de Uruapan. Michoacán, México. Documento interno. A. G. T. Editor S. A. México, D. F. SAGAR-INIFAP. 1996.
83. Ruiz, F. 2009. Aplicación de películas comestibles a base de quitosano y mucílago de nopal en fresa (*Fragaria ananassa*) almacenada en refrigeración. Tesis licenciatura. Universidad de las Américas Puebla.
84. Sáenz, H.C. 2003. Opuntia spp. Bioactive compounds in foods: a plus for health Proceedings of fifth International Congress on Cactus Pear and Cochineal. *Acta Horticulturae*. **728**:231-225.

85. Sáenz, H. C. 2004. Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* Spp. El nopal, tópicos en la actualidad. Universidad Autónoma Chapingo, México.
86. Sáenz, H. C., Berger, H., Corrales, G. J., Galletti, L., García, D.C.V., Higuera, I., Mondragón, C., Rodríguez Felix, A., Sepúlveda, E. y Varnero, M.T. 2007. Utilización agroindustrial del nopal. Servicio de Tecnologías de Ingeniería Agrícola y Alimentaria (AGST) con la colaboración de la Red Internacional de Cooperación Técnica de Nopal (FAOACTUNET). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.
87. Sáenz, C. y Sepúlveda, E. 1993. Alternativas de industrialización de la tuna (*Opuntia ficus-indica*). *Alimentos*. **18**: 29-32.
88. SAGARPA. 2011. Monografía de cultivos: Aguacate. Secretaría de fomento a agro negocios. [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx).
89. Salgado, B. A., Patiño, G. J., Salazar, C.J. 2012. Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate Hass (*persea americana Mill*) utilizando tratamiento enzimático. *Lasallista de investigación*. **9** (2): 138-150.
90. Salinas, R. M., Gonzáles, G. A., Pirovani, M.E, Ulín, M.F. 2007. Modelación del deterioro de productos vegetales frescos cortados. *Universidad y ciencia*. **23**:183-193.
91. Salinas, V.M. 2014. Caracterización de películas comestibles a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) y evaluación de su aplicación como recubrimiento comestible en ciruela (*Prunus salicina*) para su conservación en fresco. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de México.
92. Sánchez, J. L. (1999) Recursos genéticos de aguacate (*Persea americana Mill.*) y especies afines en México. *Revista de Chapingo S. Hort.* **5**:7-18.
93. Sandoval, A. A, Forero, L. F., García, L.J. 2010. Postcosecha y transformación aguacate: agroindustria rural innovadora. Centro de investigación de Natima. Espinal, Tolima.
94. Schmit - Hebbel, H. 1981. Ciencia y tecnología de los alimentos. Alfabeta editores, Santiago. 265 p.

95. Sebranek, J.B. y Bacus, J.N. 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science*. **77**:136-147.
96. Sepúlveda, E. y Sáenz, C. 1988. Industrialización de la tuna (*Opuntia ficus-indica*). I. Aceite de la semilla. *Alimentos*. **13**:35-38.
97. Sepúlveda, E., Sáenz, C. A., Aliaga, E. y Acetuino, C. 2007. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* Spp. *Journal of Arid Enviroments*. **68**:534-545.
98. SE.2012. Monografía del sector de aguacate en México: Situación actual y oportunidades de mercado. Secretaría de economía. Dirección general de industrias básicas.
99. Sharma R.R., Goswami M.A, Singh N.C., Chhonkar P.O. & Singh Gyanendra (2001). Catecholase and cresolase activities and phenolic content in mango (*Mangifera indica* L.) at panicle initiation. *Scientia Horticulturae*, **87**:147-151.
100. Singh, P., Heldman, D. 1998. Introducción a la ingeniería de los alimentos. Segunda Edición. Editorial Acribia. Zaragoza.
101. Solís Rojas J. L. 2005. Manual de Prácticas de Biología General. Facultad de Ingeniería de Industrias Alimentarias. Universidad Nacional del Centro de Perú. Huancayo, Perú.
102. Soliva, F. R.C., Grigelmo, M. N., Odriozola, S. I., Gorinstein S., Martín, B.O. (2001). Browning Evaluation of Ready to Eat Apples as Affected by Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* .**49**(1):3685–3690.
103. Song P. S., Chichester C.O. 1967. Kinetic behavior and mechanism of inhibitor in the Maillard reaction: Kinetic behavior of the inhibition in the reaction between Dglucose and glycine. *Journal Food Science*. **1**:32:98.
104. Siebel, J.E. (1982). Specific heat of various products. *Ice Refrig*, **2**: 256-257.
105. Shafiur Rahman, M. 2003. Manual de conservación de los alimentos. Editorial Acribia: España.
106. Tirilly, Y., Bouergeois, C. 2001. Tecnología de las hortalizas. Editorial Acribia. Zaragoza.

