

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

“Influencia de la Temperatura en la Inactivación de la
Pectinmetilesterasa Durante Tratamiento Térmico en la Pulpa de
Badea (*p. quadrangularis*)”

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERA DE ALIMENTOS

Presentado por

Andrea Paola Guerrero Jaramillo

GUAYAQUIL – ECUADOR

AÑO: 2008

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la fortaleza para culminar ésta importante etapa de mi vida, a mi mamá, a mi hermana, a mi tía Gladys y amigos por el apoyo que me brindaron en el desarrollo de mi carrera y a mi formación humana.

A todos quienes colaboraron para hacer posible la realización de ésta tesis y especialmente a mi directora MSc. Priscila Castillo por su invaluable ayuda.

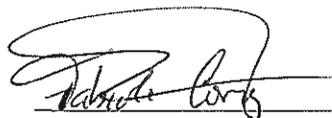
DEDICATORIA

A MI MAMÁ

A MI HERMANA

TRIBUNAL DE GRADUACION

4.3



Ing. Fabiola Cornejo Z
DELEGADA DEL DECANO FIMCP
PRESIDENTA



MSc. Priscila Castillo S
DIRECTORA DE TESIS



Dr. David Chóez C.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)



Andrea Paola Guerrero Jaramillo

RESUMEN

El objetivo de ésta tesis es la evaluación de la influencia de la temperatura en la inactivación enzimática de la pectinmetilesterasa, en la pulpa de badea (*passiflora quadrangularis*), y su efecto en la reología de la pulpa. Para lo cual, es preciso conocer los valores cinéticos durante su tratamiento térmico, con el fin de determinar el tiempo y la temperatura adecuada para su inactivación.

La pulpa presentó un contenido inicial de 1,105 UPE/ml (unidades de pectinmetilesterasa/ml), a un pH de 4,5. Los experimentos realizados sirvieron para establecer la cinética de inactivación enzimática en un rango de temperaturas de 70-90°C y a presión atmosférica. Demostrándose que a 90°C se obtiene una mayor constante de velocidad de inactivación que en las otras temperaturas evaluadas. El valor Z determinado para la fruta es de 38°C. La inactivación de la enzima siguió una cinética de primer orden. El tiempo de inactivación térmica se determinó mediante el cálculo teórico y

ensayos reológicos. Se determinó que la pulpa fresca presenta un comportamiento no-newtoniano, y se caracterizó reológicamente con tratamientos térmicos a diferentes tiempos *D*. Adicionalmente se realizó una prueba sensorial triangular, con lo cual se estableció que si existen diferencias significativas a niveles de significancia del 1% y 5%, a una temperatura de 90°C, entre pulpas con tratamientos térmicos y pulpa fresca.

Finalmente se presenta un diagrama de flujo, el que esquematiza las etapas de proceso del producto, además de su respectiva descripción. Conjuntamente, se describe las principales características de los intercambiadores de calor adecuados para el procesamiento de pulpas de frutas.

INDICE GENERAL

| | Pág. |
|---|------|
| RESUMEN..... | I |
| ÍNDICE GENERAL..... | III |
| ABREVIATURAS..... | VII |
| SIMBOLOGIAS..... | VIII |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | IX |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | XI |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| | |
| CAPITULO 1 | |
| 1. GENERALIDADES | |
| 1.1 Materia Prima..... | 3 |
| 1.2 Producto..... | 6 |
| 1.3 Factores que afectan la calidad en productos derivados de frutas..... | 9 |
| 1.3.1 Enzimas pécticas..... | 11 |
| 1.3.1.1 Enzima pectinmetilesterasa..... | 13 |
| 1.4 Reología en alimentos..... | 15 |
| 1.4.1 Fluidos No-newtonianos..... | 17 |
| 1.5 Procesamiento térmico continuo..... | 20 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| 1.5.1 Intercambiadores de calor..... | 22 |
|--------------------------------------|----|

CAPITULO 2

2 MATERIALES Y METODOS

| | |
|---|----|
| 2.1 Determinación de cinéticas de inactivación enzimática..... | 25 |
| 2.1.1 Preparación de muestra..... | 25 |
| 2.1.1.1 Obtención y Análisis físico-químico de la pulpa Fresca..... | 25 |
| 2.1.1.2 Estandarización de la pulpa fresca..... | 27 |
| 2.1.2 Tratamiento térmico..... | 30 |
| 2.1.3 Análisis de la actividad de la enzima pectinmetilesterasa..... | 34 |
| 2.1.4 Método de cálculo para determinación de valor K y D | 38 |
| 2.1.5 Método de cálculo para determinación de valor Z y energía de activación..... | 39 |
| 2.2 Caracterización reológica de la pulpa..... | 40 |
| 2.3 Determinación de tiempo de inactivación térmica..... | 41 |
| 2.3.1 Cálculo teórico mediante ecuación diferencial de primer Orden..... | 42 |
| 2.3.2 Ensayos reológicos..... | 42 |
| 2.4 Evaluación sensorial..... | 47 |
| 2.4.1 Preparación de las muestras..... | 48 |
| 2.4.2 Método estadístico de análisis de resultados..... | 50 |
| 2.5 Caracterización de pulpa con tratamiento térmico..... | 51 |

| | | |
|-------|---|----|
| 2.5.1 | Análisis químico de la pulpa con tratamiento térmico... | 51 |
|-------|---|----|

CAPÍTULO 3

3 RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

| | | |
|-------|---|----|
| 3.1 | Análisis físico-químico y estandarización de pulpa previo tratamiento térmico..... | 53 |
| 3.2 | Evaluación de las cinéticas de inactivación enzimática de PME..... | 55 |
| 3.2.1 | Determinación de valores D , Z y energía de activación..... | 59 |
| 3.3 | Caracterización reológica de la pulpa..... | 63 |
| 3.4 | Determinación de tiempo de inactivación térmica para PME..... | 69 |
| 3.5 | Análisis estadístico de prueba sensorial..... | 76 |
| 3.6 | Caracterización de pulpa con tratamiento térmico..... | 78 |

CAPÍTULO 4

4 PROCESO DEL PRODUCTO

| | | |
|-------|--|----|
| 4.1 | Diagrama de Flujo..... | 83 |
| 4.2 | Descripción del proceso..... | 84 |
| 4.3 | Características de intercambiadores de calor..... | 88 |
| 4.3.1 | Intercambiador de calor de tubos concéntricos..... | 90 |
| 4.3.2 | Intercambiador de calor de superficie raspada..... | 91 |
| 4.3.3 | Intercambiador multitubo modificado..... | 93 |

CAPITULO 5

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... 95

APÉNDICES.

BIBLIOGRAFÍA.

ABREVIATURAS

| | |
|-----------------|---------------------------|
| cm | Centímetro |
| cP | Centipoise |
| °Brix | Grados Brix |
| °C | Grado centígrado |
| g | Gramo |
| NaOH | Hidróxido de sodio |
| Índice de cons. | Índice de consistencia |
| kcal | Kilo calorías |
| màx. | Máximo |
| m | Metro |
| ml | Mililitro |
| min | Minuto |
| Pa.s | Pascal segundo |
| RPM | Revoluciones por minuto |
| RPS | Revoluciones por segundo |
| s | Segundo |
| UPE | Unidades de pecinesterasa |
| Veloc. Rot. | Velocidad Rotacional |

SIMBOLOGIA

| | |
|----------------|--|
| E_N | Enzima activa a un determinado tiempo |
| E_{N0} | Número inicial de enzimas |
| D | Valor de reducción decimal |
| K | Constante de velocidad de reacción |
| F | Valor F [min] |
| $-d[E_N]/dt$ | Proporción a la cual decrece el número de microorganismos, enzimas o atributo de calidad. |
| n | Índice de comportamiento al flujo (adimensional) |
| k | Índice de consistencia [Pa.s ⁿ] |
| μ_{ap} | Viscosidad aparente [Pa.s] |
| π | Valor Pi |
| N | Velocidad rotacional [RPM] |
| Z | Factor de resistencia térmica [°C] |
| E_a | Energía de activación [Kcal/mol] |
| V | Consumo de hidróxido de sodio [ml] |
| N | Normalidad de la solución |
| T | Tiempo de agitación [min] |
| A | Alícuota [ml] |
| % | Porcentaje |
| $\dot{\gamma}$ | Velocidad de deformación [s ⁻¹] |
| τ | Esfuerzo cortante [Pa] |
| V | Velocidad angular [radianes/seg.] |
| UPE/UPE_0 | índice de actividad residual de la enzima pectinmetilesterasa |
| z | Estadístico z de la curva normal |
| x_1 | Número de aciertos o respuestas correctas |
| n_e | Número de ensayos |
| m | Número esperado de éxitos o del valor medio de n_e ensayos, y equivale a np |
| s | Desviación estándar o típica, también equivalente a $(np(1-p))^{1/2}$ |
| p | Probabilidad de éxito o acierto en cada ensayo (1/2 tratándose de pruebas pareadas y 1/3 tratándose de pruebas triangulares) |

INDICE DE FIGURAS

| | | Pág. |
|----------|---|------|
| Fig. 1.1 | Fruta <i>passiflora quadrangularis</i> | 5 |
| Fig. 1.2 | Modelo de pectina y puntos de acción de las enzimas PME y PG..... | 12 |
| Fig. 2.1 | Diagrama de flujo de la metodología a seguir para la realización de las pruebas experimentales..... | 23 |
| Fig. 2.2 | Muestras colocadas en los tubos de ensayo respectivamente rotulados..... | 29 |
| Fig. 2.3 | Sistema utilizado para el análisis de actividad enzimática de la PME..... | 35 |
| Fig. 2.4 | Equipo de Baño María y termómetro digital utilizados para realizar las pruebas experimentales de tratamiento térmico..... | 45 |
| Fig. 2.5 | Viscosímetro rotacional, marca Brookfield, modelo RVT... | 46 |
| Fig. 2.6 | Sistema para la determinación de viscosidad..... | 47 |
| Fig. 2.7 | Presentación de las muestras y demás implementos para la prueba sensorial..... | 50 |
| Fig. 3.1 | Inactivación térmica de enzima PME en pulpa de badea a diferentes temperaturas..... | 57 |
| Fig. 3.2 | Gráfica para el cálculo del parámetro Z de la enzima PME | 61 |
| Fig. 3.3 | Gráfica de Arrhenius de velocidades de inactivación térmica..... | 62 |
| Fig. 3.4 | Cambio de la viscosidad aparente a diferentes velocidades de rotación (RPS.)..... | 63 |
| Fig. 3.5 | Gráfica para determinación de parámetros reológicos n y k..... | 65 |
| Fig. 3.6 | Curva de flujo obtenida en la muestra a 26 °C..... | 67 |
| Fig. 3.7 | Comportamiento del k a través del tiempo en diferentes tratamientos térmicos y pulpa fresca..... | 76 |
| Fig. 3.8 | Comparación de tiempos de reducción decimal entre microorganismos y componentes alimenticios..... | 81 |

| | | |
|----------|---|----|
| Fig. 4.1 | Diagrama de flujo de proceso del producto..... | 86 |
| Fig. 4.2 | Intercambiador de calor de tubos concéntricos..... | 93 |
| Fig. 4.3 | Intercambiador de calor de superficie raspada..... | 94 |
| Fig. 4.4 | Intercambiador de calor de tubo fibratubo..... | 96 |
| Fig. A | Sistema para le determinación de ácido ascórbico..... | A |
| Fig. C | Principales elementos del viscosímetro de Brookfield..... | C |
| Fig. H | Hoja de resultados presentada a los jueces..... | H |

INDICE DE TABLAS

| | | Pág. |
|----------|---|------|
| Tabla 1 | Composición química y valor nutritivo en la pulpa y arilo de la <i>pasiflora quadrangularis</i> | 6 |
| Tabla 2 | Características de flujo de alimentos..... | 19 |
| Tabla 3 | Temperaturas y tiempos para la obtención de la cinética de inactivación enzimática de la PME..... | 30 |
| Tabla 4 | Características químicas del mesocarpio y arilo de la badea, y estandarización | 54 |
| Tabla 5 | Actividad de Pectinesterasa..... | 56 |
| Tabla 6 | Actividad residual de la enzima PME a 70 °C a través del tiempo..... | 59 |
| Tabla 7 | Valores de contante de velocidad (k) de la enzima PME en pulpa de badea..... | 60 |
| Tabla 8 | Valore de D y Z para la inactivación de la enzima PME | 61 |
| Tabla 9 | Valores Z para diversas frutas..... | 62 |
| Tabla 10 | Datos registrados y calculados para determinación de parámetros reológicos..... | 65 |
| Tabla 11 | Parámetros reológicos reportados en frutas..... | 69 |
| Tabla 12 | Tiempos de inactivación térmica reportados en diversos productos | 70 |
| Tabla 13 | Resultados experimentales de ensayo reológico en muestra con tratamiento térmico $2D$ | 71 |
| Tabla 14 | Resultados experimentales de ensayo reológico en muestra sin tratamiento térmico..... | 72 |
| Tabla 15 | Resultados experimentales de ensayo reológico en muestra con tratamiento térmico $2D$ | 74 |
| Tabla 16 | Resultados experimentales de ensayo reológico en muestra con tratamiento térmico $3D$ | 75 |
| Tabla 17 | Resultados experimentales de ensayo reológico en muestra con tratamiento térmico $4D$ | 76 |
| Tabla 18 | Porcentajes de disminución de k en los diferentes tratamientos térmicos y pulpa fresca..... | 78 |
| Tabla 19 | Características químicas de la pulpa con tratamiento térmico..... | 80 |

| | | |
|----------|--|----|
| Tabla 20 | Factores de resistencia térmica del ácido ascórbico en diferentes productos..... | 83 |
| Tabla 21 | Factores del viscosímetro de Brookfield modelo RVT..... | F |

INTRODUCCION

En Ecuador se cultiva una gran variedad de frutas, entre las cuales ésta la badea (*passiflora quadrangularis*). Dicha fruta se encuentra en los mercados prácticamente durante todo el año, su consumo a nivel nacional es en estado fresco en forma de jugo. Luego de cuatro a cinco días de ser cosechada y mantenida a temperatura ambiente, se encuentra en su estado óptimo para ser consumida. Por lo que, su vida útil es corta, lo cual constituye una limitante para incrementar su comercialización en estado fresco. Su procesamiento es una buena opción para su conservación. Además, la tecnología requerida para la obtención de pulpas de frutas es accesible y las pulpas otorgan la ventaja de ser base para la elaboración de diversos productos. Por otro lado, la presencia de enzimas residuales en productos procesados puede ser indicador de pérdida en su calidad, la enzima pectinmetilesterasa es una de ellas, la cual ésta involucrada en la pérdida de consistencia particular en las pulpas, además causa pérdida en la turbiedad en los jugos. El tratamiento térmico es la más común tecnología utilizada en el procesamiento de alimentos, para la inactivación de enzimas y microorganismos.

Todas estas consideraciones motivaron a proponer el objetivo de ésta tesis, el cual es evaluar la influencia de la temperatura en la inactivación enzimática de la pectinesterasa, en la pulpa de badea (*pasiflora quadrangularis*). Para lo

cual, fue preciso conocer los valores cinéticos durante su tratamiento térmico, con el fin de determinar el tiempo y la temperatura adecuada para su procesamiento y el efecto de dicha inactivación en la consistencia del producto. Aunque, los tratamientos térmicos tienen como objetivo principal la inactivación de microorganismos, en ésta tesis la elección de la enzima pectinesterasa como base para el estudio del tratamiento térmico, es debido a que, al inactivar ésta enzima es posible obtener productos microbiológicamente seguros, ya que los microorganismos de interés en la pulpa de badea con un pH entre 4 a 4,5; como mohos, levaduras, bacterias anaerobias facultativas, requieren de tratamientos de calor leves para su inactivación.

Para lograr el objetivo de ésta tesis, se efectuaron pruebas experimentales, como el análisis físico-químico y estandarización de la pulpa fresca; tratamiento térmico de la pulpa y análisis de la actividad enzimática residual, con el fin de hallar las constantes de velocidad de inactivación enzimática de pectimetilestera. Luego, se determinó el tiempo de inactivación térmica de la PME. Además, se caracterizó reológicamente a la pulpa fresca y tratada térmicamente. La información acerca del procesamiento de la badea es escasa. Por lo que, la realización de ésta tesis contribuirá al procesamiento y consumo de la misma.

CAPÍTULO 1

1. GENERALIDADES

1.1 Materia Prima

La *passiflora quadrangularis* (figura 1.1) es originaria de América Central, se encuentra frecuentemente en ciertas áreas tropicales de América. La *p. quadrangularis* toma diferentes nombres según el país de origen: Badea (Colombia, Ecuador), Granadilla de fresco (El Salvador), Granadilla real (Bolivia), Parcha granadilla (Venezuela), Sandía de pasión (Bolivia), Tumbo (Perú) (9). Es la fruta de mayor tamaño de la familia de las pasifloras. La masa fresca oscila entre 1,09 y 1,32 kg, siendo al menos nueve veces mayor a los valores de otras pasifloras. Por otra parte, el diámetro polar varía entre 20,0 y 22,8 cm y el ecuatorial entre 11,0 y 12,7 cm (14). La fruta está conformada por cáscara delgada amarillo verdosa, pulpa gruesa esponjosa, harinosa, jugosa, sabor dulce poco marcado y levemente

ácido, de color blanco con toques rosas o amarillos de más o menos 2,5 cm de grueso; y semillas duras, aplanadas, recubiertas por un arilo de color salmón traslucido, de sabor agradable, jugoso y subácido (9). Presenta un alto porcentaje de pulpa (84,4 %) lo que induce bajos porcentajes de semilla (3,5 %) y jugo (11,9 %). Generalmente la parte comestible de las pasifloras está contenida en el arilo, no obstante por el hecho de usarse la pulpa para preparar bebidas, bien sea conjuntamente con el arilo del propio fruto o mezclado con otros frutos, el bajo porcentaje de jugo no debe considerarse como una característica indeseable (14).

Cuatro días después de la cosecha, el fruto está fisiológicamente maduro y muy perecible expuesto a temperatura ambiente. Por lo que, debe consumirse inmediatamente; ya que, en pocos días se deteriora. (14). Es de fácil cultivo y adaptación a diferentes suelos y climas; su cultivo es transitorio, su ciclo vegetativo o de crecimiento generalmente menor a un año, llegando incluso a ser de unos pocos meses (17). Entre los cantones en los que se cultiva ésta fruta están: El Empalme, Yaguachi, Balzar, Milagro y Naranjal; además en la parroquia Chongón en la provincia del Guayas; en Vinces, Quevedo, Babahoyo, de la provincia de Los Ríos y en la provincia de Santa Elena (18).



FIGURA 1.1. FRUTA *Passiflora quadrangularis*
Fuente: 9

La pulpa de *Passiflora quadrangularis* es un alimento energético, que aporta minerales, particularmente hierro y vitaminas A y C. Apreciada por su delicado sabor y aroma; se le atribuyen propiedades digestivas y antiescorbúticas, y propiedades medicinales para el tratamiento del colesterol alto. La tabla 1, muestra el valor nutricional de la fruta. Es una de las pasifloras más interesantes, por sus excelentes propiedades como alimento suave y sus posibles usos en la medicina (9). Según la Federación Ecuatoriana de Exportadores, entre las frutas exóticas que son objeto de análisis por tener perspectivas favorables de expansión en países como Argentina y Brasil, están: Borojó, babaco, badea, tomate de árbol y maracuyá. Argentina exonera de arancel a la importación de estos frutos y ya se han establecido canales de comercialización. Mientras que Brasil, exonera de arancel la importación de estas frutas

ecuatorianas (17). Entre los principales países exportadores de ésta fruta están: Irán, Irak y Colombia; mientras que los principales países importadores son: Alemania, Holanda, Francia y Estados Unidos (18).

**TABLA 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO
EN LA PULPA Y ARILO DE *Passiflora quadrangularis***

| COMPONENTES | En 100 g. de pulpa | En 100 g de líquido y arilo |
|--------------------|---------------------------|------------------------------------|
| Energía | 98.00 cal. | 41,0 cal |
| Agua | 72.50 g. | 87,9 g. |
| Proteínas | 4.00 g. | 0,9 g. |
| Lípidos | 0.70 g. | 0,2 g. |
| Carbohidratos | 22.00 g | 10,1 g. |
| Fibra | 12.00 g. | 0 g. |
| Ceniza | 0.80 g. | 0,9 g. |
| Calcio | 43.00 mg. | 10,0 mg. |
| Fósforo | 31.00 mg. | 22,0 mg. |
| Hierro | 5.20 mg. | 0,6 mg. |
| Vitamina A | 30.00 mg. | 70 U.I. |
| Tiamina | 0.04 mg. | 0,0 mg. |
| Riboflavina | 0.04 mg. | 0,1 mg. |
| Niacina | 0.50 mg. | 2,7 mg. |
| Vitamina C | 33.00 mg. | 20,0 mg. |

Fuente: 8 y 13

1.2 Producto

En Ecuador la principal forma de consumo de la badea es en jugo, se lo puede consumir con o sin pepas. Algunas amas de casa le agregan un poco de canela (17). Además con la pulpa y semillas de la fruta madura se pueden preparar como: papillas, néctares y jaleas, de alta aceptación. A menudo se mezcla la pulpa con el arilo en batidos, los frutos inmaduros se hierven y se consumen como verdura (9). A pesar de que es consumida principalmente como fruta fresca en forma de jugos, se conoce que algunas empresas, en otros países han utilizado su pulpa como materia prima en la elaboración de jugos como sustituto de la pera (14).

La perecibilidad de la fruta constituye una limitante para incrementar su consumo fresco y uso industrial, es por ello que para promover su consumo fresco y como materia prima industrial y consecuentemente su cultivo, es necesario darle un valor agregado a ésta fruta "exótica", procesándola como producto semielaborado. Por ejemplo, pulpa o puré. Estos son los productos más comunes, ya que además de consumirse como tal pueden ser empleado para la elaboración de zumos de frutas con pulpa, néctares de frutas, alimentos infantiles, mermeladas, jaleas, bebidas, etc. El uso de las pulpas o los purés como base para la elaboración de los productos anteriormente mencionados, presenta una serie de ventajas bien definidas frente al

método tradicional de utilizar la fruta como materia prima, ya que permite: reducir costos de almacenamiento, por reducción de volumen, reducir costos de transporte, ampliar tiempo de conservación, ya que se reducen las posibles alteraciones por microorganismos y enzimas.