107. Umaña, C.E. 2007. Conservación de alimentos por frío, refrigeración/congelación. Editorial FIAGRO Y FUSADES PROINNOVA. El Salvador.
108. Valenzuela, M. E. 1996. Evaluación de congelado en palta (*persea americana mil*) en los cultivares Fuerte, Hass, Edranol y Bacon bajo distintas formulaciones. Taller de titulación. Quillota, Chile.
109. Villa R., Molina C., Ayala Z., Guadalupe I. e González, A. 2010. Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of “Hass” avocado. *Food Research International*. **44**: 1231-1237.
110. Wen, Q., Ma, R., Dong, Q., Xin, Y. 2006 studies on postharvest physiology and the storage technology of mango (*Mangifera indica L.*). *Journal of Food Processing and Preservation*.**30**:670-683.
111. Westland, S. 2001. Colourwere color Forum. Frequently asked questions about color physics, versión 2.0a Konica Monotla. Gran Bretaña.
112. Woolf, A. 2009. Avocado Oil. Reprinted with permission from Gourmet and HealthPromoting Specialty Oils Edited by Robert A. Moreau and Afaf Kamal-Eldin, AOCS Press, Urbana, Illinois. Copyright© AOCS Press. p541-550.

# APÉNDICES

## APÉNDICE A.1

En la Figura A.1 se muestra la curva de calibración realizada al congelador convencional a través de un termopar USB-TC01 marca National Instruments

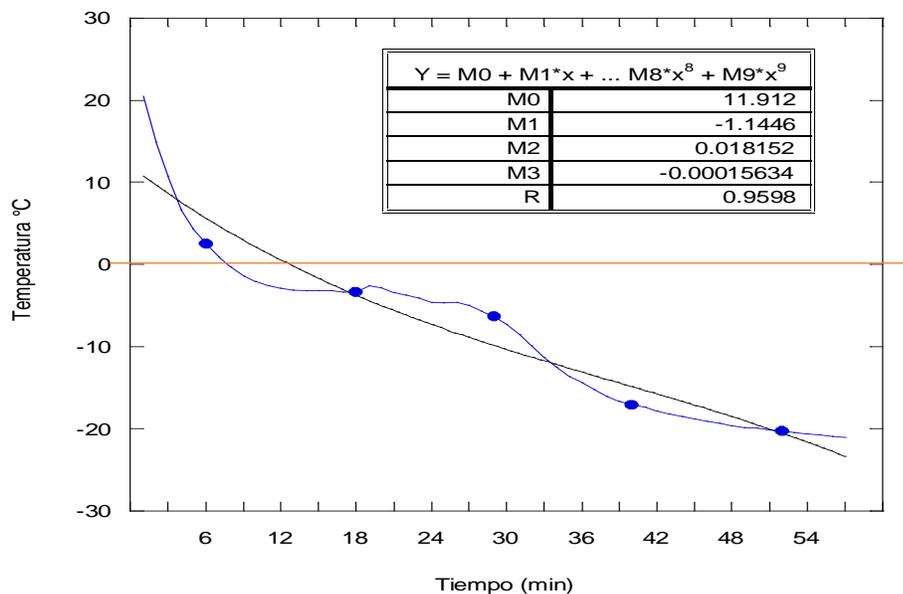


Figura A.1 Curva de calibración.

## APÉNDICE A.2

### Preparación de catecol 0.05 M (sustrato para la PPO)

Se prepara 500 mL de catecol 0.05 M, se debe conocer los g de catecol que se necesitan para dicha molaridad, los cuales se obtuvieron mediante los siguientes cálculos:

$$0.05M_{\text{catecol}} = \frac{\text{mol}}{0.5 L} \quad \text{A.1}$$

$$\text{mol} = (0.5 L) \left( 0.05 \frac{\text{mol}}{L} \right) = 0.025 \text{ mol} \quad \text{A.2}$$

$$g_{\text{catecol}} = \left( 110.1 \frac{g}{\text{mol}} \right) (0.025 \text{ mol}) = 2.7525 g \quad \text{A.3}$$

En un matraz aforado de 500 mL se colocaron 2.7525g de catecol y se aforo con agua destilada.

## APÉNDICE B

En la Figura B.1 se muestra el formato que fue proporcionado a los panelistas para la realización del análisis sensorial.