Puré, pulpa o cremogenado de fruta se entiende al producto susceptible de fermentación pero no fermentado, obtenido mediante procedimientos idóneos, por ejemplo tamizando, triturando o desmenuzando la parte comestible de la fruta entera o pelada sin eliminar el zumo (jugo) (CODEX STAN 247-2005). La fruta deberá estar en buen estado, debidamente madura y fresca, o conservada por procedimientos físicos o por tratamientos aplicados de conformidad con las disposiciones pertinentes de la Comisión *Codex Alimentarius*. Los pasos básicos para su obtención son: recepción, selección, lavado, pelado, pulpeado, tratamiento térmico, envasado, almacenamiento. Antes del tratamiento térmico se remueve el aire del alimento mediante vacío. Los purés o pulpas de frutas normalmente se conservan mediante un tratamiento térmico, seguido de un almacenamiento en refrigeración o congelación. Algunas veces se conserva por congelación sin ningún tratamiento térmico o por

procesamiento aséptico, empacado y almacenado a temperatura ambiente.

1.3 Factores que afectan la calidad en productos derivados de frutas.

La presencia de enzimas residuales endógenas, tanto en frutas o vegetales, frescos o procesados, puede causar pérdidas en su calidad durante el procesamiento o el almacenamiento. Estos cambios pueden afectar la textura, color, sabor y calidad nutricional del producto (12). Algunos ejemplos de éstas incluye las enzimas pectinesterasas y poligalacturonasas, las cuales están relacionadas en la degradación de pectinas y consecuentemente afecta la viscosidad y textura del producto. Las lipoxigenasas contribuyen al desarrollo de sabores desagradables, y la peróxidasa, la cual es responsable del desarrollo del oscurecimiento en diversos productos (12). En algunos casos se escoge a la peroxidasa, como indicador de tratamiento térmico, por su alta estabilidad térmica; pero esto puede ser una ventaja o un problema, ya que, si la peróxidasa es inactivada, se asumiría que las otras enzimas relacionadas con la calidad también han sido inactivadas; pero se correría el riesgo de tener un excesivo tratamiento térmico del producto y causar otros problemas en la calidad (12).

Otro de los factores, que causan alteraciones en la calidad del producto, son los microorganismos. Alteraciones como fermentaciones que son causadas en su mayoría por levaduras, aunque también algunas bacterias anaerobias facultativas y mohos pueden originar modificaciones no deseadas en estos productos. Además, de las condiciones nutritivas que representa la composición de la fruta para los microorganismos, el pH juega un papel primordial como factor seleccionador y como retardante o inhibidor del crecimiento microbiano (3). Los principales microorganismos de deterioro en productos derivados de frutas son los mohos, levaduras, bacterias ácido lácticas y bacterias ácido acéticas, ya que toleran el ambiente de alta acidez presente en las frutas (10). Estos microorganismos son termolábiles, por lo general un calentamiento de algunos minutos a 85 – 90°C permite eliminarlos; en algunas ocasiones se recurre a temperaturas más elevadas, ya sea para inactivar enzimas o para reducir la duración del tratamiento térmico con el fin de conservar mejor así los caracteres organolépticos del producto (3). Alimentos considerados de baja acidez, pH mayor a 4,5, se requiere la destrucción de bacterias productoras de esporas, por lo que necesitan tener tratamientos térmicos más severos (10). El pH de la bodega, permite el desarrollo de microorganismos, tales como: mohos, levaduras y bacterias acidúricas.

1.3.1 Enzimas Pécnicas

La textura es un atributo de calidad muy importante en los alimentos. En las frutas y en los vegetales, la textura se debe principalmente a carbohidratos complejos: sustancias pécticas, celulosas, hemicelulosas y lignina. Hay una o más enzimas que actúan sobre cada uno de los carbohidratos complejos que son importantes para la textura de los alimentos (4). Las sustancias pécticas son complejos heteropolisacáridos con una estructura galacturónica. Las enzimas pécticas están definidas y clasificadas en base a su acción en dicha estructura (5).

Estas enzimas se las ha clasificado en: Pectinmetilesterasas o pectinesterasas, son las más abundantes e importantes en las frutas, sobre todo en los cítricos como las naranjas. Poligalacturonasas, rompen el enlace glucosídico α (1,4) de las pectinas por una acción que se puede llevar a cabo tanto en el interior del polímero (endo) como a partir de los extremos; cuando lo hacen en la primera forma, la viscosidad se reduce rápidamente y cuando actúan en la segunda manera, la viscosidad no se afecta tanto. Junto con la pectinmetilesterasa integran el sistema de pectinasas de las

frutas (3). La figura 2.2 muestra el modo de acción de éstas dos enzimas. Pectinliasas, generalmente no se encuentran en las frutas; sólo la producen los hongos, por lo que las contaminaciones microbianas de las frutas (antes o después de la cosecha), traen consigo problemas muy graves (5).

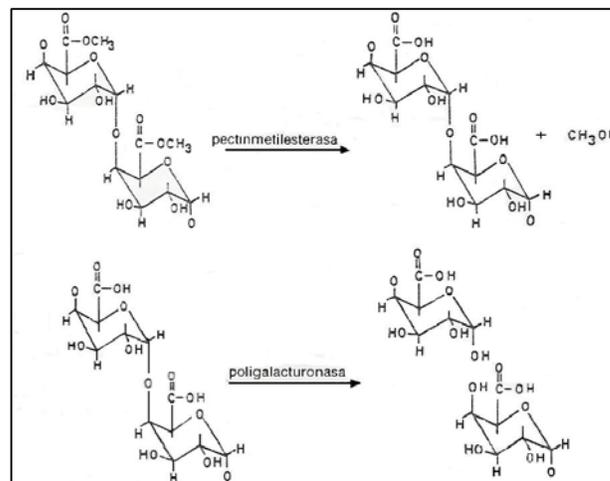


FIGURA 1.2. MODELO DE PECTINA Y PUNTOS DE ACCIÓN DE LAS ENZIMAS PME Y PG.

Fuente: 5

Las enzimas pécticas se encuentran en plantas superiores y microorganismos. Estas enzimas son de importancia comercial, ya que se utilizan en la elaboración de jugos y bebidas para ayudar a la filtración, clarificación y así aumentar el rendimiento (5).

1.3.1.1 Enzima Pectinmetilesterasa

En las frutas se encuentran fundamentalmente la PME y PG, cuya acción conjunta en la maduración provoca que las pectinas se degraden y el fruto adquiera una textura más adecuada para ser consumido; por otra parte, una excesiva actividad enzimática causa ablandamiento notorio, pérdida de textura, propicia las condiciones para un ataque microbiano (4).

Pectinmetilesterasas hidrolizan los enlaces éster metílico de la pectina, liberan metanol y producen pectinas de bajo metoxilo. Esta enzima es también denominada pectinesterasa, pectasa, pectin demetoxilasa (4). Ataca a la cadena de pectina a partir de los grupos carboxilos libres y procede linealmente a través de la molécula dejando bloques sucesivos de residuos de ácido galacturónico con grupos carboxilos libres. Esto provoca la liberación del metanol y formación de ácido péctico, que en presencia de iones divalentes, como el calcio, conduce a un incremento de la consistencia debido a la formación de puentes cruzados entre el Ca^{+2} y los grupos carboxilo de

ácidos pécticos. Son las más abundantes e importantes en las frutas, sobre todo en los cítricos (5). La PME aumenta la susceptibilidad de la pectina a una posterior degradación por PG, esto ocurre porque ésta enzima actúa solo en los segmentos de la cadena de pectina que han sido desmetilados por la PME, la PG rompe la cadena del ácido poligacturónico de la pectina y reduce la longitud promedio de las cadenas pectínicas, lo que genera una reducción en la viscosidad del producto (12)

Los jugos de tomate, de naranja, de limón, de toronja, etc., deben su viscosidad y turbiedad a las pectinas en suspensión que se liberan de sus tejidos en el proceso de extracción. La acción de las pectinesterasa causa la hidrólisis, la desesterificación y la desestabilización de los colides, provocando su precipitación y la consecuente pérdida de sus características. El consumidor no acepta estos jugos sin su correspondiente turbiedad; por lo tanto es necesaria su inactivación mediante tratamientos térmicos (5). El pH óptimo para la pectinesterasa proveniente de

plantas hasta el momento estudiadas, se encuentran en un rango ligeramente alcalino, pH 7- 9. Mientras que, las provenientes de microorganismos se encuentran del lado ácido. Aunque, se han encontrado fracciones de enzimas activas de PME en la naranja, a un pH de 3,5 y a medida que éste se incrementa, la actividad lo hace también. (5).

Varios de los constituyentes de una reacción enzimática se ionizan o disocian en función del pH. Entre los constituyentes que se pueden ionizar se encuentran el sustrato, el cofactor (si se necesita) y los grupos esenciales ionizables del centro activo de la enzima. La asociación/ disociación se produce en la unión del sustrato y el cofactor al centro activo. La fuerza iónica de la solución se debe mantener constante a todos los niveles mediante el uso de NaCl o KCl (4).

1.4 Reología en Alimentos.

La reología se define como la ciencia que estudia la deformación y el flujo de la materia. Mientras que la reología de alimentos se ha definido como “el estudio de la deformación y flujo de las materias primas sin procesar, los productos intermedios o semielaborados, y los productos finales de la industria alimentaria”.

El estudio de la reología de alimentos está actualmente intensificado por las razones siguientes: los datos de las propiedades reológicas son indispensable para el cálculo y diseño de equipos como bombas, intercambiadores de calor, evaporadores, deshidratadores y todos los equipos en los que existe flujo o cambios en la consistencia. Son índices actuales de control de calidad. Conducen a relacionar la consistencia con la aceptabilidad de los alimentos por medidas físicas, etc. (1). Desde el punto de vista del proceso resulta imprescindible una adecuada caracterización reológica del producto.

A lo largo de su elaboración este producto es sometido a una serie de manipulaciones y tratamientos como circulación a través de tuberías y equipos de proceso, tratamientos de calentamiento y enfriamiento en la que tiene lugar una transferencia de calor, y otras operaciones como tamizado. En todas éstas operaciones las características reológicas del producto desempeñan un papel fundamental.

1.4.1 Fluidos No-newtonianos

Un fluido puede ser visualizado como materia compuesta de diferentes capas, las cuales se empiezan a mover tan pronto una fuerza actúa de forma paralela sobre ellas. Dicha fuerza se la conoce como esfuerzo cortante o de cizalla (τ). La fuerza de resistencia al movimiento, ofrecida por el fluido se la conoce como viscosidad (μ). La relación entre el (τ) requerido para inducir una determinada velocidad de deformación o cizalla ($\dot{\gamma}$), define el comportamiento reológico de un fluido. Los fluidos se clasifican en tres grandes grupos: Fluidos que se comportan de manera independiente del tiempo cuando son sometidos a tensión, fluidos que son dependientes del tiempo, y fluidos viscoelásticos (1). Los fluidos con comportamiento independiente del tiempo son: Fluidos newtonianos, la razón a la cual el material se deforma es proporcional a la fuerza aplicada.

$$\tau = \mu (\dot{\gamma})$$

En cuyo caso es correcto llamar a la constante de proporcionalidad μ , viscosidad (1). Los fluidos que se desvían de éste comportamiento son llamados no-newtonianos, en los cuales el término “viscosidad aparente” se utiliza como un

índice de la consistencia del fluido. Entre éstos se encuentran:
 Fluidos dilatantes, en los cuales la viscosidad aparente aumenta a medida que aumenta la velocidad de cizalla. El modelo de fluido aplicable, es la ley de potencia o de Ostwald de Waelle.

$$\tau = k (\dot{\gamma})^n$$

Siendo k el índice de consistencia del fluido, y n el índice de comportamiento al flujo, que en el presente caso será mayor a la unidad. Fluidos seudoplásticos, en los cuales la viscosidad aparente disminuye a medida que aumente la velocidad de cizalla, en consecuencia el índice de comportamiento al flujo será menor que la unidad (1). Fluidos Bingham o plásticos, requieren un esfuerzo inicial para que comience el flujo, luego del cual el comportamiento es newtoniano. En la ecuación se incluye a la constante c que se denomina esfuerzo de fluencia.
 Modelo de Bingham:

$$\tau = k (\dot{\gamma}) + c$$

Fluidos Bingham-seudoplásticos o tipo mixto, los cuales, además de necesitar un esfuerzo inicial, presentan un comportamiento seudoplástico. Se rigen por el modelo Herschel-Bulkley (6):

$$\tau = k (\dot{\gamma})^n + c$$

En la figura 1.3, se esquematiza las gráficas de los diferentes tipos de flujo. El comportamiento del flujo de algunos alimentos fluidos y semifluidos, están incluidos en la tabla 2.

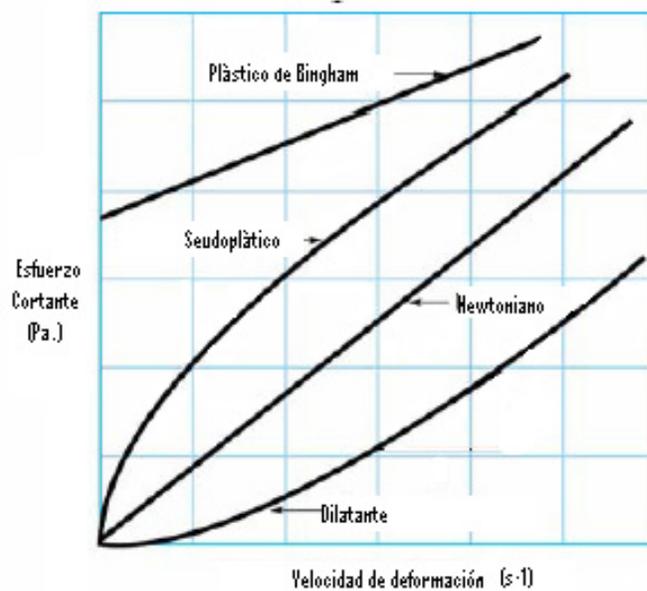


FIGURA 1.3. TIPOS DE COMPORTAMIENTOS DE FLUIDOS

TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE FLUJO DE ALIMENTOS

| Tipo de Flujo | Índice de consistencia | Índice de comportamiento al flujo | Umbral de fluencia | Ejemplo |
|----------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|---|
| Newtoniano | Viscosidad $\mu > 0$ | $n = 1$ | $c = 0$ | leche, zumos clarificados Aceites vegetales, agua, miel |
| Seudo plástico | Índice de cons. $k > 0$ | $0 < n < 1$ | $c = 0$ | zumos concentrados, purés pulpas de frutas, crema de leche, clara de huevo |
| Dilatante | Índice de cons. $k > 0$ | $1 < n < \infty$ | $c = 0$ | Mantequilla de cacahuete, algunos Tipos de miel, almidón, pasta de salchichas |
| Plástico de Bingham | Plasticidad constante $k > 0$ | $n = 1$ | $c > 0$ | Aderezos de ensalada, Pasta de tomate Chocolate fundido |
| Tipo Mixto | Índice de cons. $k > 0$ | $0 < n < 1$ | $c > 0$ | mermelada jalea |

Fuente: 1, 6.

1.5 Procesado térmico continuó

Para prevenir cambios no deseados durante el almacenamiento, productos a base de frutas son generalmente sujetos a algún tipo de tratamiento térmico durante su procesamiento, con el fin de inactivar enzimas y destruir microorganismos causantes de dichos cambios. Tratamientos de calor, como escaldado, pasteurización, o

esterilización comercial, son los más comúnmente usados. Tratamientos de calor en alimentos pueden llevar a pérdidas de características organolépticas como color, textura, sabor y nutricionales como el ácido ascórbico (11). Por ésta razón es necesario mantener el tratamiento de calor adecuado para que no se alteren dichas características y suficiente para inactivar completamente las enzimas. Para considerar el grado de tratamiento térmico se deben considerar tipo y termoresistencia del microorganismo, esporas o enzimas de importancia presente en el alimento, pH del alimento, condiciones de almacenamiento, propiedades termofísicas del alimento, tamaño y forma de empaque (3).

Por otro lado, los productos líquidos y semilíquidos sufren de sobreprocesado en el proceso tradicional de baja temperatura- tiempo largo en envases o discontinuo. Sabores a caramelización, pobre retención de color y la ausencia de un producto reproducible han sido problemas asociados con el procesado de productos mediante métodos en discontinuo. La mejora de la calidad mientras se mantiene la seguridad del producto es la principal finalidad del proceso en continuo (7).

1.5.1 Intercambiadores de calor

Para el procesado térmico en continuo, también denominado procesado en flujo continuo, el producto es procesado térmicamente antes de que sea colocado en un envase adecuado, sobre una base continua a través de una instalación de intercambio de calor. El aparato de intercambio de calor se utilizará tanto en las fases de calentamiento como de enfriamiento (si es necesario) del proceso (6). En el capítulo 4 se detallan las características principales de los diferentes intercambiadores de calor adecuados para el procesamiento de frutas.

CAPÍTULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología a seguir para el desarrollo de las pruebas experimentales se esquematiza en la figura 2.1, la cual a lo largo de éste capítulo está detallada con los respectivos métodos y materiales requeridos para cada una de los puntos que la conforman; con la finalidad de tener una mejor comprensión de los experimentos realizados para llevar a cabo ésta tesis.

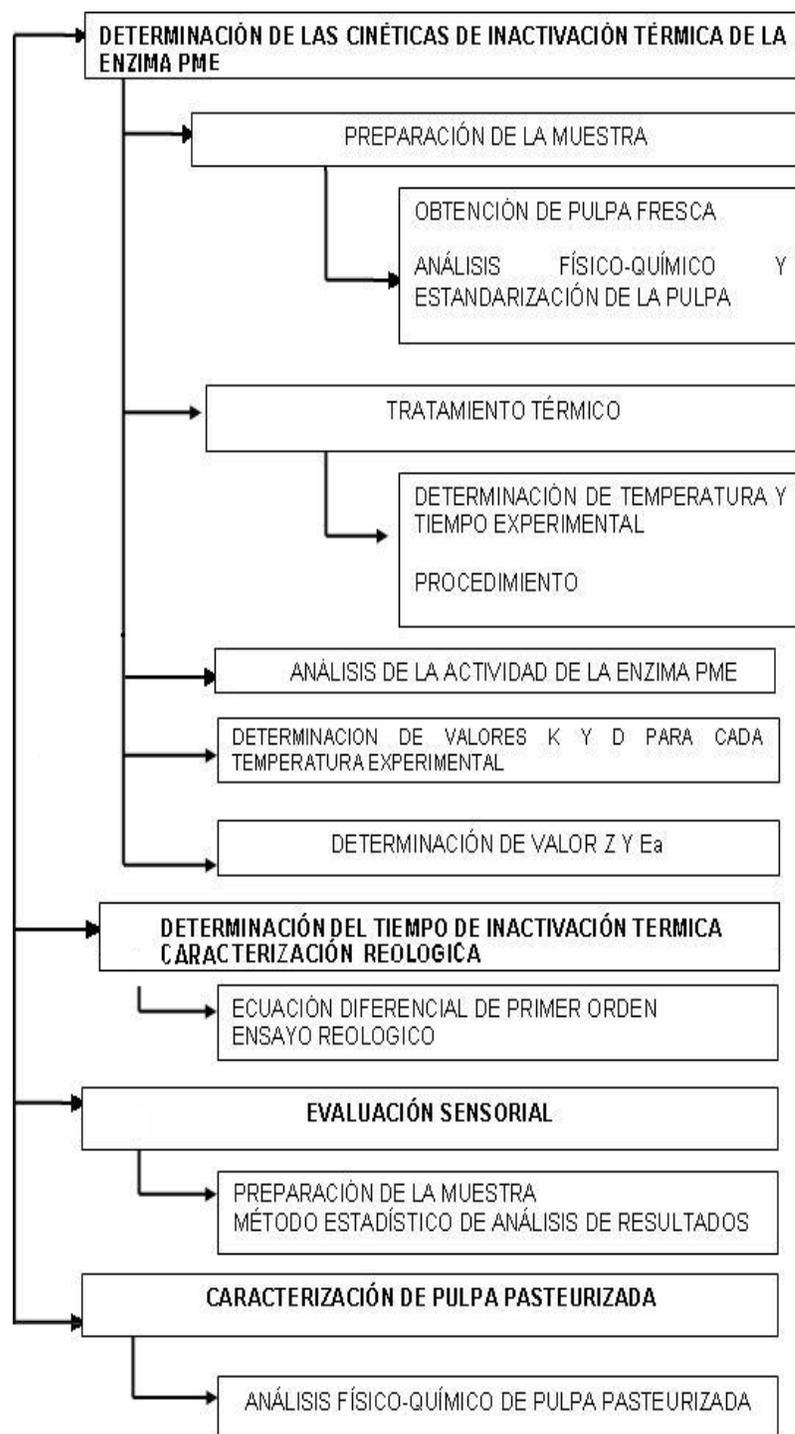


FIGURA 2.1. DIAGRAMA DE LA METODOLOGÍA A SEGUIR PARA LA REALIZACIÓN DE LAS PRUEBAS EXPERIMENTALES.

2.1 Determinación de cinéticas de inactivación enzimática de la pectinmetilesterasa

El estudio de las cinéticas de inactivación enzimática de la PME en la pulpa de badea se lo dividió en tres partes para facilitar la ejecución del mismo, constanding cada uno de pruebas experimentales, cuyos resultados nos llevarán a obtener las cinéticas de inactivación de la enzima PME a diferentes temperaturas, mediante la realización de gráficas en el programa EXCELL, Microsoft Office XP.