<b>EVALUACION SENSORIAL</b>			
FORMULACION: _____	FECHA: _____	EDAD: _____	
Selecciona: 1.- Muy bueno 2.- Bueno 3.- Regular 4.- Malo 5.- Muy malo			
<b>SABOR</b>			
01:	02:	03:	04:
<b>COLOR</b>			
01:	02:	03:	04:
<b>OLOR</b>			
01:	02:	03:	04:
<b>TEXTURA</b>			
01:	02:	03:	04:
ACEPTACION GENERAL: Escala del 1 al 10.			
01:	02:	03:	04:

Figura B1. Formato.

## APENDICE C.1

En la Figura C.1 se muestran los resultados del análisis estadístico de pH al final del almacenamiento con prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) de los experimentos realizados.

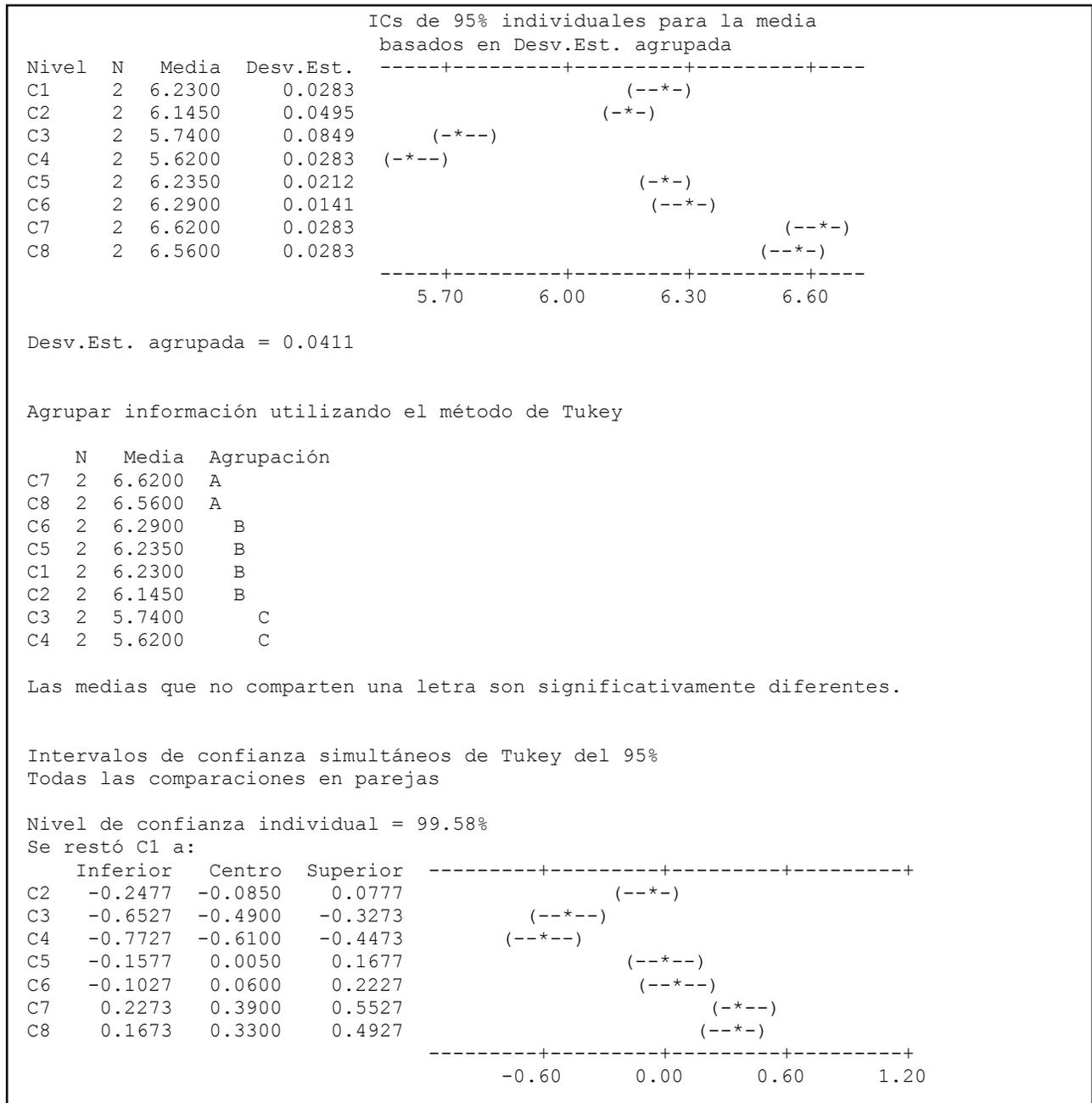


Figura C.1 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) sobre la variable pH.

## APÉNDICE C.2

En la Figura C.2 se muestran los resultados del análisis estadístico de acidez al final del almacenamiento con prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) de los experimentos realizados.