2.1.1 Preparación de la muestra

2.1.1.1 Obtención y Análisis físico-químico de la pulpa fresca

La badea (*pasiflora quadrangularis*) fue adquirida en mercados locales, seleccionando la fruta que estaba en buenas condiciones, por medio de una inspección visual. Se tomó en consideración que la fruta no presentase sobremaduración, pudrición por hongos, daños por insectos, deformaciones, cortaduras, magulladuras, etc. Se trabajó con badeas que se encontraban en estado de madurez total, presentando una coloración en la que predomina el color amarillo y un poco el verde claro, y con una textura no tan firme. En estado de total madurez la fruta se encuentra con una mayor concentración de

azúcares, pH medianamente ácido y un valor de concentración de ácido cítrico casi al mínimo; siendo idóneo para mezclar la pulpa junto al arilo (a las semillas las recubre una membrana conocida como arilo) (14).

La fruta fue lavada y pelada manualmente, para facilitar el pelado se la cortó previamente en cuatro partes, separando las semillas de la pulpa. Para verificar el estado de madurez en que se encontraba la fruta se realizaba la lectura de los grados °Brix tanto de la pulpa como del jugo y arilo. El método para determinación de los grados °Brix, se describe en el APENDICE A.

La pulpa y semillas fueron licuadas por separado procurando que no queden trozos grandes de fruta en el licuado. Las semillas luego de ser licuadas fueron tamizadas, con la finalidad de separar los restos de semillas del jugo obtenido. Tanto la pulpa licuada y el jugo de semilla obtenidos fueron vertidos en recipientes por separado y mantenidos en hielo hasta su respectivo

análisis, alcanzando una temperatura de 12°C aproximadamente.

2.1.1.2 Estandarización de la pulpa fresca

La estandarización de la pulpa se la hizo tomando en consideración el pH, ya que éste marca el límite de la severidad del tratamiento térmico a utilizar, siendo los productos de pH menor a 4.5, adaptados generalmente a procesos de pasteurización (3), tal como se detalla en el Capítulo 1. Por otro lado, la inactivación de la enzima pectinmetilesterasa es fuertemente dependiente del pH entre un rango de 4 y 5. Por ejemplo un pequeño cambio en el pH de 4.5 a 4.0 tiene un efecto significativo en la cinética de inactivación de la PME (11). Por lo tanto, con el objetivo de no cometer errores en la obtención de la cinética de inactivación enzimática, se estandarizo el pH a 4.5 para las pruebas experimentales realizadas.

MATERIALES Y EQUIPOS

Equipos

Potenciómetro digital, marca OAKTON

Balanza de precisión, marca BOECO germany.

Refractómetro portable, marca Cole-Parmer, escala 0 – 32°Brix.

Materiales

Bureta

Vaso de precipitación 250 ml.

Tubos de ensayo (largo 7.5 cm X 0.8 cm ancho)

Otros materiales de laboratorio

Hielera

Espátula pequeña

El análisis físico-químico y estandarización de la pulpa de badea se efectuó siguiendo el procedimiento descrito a continuación:

1. Medir los grados °Brix a la pulpa y jugo obtenido de la semilla por separado, utilizando un refractómetro manual, ver APENDICE A.
2. Determinar el pH por separado, tanto de la pulpa como al jugo de la semilla, ver APENDICE A.
3. Colocar 200 ml de pulpa de badea en un vaso de precipitación.

4. Se mide el pH, de acuerdo a éste, con una pipeta se adiciona jugo de la semilla, hasta alcanzar el pH requerido, mezclando continuamente con un agitador y procurando que la mezcla sea homogénea.
5. A la mezcla obtenida se le determina la acidez titulable y ácido ascórbico por duplicado, siguiendo la técnica presentada en el APÉNDICE A.
6. Se mantiene la mezcla en hielo, alcanzando una temperatura aproximada de 12°C, hasta efectuar el siguiente paso.
7. La mezcla obtenida fue colocada en tubos de ensayo, cada uno contenía 2.5 gramos, se procuró que cada tubo tenga la cantidad exacta, aunque en algunos hubo una variación de +/- 0.01 g en su peso, esto se realizó con la ayuda de una espátula y con una balanza de precisión.
8. Se tapa cada tubo de ensayo con papel aluminio para evitar evaporaciones de la muestra y para que no caigan gotas del condensado del Baño María sobre las muestras, durante el tratamiento térmico.
9. Los tubos de ensayo son mantenidos en hielo hasta someterlos al tratamiento térmico.

Los tubos de ensayo previo a ser llenados fueron rotulados con códigos, los cuales indicaban la temperatura y tiempo de tratamiento térmico al cual iba a ser sometida la muestra y el número de tubo.



FIGURA 2.2. MUESTRAS COLOCADAS EN LOS TUBOS DE ENSAYO RESPECTIVAMENTE ROTULADOS.

2.1.2 Tratamiento térmico

Determinación de temperatura y tiempo experimental.

Las variables con las que se realizó el experimento fueron la temperatura y el tiempo de exposición a las mismas. El tratamiento térmico se llevó a cabo tomando en consideración tres temperaturas y cuatro tiempos para cada una de ellas. Cada corrida experimental consiste en mantener la temperatura constante a cuatro tiempos diferentes y posteriormente realizar el análisis de la actividad residual enzimático de la PME respectivo. Para obtener un promedio se realizó cada muestra por triplicado.

Se tomó como referencia las temperaturas y tiempos utilizados en diversos estudios realizados (10, 11, 12,15). La mayoría de enzimas actúan en el intervalo de 25 a 90 °C y muchas de ellas tienen su óptimo entre 45 y 60 °C (4).

Las temperaturas y tiempos seleccionados para efectuar el experimento se muestran en la tabla 3.

TABLA 3

**TEMPERATURAS Y TIEMPOS PARA LA OBTENCION DE LA
CINETICA DE INACTIVACIÓN ENZIMATICA DE LA PME**

| TEMP. (°C) | TIEMPO (min.) | | | | |
|-----------------------|----------------------|---|---|---|----|
| 70 | 0 | 1 | 4 | 7 | 10 |
| 80 | 0 | 1 | 4 | 7 | 10 |
| 90 | 0 | 1 | 4 | 7 | 10 |

Elaborado por: Andrea Guerrero

Metodología para el tratamiento de las muestras durante el tratamiento térmico.

La obtención de la pulpa, estandarización, análisis físico-químico, preparación de muestra y tratamiento térmico se llevaron a cabo en el mismo día.

Equipos y Materiales

Equipos

Termómetro digital, marca OMEGA HHB2. Compuesto de dos termopares unidos al equipo lector de temperatura. La lectura de la temperatura es en °C.

Calentador, marca FISHER

Cronómetro

Materiales

Probeta

Recipientes

Hielera

Rejilla portatubos

Procedimiento

1. En cada corrida experimental se colocan al azar quince tubos de ensayo con la muestra en una rejilla porta tubos.
2. Se realiza el Baño María en dos recipientes que contengan la cantidad suficiente de agua, para cubrir por completo hasta donde da la muestra dentro de los tubos.
3. Se calientan los recipientes con el agua simultáneamente por separado, por medio de dos calentadores.

4. Se controla la temperatura, para que exista un gradiente de temperatura entre los dos Baño María, esto se hace con el fin de que el tiempo de levante sea lo más rápido posible.
5. La temperatura de las muestras es comprobada antes de ser sometidas a calentamiento, para que en todas sea la misma.
6. Los tubos con las muestras en la rejilla son colocados en el recipiente con la más alta temperatura.
7. La temperatura y el tiempo de levante para que las muestras alcancen la temperatura de tratamiento son medidos con un termopar colocado en el centro geométrico de un tubo de ensayo escogido al azar y conectado a un lector de temperatura y el tiempo fue controlado con un cronómetro.
8. Luego de que alcanza la temperatura de tratamiento se lo transfiere al segundo recipiente donde se mantiene constante la temperatura de tratamiento por el tiempo determinado. igualmente con la ayuda del termómetro digital y un cronómetro.
9. Durante el tratamiento térmico se comprueba que las muestras estén a la temperatura del Baño María.
10. Cada vez que se cumple el tiempo especificado, se sacan tres tubos de ensayo, y se los enfría rápidamente en un baño de hielo y posteriormente se los mantiene en hielo hasta su

respectivo análisis, alcanzando una temperatura de 12°C aproximadamente.

Las muestras al alcanzar la temperatura de trabajo respectiva se la consideró como tiempo 0. Tres tubos de ensayo con muestra no fueron sometidos a calentamiento para ser utilizados como blancos.

2.1.3 Análisis de la actividad de la enzima pectinmetilesterasa

La actividad de la enzima pectinmetilesterasa se determinó mediante el método del pH estático, el cual se basa en la cuantificación de grupos carboxil formados por la hidrólisis de los enlaces éster metílicos de la pectina, lo cual es medido mediante titulación con alcáli y un potenciómetro para monitorear la producción de iones H^+ (12). La metodología se siguió de referencias (10, 11, 12, 15).

Equipos, Materiales y Reactivos

Equipos

Potenciómetro, marca OAKTON

Centrifuga universal, marca GCA-Presicion Scientific. Modelo 11 AH-1.

Reverbero

Materiales

Bureta 25 ml.

Vasos de precipitación 50, 150, 500 ml.

Termómetro de mercurio, rango -10 - 150 °C.

Probeta 50 ml.

Pipetas volumétricas 25 ml.

Otros materiales comunes en el laboratorio

Reactivos

Cloruro de Sodio (0.15 M)

Solución de Pectina 1%

Solución de NaOH 1N

Solución de NaOH 0.001N

Solución de ftalato de potasio

La preparación de los reactivos se describe en el APENDICE B.

El sistema utilizado para efectuar la prueba experimental se ilustra en la figura 2.3.



FIGURA 2.3. SISTEMA UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA PME

Método de análisis para determinar la actividad de la enzima pectimetilesterasa.

1. Inicialmente se mezclan los 2.5 gramos de muestra tratada térmicamente con 2.5 ml. de agua destilada fría.
2. Se centrifuga la mezcla durante 5 minutos a 2000 rpm, para separar las partículas mayores.
3. Se toman 2 ml. del sobrenadante y es colocado en un tubo de ensayo.
4. Se mantiene el sobrenadante en baño de hielo hasta su respectivo análisis.
5. Se vierte una alícuota de 2 ml. del sobrenadante en un vaso de precipitación de 150 ml.

6. Se agrega 50 ml. de solución de Pectina al 1% y se mezcla continuamente con un agitador.
7. Se inserta el electrodo del pH-metro y se adiciona solución de NaOH 0.2 N hasta ajustar el pH a 6.0.
8. Se adiciona solución de NaOH 0.01 N hasta ajustar el pH a 7.6
9. Se adiciona solución de NaOH 0.001N hasta ajustar el pH a 7.8.
10. A pH exacto de 7.8 se mantiene durante 10 min. agitando constantemente.
11. Luego de transcurrido el tiempo se agrega solución de NaOH 0.001N hasta ajustar nuevamente el pH a 7.8.
12. Se registra los ml de NaOH 0.001 N consumidos durante el ajuste de pH a 7.8., esto se realizó a una temperatura de 25 °C.

La actividad de la enzima se expresa como microequivalentes de ester hidrolizados durante el tiempo de tratamiento por ml de muestra UPE/ml (meq/min-ml). Los resultados se obtienen mediante la siguiente fórmula:

$$UPE/ml = [(V * N / 1000) / T * A] * 10^6 \quad (2.1)$$

2.1.4 Método de cálculo para la determinación de los valores K y D de las cinéticas de inactivación enzimática de la PME.

Se utilizó la ecuación (2.2) de la cinética química, la cual proporciona una gran ayuda para la preparación de perfiles de tiempo-temperatura para los tratamientos de inactivación. La expresión matemática para el descenso en la concentración de la enzima activa es:

$$-d [E_N]/dt = K [E_N] \quad (2.2)$$

La inactivación de enzimas al igual que la destrucción de microorganismos y degradación de vitaminas siguen en general una cinética de reacción de primer orden (3).

Para la determinación de los valores K (*constante de velocidad de inactivación*) y D (*tiempo necesario a una temperatura constante para que el número de enzimas activas disminuya en un 90%*) de las cinéticas de inactivación de la enzima pectinmetilesterasa, se realizaron gráficas de cinéticas de inactivación de primer orden haciendo uso de los resultados obtenidos en las respectivas pruebas experimentales.

1. Se graficó para cada una de las temperaturas de trabajo la actividad remanente de la enzima PME (logaritmo natural de UPE/UPEo) con respecto al tiempo de tratamiento.
2. Con las pendientes de la regresión lineal de cada una de las gráficas se obtuvieron los valores K .
3. Con la relación $D = 2.303/K$ se obtuvieron los valores de reducción decimal D . Las gráficas se las realizó en el programa EXCELL (Microsoft Office XP).

2.1.5 Método de cálculo para determinación de valor Z y Energía de activación.

Para conocer la variación de la velocidad de inactivación con la temperatura se determinó el valor Z (*representa número de grados necesarios para que la curva de inactivación térmica atravesase un ciclo logarítmico o para observar una inactivación por calor diez veces más rápida*) y la E_a . El valor Z se obtiene del inverso positivo de la pendiente de la grafica de los logaritmos de los valores D con respecto a las diferentes temperaturas de tratamiento. Mientras que para obtener la energía de activación se gráfica el logaritmo natural de los valores de la constante K versus el inverso de las temperaturas de tratamiento en grados kelvin. La pendiente obtenida de ésta gráfica se multiplica con el

valor de la constante de los gases ideales. Las gráficas se las realizó en el programa EXCELL (Microsoft Office XP).

2.2 Caracterización reológica de la pulpa

La determinación de los parámetros reológicos de la pulpa de la fruta, se la hizo siguiendo el método descrito en la bibliografía (1).

1. Con la tabla de factores suministrados por la casa fabricante, se calcula los valores de la viscosidad aparente, como se muestra en el APENDICE G, para cada velocidad de rotación expresada en revoluciones por minuto.
2. Graficar velocidad de rotación (RPS) contra la viscosidad aparente (μ_{ap}).
3. Establecer si existe un comportamiento no-newtoniano y el tipo de flujo.
4. Si se considera un comportamiento no-newtoniano, los parámetros reológicos n y k , se los determina mediante la siguiente ecuación:

$$\log (\mu_{ap.}) = (n - 1) \log(4\pi N/60^*) + \log k \quad (2.3)$$

*60 = factor de conversión a segundos.

Se relaciona el logaritmo de $4\pi N/60$ contra el logaritmo de la viscosidad aparente. Donde n se obtiene de la pendiente del grafico de

$\log (4\pi N/60)$ contra $\log (\mu_{ap.})$, k es el punto de corte de ordenadas. Mayor detalle con respecto a la ecuación (2.3) consultar bibliografía (1).

5. Si el coeficiente de correlación de la curva obtenida es alto, entonces el fluido se ajusta al modelo de la ley de potencia.

$$\tau = k (\dot{\gamma})^n \quad (2.4)$$

6. La curva de comportamiento reológico se obtiene de graficar τ contra $\dot{\gamma}$. Donde $\dot{\gamma}$ se calcula de la expresión matemática $2V/n$ y τ del modelo matemático (2.4).

2.3 Determinación del tiempo de inactivación térmica de la enzima PME

El tiempo de inactivación térmica de la enzima pectinmetilesterasa se lo determinó por medio de cálculo teórico, haciendo uso de la ecuación diferencial de primer orden. Posteriormente con la finalidad de comprobar si el tiempo obtenido es correcto, se llevaron a cabo ensayos reológicos, los cuales consistieron en someter a la pulpa de badea a tratamientos térmicos a temperatura constante y a diferentes tiempos. Tomando como referencia el tiempo D obtenido de la cinética de inactivación de la enzima pectinmetilesterasa a 90°C , para posteriormente medir su viscosidad en un viscosímetro rotacional.

2.3.1 Cálculo teórico mediante ecuación diferencial de primer orden

El tiempo total requerido para la inactivación de la enzima pectinmetilesterasa se obtuvo mediante la ecuación (2.5) la cual se obtiene reordenando, integrando y sustituyendo con el valor D la ecuación (2.2). Esta ecuación es aplicable para microorganismos, enzimas, atributos de calidad y nutrientes.

$$F = D * \log (E_{N0}/E_N) \quad (2.5)$$

F indica el tiempo necesario para que (E_{N0}/E_N) se reduzca hasta un valor determinado a consecuencia de un tratamiento térmico a temperatura constante. Para mayor detalle consultar bibliografía (4).

2.3.2. Ensayos reológicos

Tanto la pulpa de badea fresca como la pasteurizada fueron sometidas a ensayos reológicos, con el propósito de constatar que el tiempo total de inactivación térmica de la PME calculado era el correcto. Se realizaron pruebas experimentales con respecto a la determinación de la viscosidad, ya que ésta se ve afectada por la enzima pectinmetilesterasa, tal como se explica en el Capítulo 1.

Equipos y Materiales

Equipos

Equipo Baño María. Marca MEMMERT, programable de 20 – 95°C.

Viscosímetro rotacional. Marca Brookfield. Modelo RVT.

Rango mínimo de viscosidad: 100 cP.

Rango máximo de viscosidad: 8000000 cP.

Termómetro digital, marca OMEGA HHB2.

Potenciómetro, ACCUMET 950 METER FISCHER SCIENTIFIC

Materiales

Hielera

Matraces 250 ml

Vasos de precipitación 600 ml

Termómetro de mercurio, rango -10 - 150 °C.

Otros materiales de laboratorio.

El procedimiento que se sigue para realizar los ensayos reológicos consta de dos partes: tratamiento térmico y medición de viscosidad.

Tratamiento térmico

Se trabajó con la temperatura de 90°C, ya que a ésta temperatura se obtuvo un menor tiempo de inactivación enzimática, por ende facilito la ejecución del tratamiento térmico.

1. Se procede a realizar la obtención, análisis físico-químico y estandarización de la pulpa de badea como se detalla en los puntos 2.1.1.1 y 2.1.1.2.
2. La pulpa de badea se la vierte en cuatro matraces de 250 ml, cada uno conteniendo 200 ml de pulpa.
3. Se los tapa con papel aluminio para evitar evaporaciones y que gotas del condensado del Baño María caigan sobre las muestras.
4. Se coloca 400 ml de muestra en un vaso de precipitación de 600 ml para ser utilizada como blanco y se lo mantiene a temperatura ambiente.
5. Verificar con la ayuda de un termopar del termómetro digital, que todas las muestras contenidas en los matraces estén a la misma temperatura.
6. Se calibra la temperatura que marca el termómetro con la temperatura que marca el equipo Baña María.
7. Colocar los cuatro matraces en el equipo Baño María cuando éste llega a la temperatura de 90°C, en uno de los

matraces se coloca previamente una termopar en su centro geométrico, con el fin de conocer el momento exacto en que la muestra alcanza la temperatura de tratamiento térmico establecida y para empezar a tomar el tiempo de mantenimiento. En la figura 2.4 se presenta el sistema utilizado para realizar las pruebas experimentales.

8. Después de transcurrido el tiempo de tratamiento se sacaron los cuatro matraces y se los colocó en un baño de hielo para que se enfriaran rápidamente hasta que alcanzaran $26 - 27^{\circ}\text{C}$ que es la temperatura a la que está el laboratorio.



FIGURA 2.4. EQUIPO DE BAÑO MARÍA Y TERMÓMETRO DIGITAL UTILIZADOS PARA REALIZAR LAS PRUEBAS EXPERIMENTALES DE TRATAMIENTO TÉRMICO

9. Las muestras tratadas térmicamente son colocadas en dos vasos de precipitación de 600 ml, conteniendo cada uno 400 ml, se los tapa con papel aluminio.

10. Un vaso de precipitación con muestra fue mantenido a temperatura ambiente (26-27°C) y el otro a temperatura de refrigeración (6-7°C).

Metodología para medir la viscosidad en las muestras.

Los ensayos reológicos se llevaron a cabo con un viscosímetro rotacional, ilustrado en la figura 2.5. En el APENDICE C se describe los elementos principales que lo conforman y su principio de operación. Por otro lado, el procedimiento a seguir para realizar la medición de viscosidad de las muestras se detalla en el APENDICE D.



FIGURA 2.5. VISCOSÍMETRO ROTACIONAL, MARCA BROOKFIELD MODELO RVT

Con éste tipo de viscosímetro se obtienen resultados de viscosidad en centipoise, haciendo uso de la tabla de factores

presentada en el APENDICE F. El tratamiento de las lecturas obtenidas en el viscosímetro se explica punto por punto en el APENDICE G. Se midió la viscosidad a las muestras durante un período de tres días, en las diferentes condiciones en que se encontraban, a temperatura ambiente (con tratamiento térmico y sin tratamiento térmico (blanco)) y a temperatura de refrigeración, con la finalidad de comparar el comportamiento de la viscosidad.



FIGURA 2.6. SISTEMA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD.

2.4 Evaluación sensorial

El propósito de ésta evaluación sensorial es reconocer si la pulpa de badea pasteurizada presenta un sabor diferente a la pulpa de badea

natural sin procesamiento. La prueba sensorial que se utilizó para cumplir con este objetivo, fue la prueba triangular.

La prueba triangular es una prueba discriminatoria que consiste en comparar tres muestras y decir si son diferentes o no. Debido a su eficacia estadística (la probabilidad de acertar solo por azar es solo de 1/3) y a su facilidad de aplicación se la utiliza mucho (2). 15 es el número mínimo de jueces que se requiere para efectuar una prueba triangular (2). Se contó con 17 jueces para realizar la evaluación sensorial.

2.4.1 Preparación de las muestras

Se dio a degustar a los jueces la pulpa pasteurizada de badea en forma de jugo, el cual para prepararlo se procedió como se detalla a continuación:

1. Se obtiene, analiza físico-químicamente ($^{\circ}$ Brix y pH) y estandariza (pH) la pulpa de badea como se detalla en los puntos 2.1.1.1 y 2.1.1.2.
2. Se somete a la pulpa de badea a tratamiento térmico siguiendo el procedimiento detallado en el punto 2.2.2 (desde el paso 2 al 8, excepto el paso 4) a una temperatura de 90°C, por el tiempo obtenido de acuerdo al punto 2.2.1. Es necesario aclarar que se

eligió la temperatura de 90°C porque es con la que se obtiene un menor tiempo de tratamiento térmico, mientras que con la de 70 y 80°C el tiempo es mayor, por ende a esas temperaturas es perceptible fácilmente el desarrollo a sabor a cocido, por lo que estaría de más hacer las pruebas sensoriales a esas temperaturas.