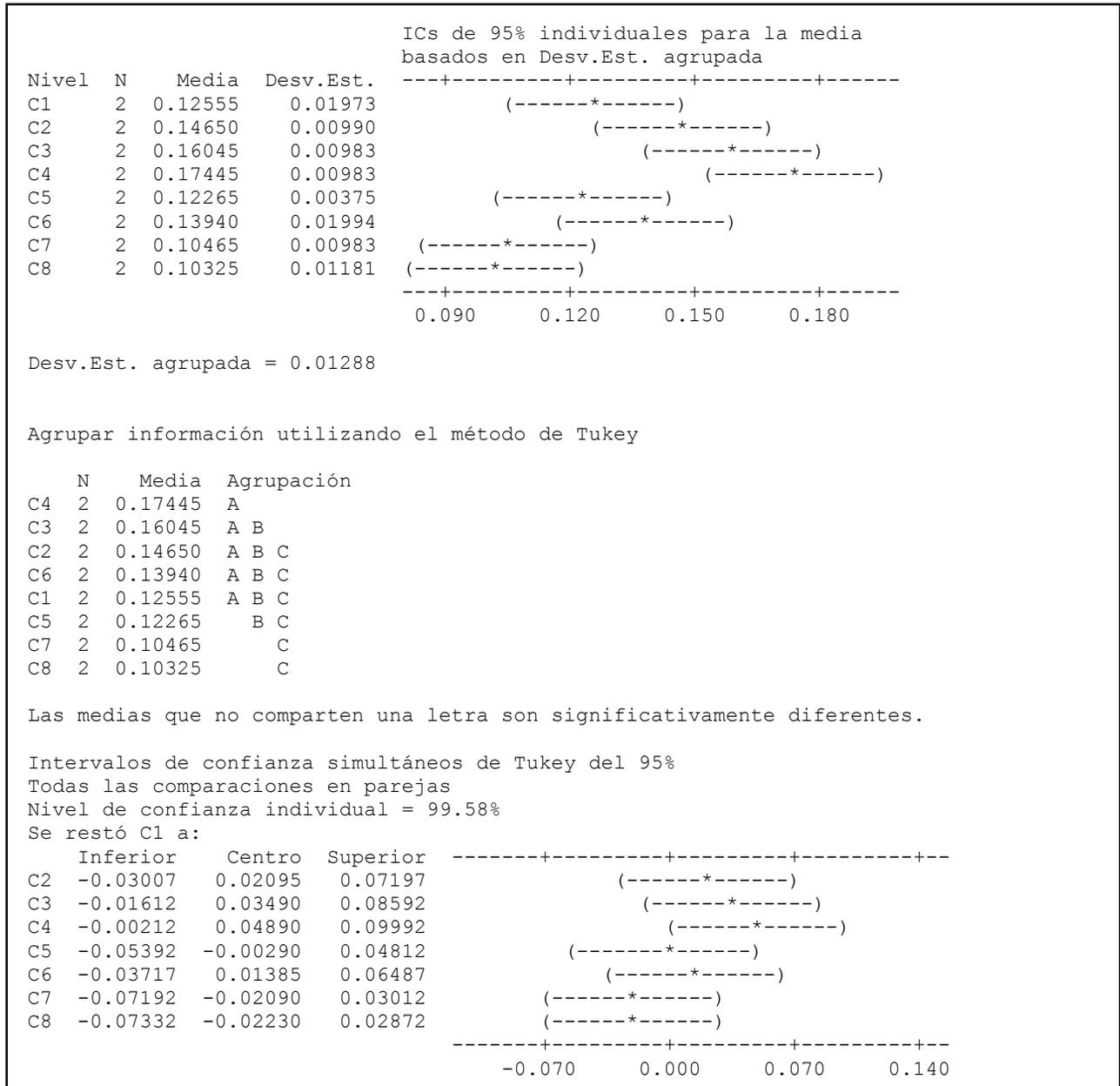


Figura C.2 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) sobre la variable acidez.

### APÉNDICE C.3

En la Figura C.3 se muestran los resultados del análisis estadístico de la diferencia de color ( $\Delta E$ ) al final del almacenamiento con prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) de los experimentos realizados.

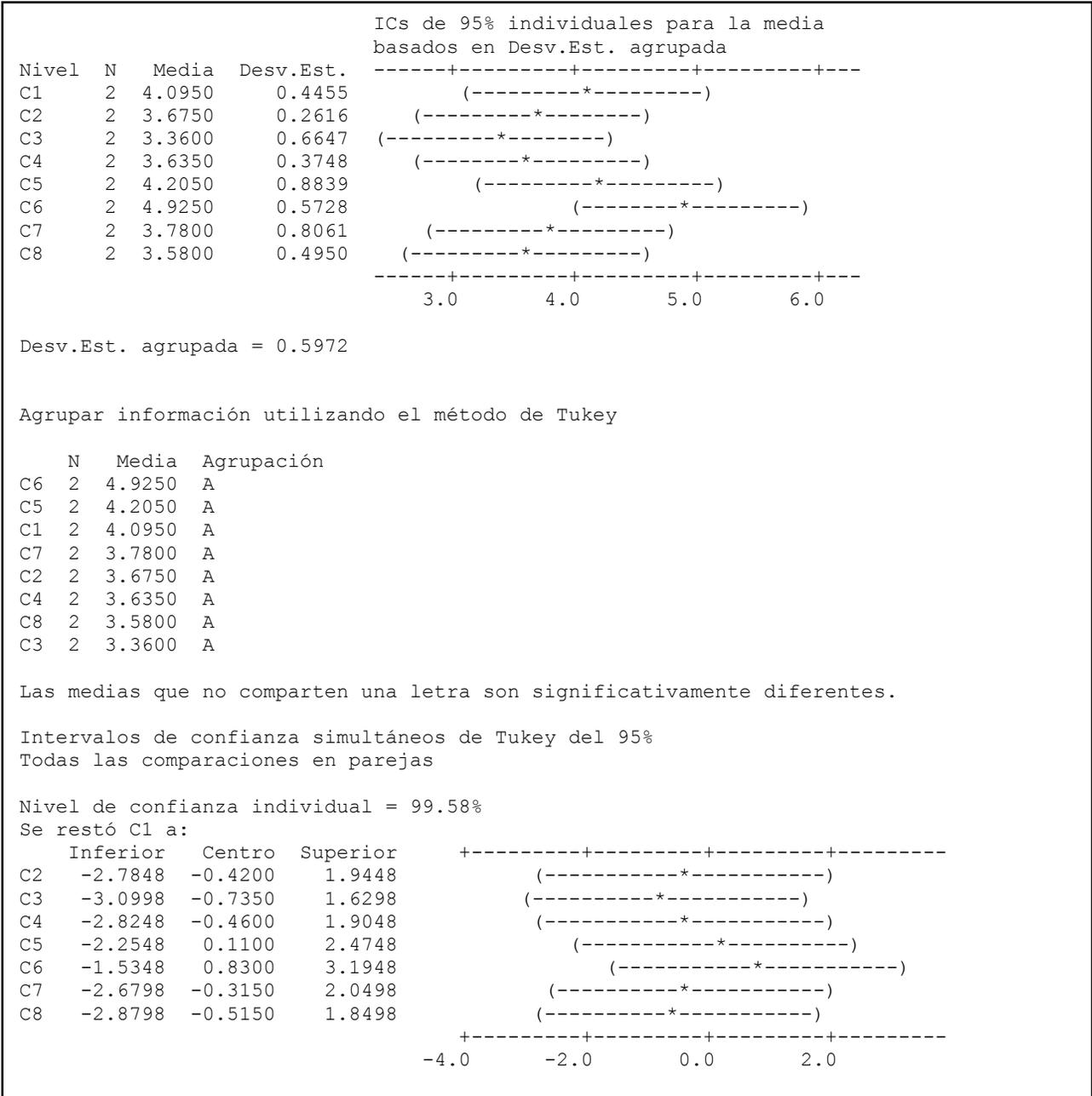


Figura C. 3 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) sobre la variable de diferencia de color.

## APÉNDICE C.4

En la Figura C.4 se muestran los resultados del análisis estadístico de actividad residual al final del almacenamiento con prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) de los experimentos realizados.