3. La pulpa de badea pasteurizada se la coloca en refrigeración, alcanzando una temperatura aproximada de 10°C.
4. La pulpa de badea pasteurizada y la sin pasteurizar se las diluye por separado con agua, hasta quede un jugo con un 50% de pulpa de fruta y se les adiciona azúcar hasta que ambos queden con igual concentración de grados °Brix.
5. Se presenta a los jueces tres muestras simultáneamente: dos de ellas son iguales (pulpa de badea fresca) y una diferente (pulpa de badea pasteurizada) y se le pide señalar la diferente en la hoja de respuesta (APENDICE H). Además se le pide que escoja entre tres opciones, el grado de diferencia y que comenten sobre la misma. Se utilizó agua como acompañante. La hoja de respuesta y la forma en que se presentaron las muestras se ilustra en la figura 2.7.

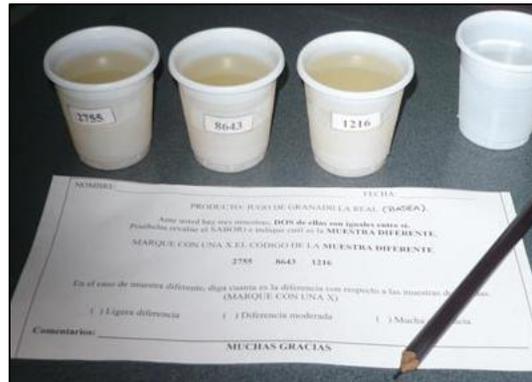


FIGURA 2.7. PRESENTACIÓN DE LAS MUESTRAS Y DEMÁS IMPLEMENTOS PARA LA PRUEBA SENSORIAL

2.4.2 Método estadístico de análisis de resultados

Se hizo un análisis estadístico a los resultados obtenidos, utilizando como método el cálculo de la probabilidad exacta con el estadístico z de la curva normal. Este método nos indica si las diferencias encontradas en las muestras presentadas a los jueces pueden declararse como significativas o no, con un cierto nivel de confiabilidad. El estadístico z es un valor que se expresa como la distancia desde la media de la población normal, en términos de la desviación típica; y por eso su fórmula es como sigue:

$$z = [(x1 - 0,5) - m / s] \quad (2.6)$$

La ecuación (2.6) es equivalente a la ecuación (2.7), la cual se utilizó para el cálculo del estadístico z .

$$z = [(x1 - 0,5) - np / (np (1 - p))^{1/2}] \quad (2.7)$$

2.5 Caracterización de pulpa con tratamiento térmico

2.5.1. Análisis químico de la pulpa con tratamiento térmico

La caracterización de la pulpa de badea pasteurizada constó de los siguientes análisis: pH, °Brix, acidez y ácido ascórbico. Los cuales están descritos en el APENDICE A.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

Para establecer un procesamiento térmico que considere un tiempo de calentamiento térmico adecuado a una temperatura específica, se realizó el análisis de los resultados obtenidos en las pruebas experimentales, empezando con el análisis físico-químico y estandarización de la fruta previo al tratamiento térmico. Luego, se efectuó el estudio de las cinéticas de inactivación térmica; iniciando con el análisis de la velocidad a que tiene lugar el proceso de inactivación de la enzima PME a una temperatura dada. Posteriormente se realizó las curvas de inactivación térmica, a las diferentes temperaturas experimentales, y también se determino la energía de activación. Adicionalmente, se analizó la característica reológica que presenta la pulpa. A continuación, se determinó el tiempo de inactivación térmica de la enzima PME, mediante

el análisis de los resultados derivados tanto del cálculo teórico, como de los ensayos reológicos realizados. Finalmente, se realizó el análisis estadístico de la prueba sensorial y la caracterización de la pulpa con tratamiento térmico.

3.1 Análisis físico-químico y estandarización de la fruta *passiflora quadrangularis* previo tratamiento térmico.

La fruta en un total grado de madurez, es adecuada para mezclar el arilo (semillas) con el mesocarpio (pulpa). En ese estado los sólidos solubles del arilo presentan su máximo valor, por lo que la fruta se encuentra en un estado de mayor concentración de azúcares, este valor corresponde a 14,9 °Brix en la pulpa, condición que se obtiene entre el cuarto y quinto día de almacenamiento a condiciones ambientales. Además, en este estado de madurez la pulpa muestra un pH medianamente ácido 5,72 y un valor de concentración de ácido cítrico casi al mínimo % 0,076 (14).

La fruta en estado de madurez total presenta una coloración entre verde claro y predominantemente amarillo, mostrando una consistencia suave al tacto. En la tabla 4, se incluyen los resultados

conseguidos del análisis químico del mesocarpio (pulpa) y arilo, y de estandarización.

TABLA 4. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL MESOCARPIO Y ARILO DE LA BADEA Y ESTANDARIZACIÓN

| CARACTERÍSTICAS | MESOCARPIO | | | ARILO | | |
|---------------------------|------------|--------|------|-----------|--------|-------|
| | \bar{X} | mínimo | máx. | \bar{X} | mínimo | máx. |
| Sólidos solubles °Brix | 7,00 | 6.50 | 8.00 | 14.70 | 14.50 | 14.90 |
| pH | 5.40 | 5.10 | 5.74 | 4.09 | 4.06 | 4.12 |
| ESTANDARIZACIÓN N | MEZCLA | | | | | |
| | \bar{X} | mínimo | | máximo | | |
| Sólidos solubles °Brix | 8.00 | 7.30 | | 8.20 | | |
| pH | 4.50 | - | | - | | |
| *Acidez (%) | 0.107 | 0.096 | | 0.128 | | |
| Acido Ascórbico (mg/100g) | 30.00 | 26.00 | | 32.30 | | |

*Expresado como porcentaje de ácido cítrico

Elaborado por: Andrea Guerrero

Diferencias en las características químicas de las frutas, frente a patrones de madurez, suelen ser por el manejo post-cosecha que se realice. Ejemplo: tiempo y condiciones de transporte y almacenamiento previo a la venta; locación geográfica, entre otras; que influyen en la maduración de la fruta.

De acuerdo a bibliografía la mayor parte de las enzimas presentan su actividad máxima a pH entre 4,5 – 8 y esta suele mantenerse sólo,

aunque no siempre es así, en un rango de pH bastante estrecho. La actividad de la enzima depende de la concentración de iones de hidrógeno (pH) porque esto afecta el grado de ionización de los aminoácidos del centro activo, del sustrato o del complejo enzima-sustrato (4). Por lo expuesto, se estandarizo las pruebas realizadas, con el fin de que no existieran variaciones en el pH.

3.2 Evaluación de las cinéticas de inactivación enzimática de la PME

El tratamiento térmico efectuado a las muestras (detallado en la sección 2.1.2 del Capítulo 2) presentó un tiempo de levante (tiempo requerido para alcanzar la temperatura de tratamiento) entre 42 y 60 segundos, en un rango de temperatura de 70 a 90°C. Se observó que el tiempo de levante es proporcional a la temperatura; ya que conforme ésta aumenta, el tiempo de levante lo hace también. La velocidad de la penetración de calor depende de la diferencia de temperatura entre la temperatura del baño y la muestra.

La actividad enzimática de pectinmetilestera encontrada en la muestras sin tratamiento térmico fue en promedio 1,105 UPE/ml. En la tabla 5, están incluidas las actividades de la pectinesterasa,

reportados en algunas frutas. La diferencia en la actividad enzimática se debe principalmente a la composición química y estructura de cada fruta analizada.

TABLA 5. ACTIVIDAD DE PECTINESTERASA

| FRUTA | UPE/ml. |
|------------------|----------------|
| Mango manila | 0,045 |
| Maracuyá purpura | 0,500 |
| Maracuyá | 0,043 |
| Badea* | 1,105 |
| Guanábana | 4,590 |

*Determinada en este trabajo

Fuente: 10

Para el estudio de la inactivación térmica de la enzima PME es imprescindible conocer su cinética, y en concreto la velocidad con la que se produce su inactivación, aspecto que viene dado por la constante de velocidad (K). También es importante conocer el efecto de la temperatura sobre la cinética de inactivación. Para ello se realizó las graficas de inactivación enzimática de la PME para cada temperatura de estudio, graficando UPE/UPE_0 en escala logarítmica natural contra el tiempo en que se llevó a cabo el experimento, tal como se muestra en la figura 3.1.

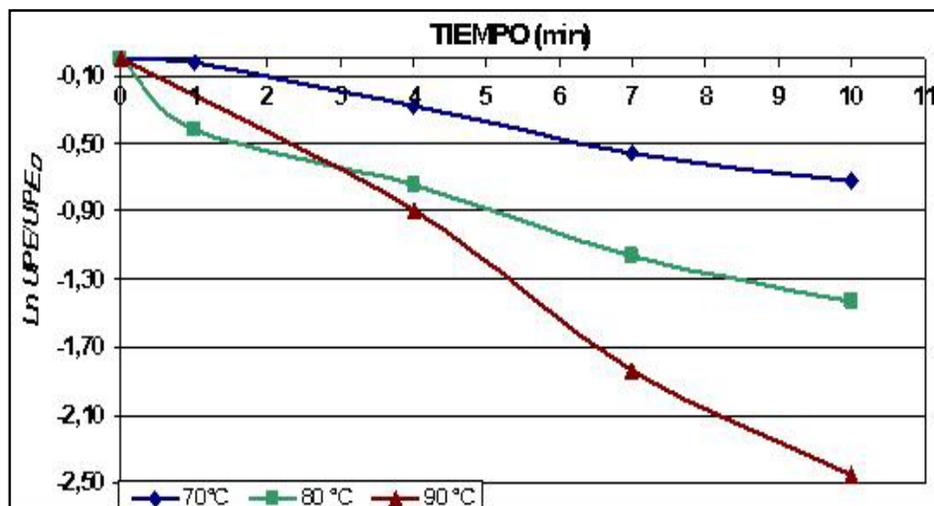


FIGURA 3.1 INACTIVACION TERMICA DE ENZIMA PME EN PULPA DE BADEA A DIFERENTES TEMPERATURAS.

Se puede observar que a medida que la temperatura se incrementa, las graficas presentan una mayor pendiente, lo que indica que a mayor temperatura y tiempo de tratamiento térmico la actividad de la enzima disminuye. Este comportamiento se da como resultado de los cambios en la estructura que sufre la enzima PME frente al calor. Dicho cambio va asociado con la alteración de las superficies de las moléculas de la enzima, rompiendo las ligaduras y abriendo anillos de las moléculas de la proteína, con su disociación y pérdida de la estructura, lo que genera una desnaturalización irreversible de la enzima, la cual sigue una cinética de primer orden (4). La actividad de la enzima pectinmetilesterasa se determina mediante el método

del pH estático, el cual se basa en la cuantificación de grupos carboxil formados por la hidrólisis de los enlaces éster metílicos de la pectina, lo cual es medido mediante titulación con álcali (NaOH) y un potenciómetro para monitorear la producción de iones H^+ (12). De acuerdo a lo expuesto anteriormente, a menor temperatura de tratamiento térmico se obtiene una menor inactivación enzimática, por ende se requiere un mayor consumo de álcali (NaOH) para neutralizar los iones H^+ formados. Esto se observa con el incremento de UPE (unidades de pectinmetilestera), mediante el uso de su respectiva fórmula la cual indica las unidades de pectinmetilestera presentes por mililitro de muestra y al utilizar UPE en el índice de actividad residual ($\ln UPE/UPE0$) se puede apreciar que se tiene una mayor actividad enzimática en comparación con una mayor temperatura.