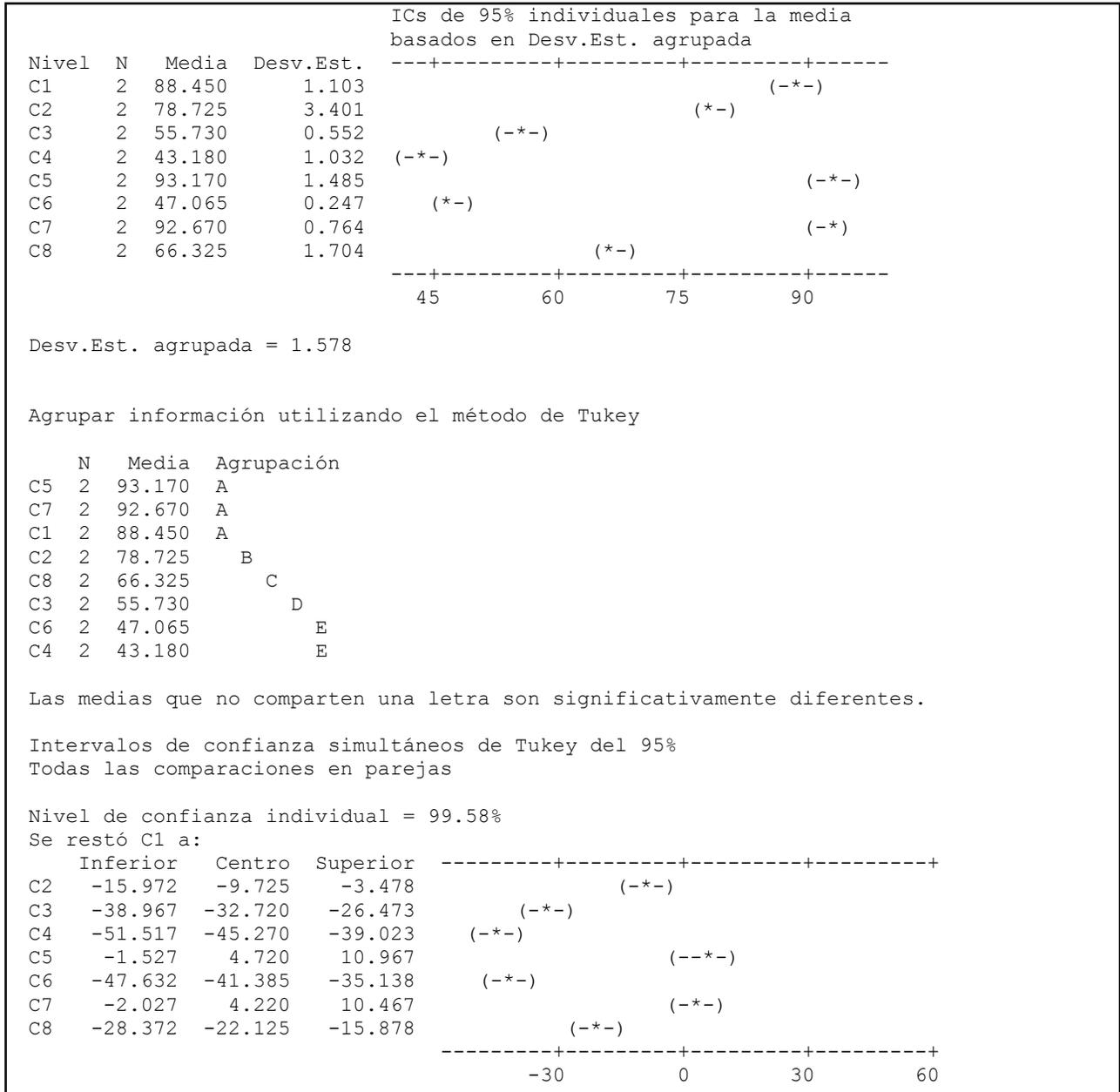


Figura C.4 Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) sobre la variable de actividad residual.

## APÉNDICE D

En la Figura D1, D2 y D3 se muestran las gráficas de resultados del análisis sensorial de distintas formulaciones, evaluando sabor color, olor, y textura con adición de apio

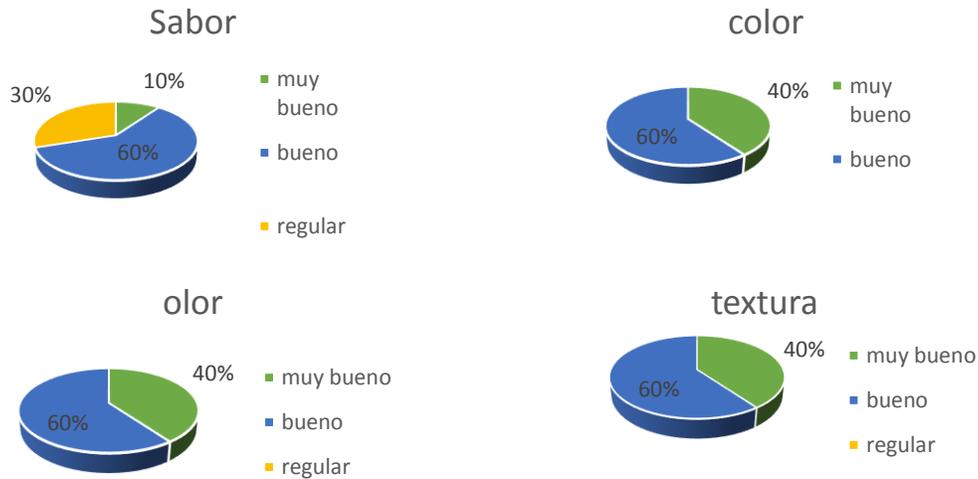


Figura D1. formulación Hass- apio 5%.

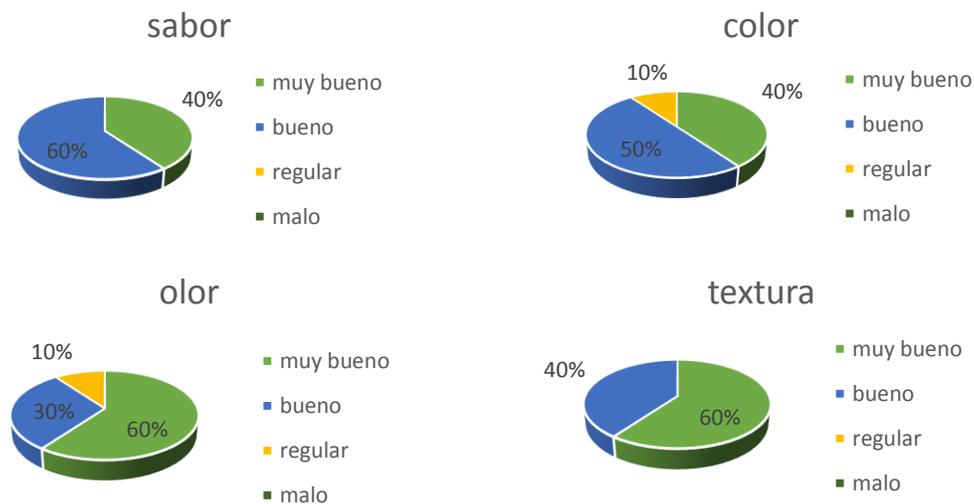


Figura D2. formulación Hass- apio 10%.

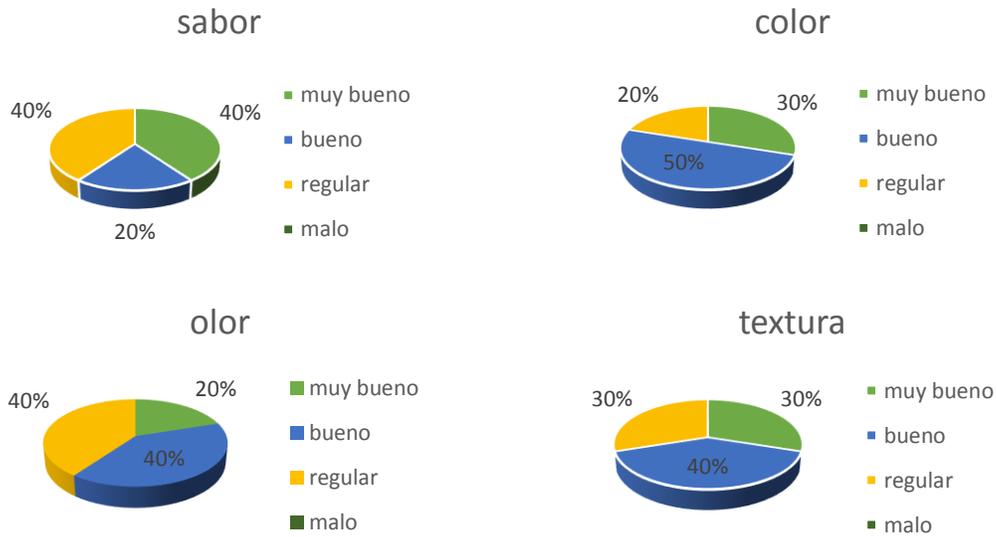


Figura D3. formulación Hass- apio 20%.

## APÉNDICE E

En la Figura E1, E2 y E3 se muestran las gráficas de resultados del análisis sensorial de distintas formulaciones, evaluando sabor color, olor, y textura con adición de mucílago de nopal.

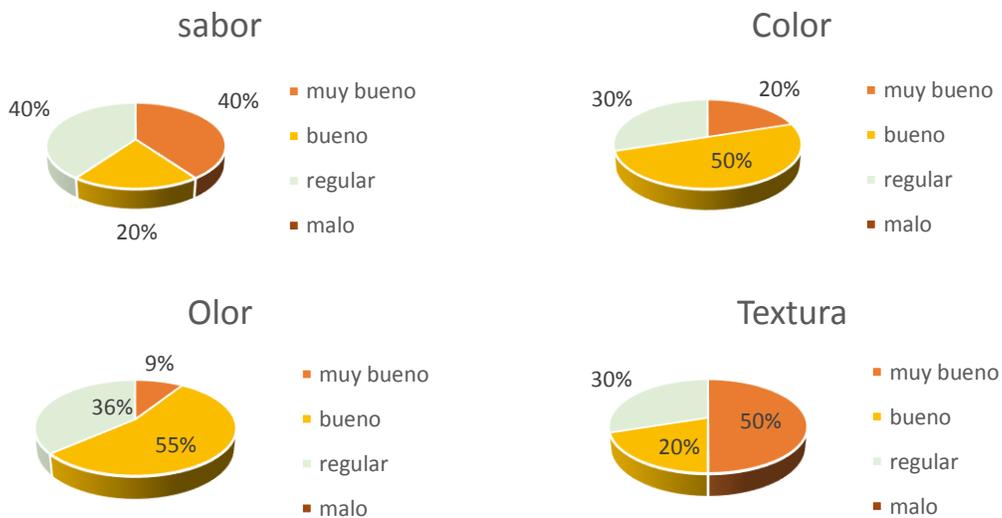


Figura E1. formulación Hass- mucílago 5%.

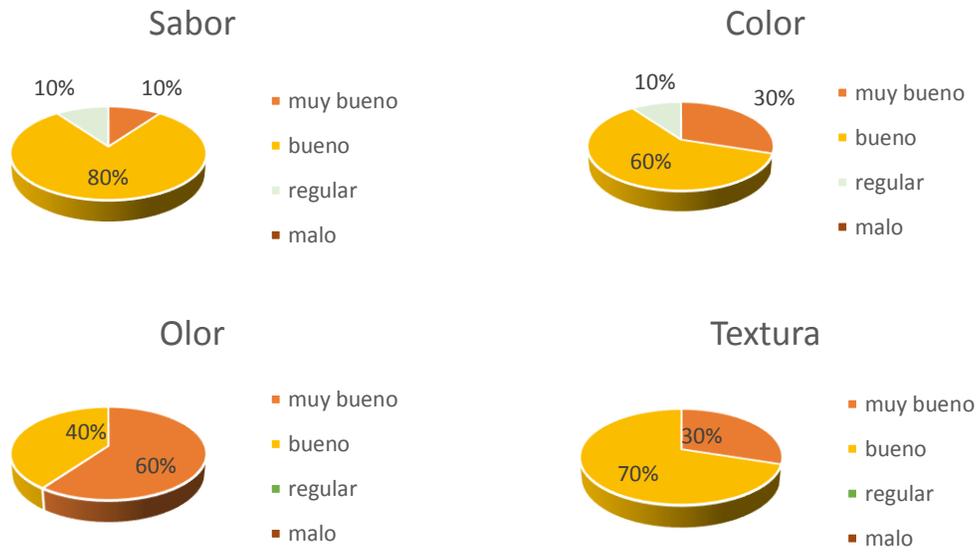


Figura E2. formulación Hass- mucílago 10%.

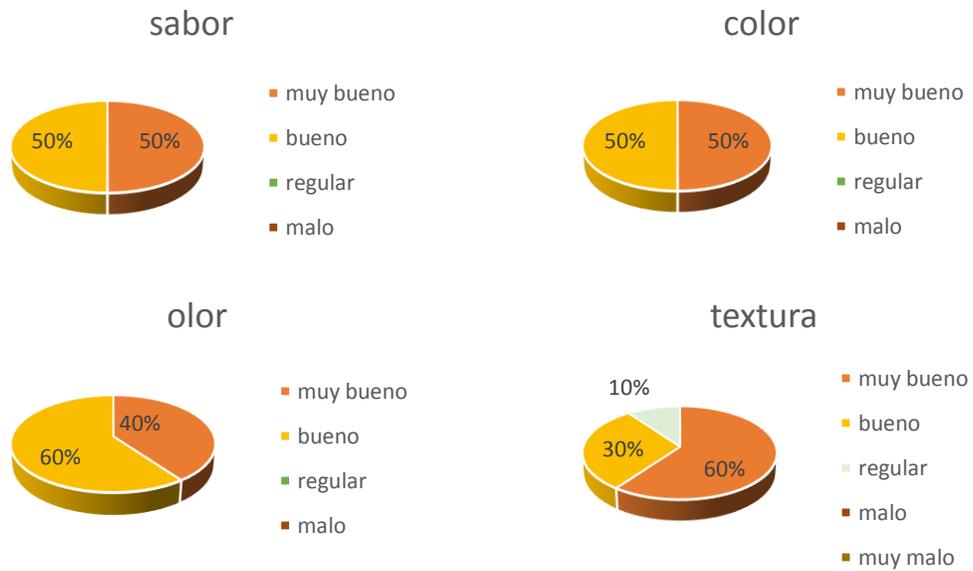


Figura E3. formulación Hass- mucílago 10%.