Por ejemplo, a la temperatura de $70^{\circ}C$, en el tiempo cuatro minutos se tiene un consumo de 15,85 ml. de NaOH, con lo que se obtiene 0,793 UPE/ml y mediante el índice de actividad residual se calcula la actividad residual, la cual es 75,65%. Los datos se pueden observar en la tabla 6. En comparación con la temperatura de $80^{\circ}C$, al tiempo de cuatro minutos se tiene un consumo de 6,5 ml de NaOH, con lo

que se obtiene 0,325 UPE/ml y mediante el índice de actividad residual se obtiene 47,6% de actividad residual.

TABLA 6. ACTIVIDAD RESIDUAL DE LA ENZIMA PME A 70°C A TRAVES DEL TIEMPO

| TIEMPO(min) | CONSUMO NAOH (ml) | UPE/ml | ln (UPE/UPE0) |
|-------------|----------------------|-----------|------------------|
| | \bar{X} | \bar{X} | |
| 0 | 20,95 | 1,048 | 0.0000 |
| 1 | 20,40 | 1,020 | -0,0266 |
| 4 | 15,85 | 0,793 | -0,2790 |
| 7 | 11,95 | 0,598 | -0,5614 |
| 10 | 10,20 | 0,510 | -0,7198 |

Elaborado por: Andrea Guerrero

3.2.1 Determinación de valores *D*, *Z* y *Ea*

A partir de las pendientes de las curvas de cinéticas de inactivación enzimática, se determinaron las constantes de velocidad *K* (Tabla 7). Se aprecia que conforme aumenta la temperatura la constante *K* aumenta, lo que nos demuestra que a menores temperaturas de tratamiento térmico, se requiere de tiempos más largos para la inactivación enzimática, ya que la constante de velocidad de inactivación *K* es menor. A partir de *K*, se calculó *D* (Tabla 8), a las diferentes temperaturas de tratamiento térmico.

**TABLA 7. VALORES DE CONSTANTE DE VELOCIDAD (K)
DE LA ENZIMA PME EN PULPA DE BADEA**

| TEMPERATURA (°C) | K (min-1) |
|-----------------------------|----------------------|
| 70 | 0,0764 |
| 80 | 0,1350 |
| 90 | 0,2512 |

Elaborado por: Andrea Guerrero

Con el propósito de conocer la dependencia de la actividad de la enzima PME frente a la temperatura se grafico el logaritmo de los valores D frente a la temperatura, obteniendo la grafica de inactivación térmica. Otra opción es mediante el uso de la ecuación de Arrhenius.

Con la pendiente de la gráfica mostrada en la figura 3.2, se calculo el parámetro Z , éste se presenta en la tabla 8. Los valores reportados de acuerdo a referencias tienen un gran rango de variación, como se manifiesta en la tabla 9. Dichas variaciones se pueden deber a las características físico-químicas propias de cada alimento evaluado, así como del método que se aplico para la determinación de la actividad enzimática (10).

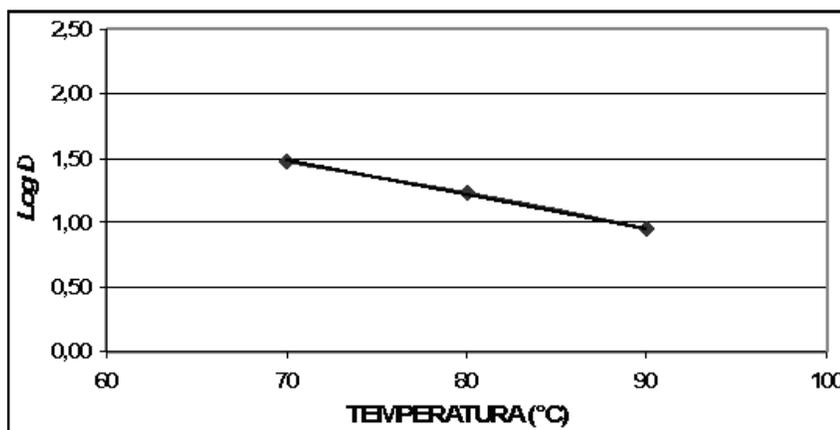


FIGURA 3.2 GRAFICA PARA EL CÁLCULO DEL PARAMETRO Z DE LA ENZIMA PME

TABLA 8. VALORES D Y Z PARA LA INACTIVACION DE LA ENZIMA PME

| TEMPERATURA °C | LOG D | D(min) | Z °C |
|----------------|-------|--------|------|
| 70 | 1,48 | 30 | 38 |
| 80 | 1,23 | 17 | |
| 90 | 0,95 | 9 | |

Elaborado por: Andrea Guerrero

Para establecer la energía de activación E_a (Energía requerida para activar las moléculas que van a sufrir una reacción (4)), se relacionó la constante de velocidad de inactivación K y el inverso de la temperatura absoluta. A partir de la pendiente de la figura 3.3, se calculó la energía de activación, la cual es de 61,56 Kj/mol (14,71 Kcal/mol). Es decir se requiere de 14,71 Kcal para que las moléculas de la enzima PME se activen y

puedan así sufrir una reacción de inactivación. La E_a conseguida se encuentra dentro del rango de energía de activación requerido para llevar a cabo una destrucción enzimática 12-100 Kcal/mol (5).

TABLA 9. VALORES Z PARA DIVERSAS FRUTAS

| FRUTA | Z °C |
|-----------------------------------|-------|
| Jugo de tomate variedad Monteroso | 31,2 |
| Jugo de acerola | 4,71 |
| Puré mango manila | 10,5 |
| Néctar Papaya | 15,3 |
| Puré de papaya | 14,2 |
| Puré de tamarindo | 37,87 |
| Jugo de maracayá | 34,20 |
| Guayaba en jarabe sacarosa | 38,04 |
| Puré de guanábana | 36,94 |
| Néctar piña-guayaba-mango | 37,04 |

Fuente: 10

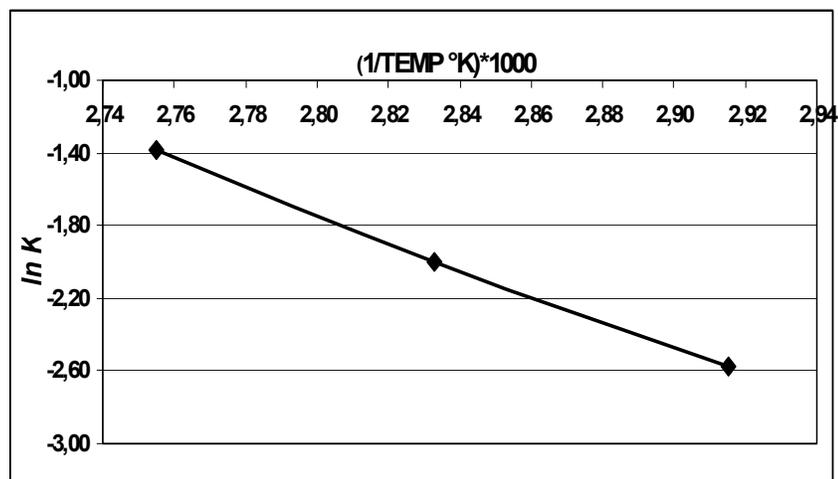


FIGURA 3.3. GRAFICA DE ARRHENIUS

3.3 Caracterización reológica de la pulpa

Siguiendo la metodología descrita en el punto 2.2 del capítulo 2, se determinó el tipo de fluido al cual pertenece la pulpa fresca. Lo que nos lleva al análisis de los resultados descrito a continuación. En la figura 3.4., se observa que al graficar los valores de la velocidad de rotación expresada en segundos contra la viscosidad aparente, ésta presenta una curvatura, la cual es característico de los fluidos no newtonianos, y en forma particular de los seudoplásticos. Éste tipo de fluidos muestran una disminución en la viscosidad, con un incremento en la velocidad de corte (6). La grafica se realizó con los resultados obtenidos de la tabla 10. Igual comportamiento presentaron todos los casos efectuados en este trabajo.

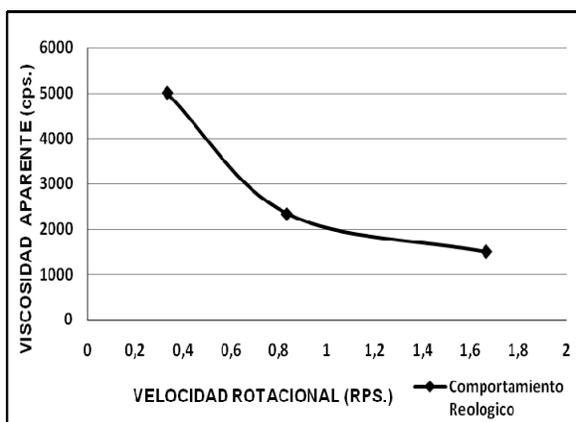


FIGURA 3.4 CAMBIO DE LA VISCOSIDAD APARENTE A DIFERENTES VELOCIDADES DE ROTACION (RPS.)

Hay varias razones para explicar este comportamiento. Un líquido que aparenta ser homogéneo podría de hecho contener partículas microscópicas sumergidas en este. Cuando estos líquidos son sujetos a un corte, las partículas distribuidas aleatoriamente podrían orientarse ellas mismas en la dirección del fluido; similarmente, partículas enroscadas podrían deformarse y estirarse en la dirección del fluido. Cualquier partícula aglomerada podría romperse en pequeñas partículas (6). Esta ruptura o reorganización continúa de la estructura, da como resultado una menor resistencia al flujo presentando por ende una mayor fluidez (16). Esto usualmente es reversible. Por ende cuando la acción de corte es parada, después de un tiempo, las partículas retornan a su original forma y las partículas separadas podrían volver aglomerarse (6).

Luego de comprobar el comportamiento no-newtoniano de la pulpa, por la disminución de la viscosidad aparente registrada conforme aumenta la velocidad rotacional, se estableció que la muestra responde a un comportamiento pseudoplástico. Por lo que, se dio paso al cálculo de los parámetros reológicos n y k , mediante la aplicación de la ecuación (2.3) detallada en el capítulo 2. Para ello se hizo uso de los datos registrados con el viscosímetro rotacional y los valores de viscosidad aparente calculados con factores de

conversión, según el método descrito en el APENDICE G. La tabla 10, muestra dichos datos.

TABLA 10. DATOS REGISTRADOS Y CALCULADOS PARA DETERMINACION DE PARAMETROS REOLOGICOS

| VELOC. ROT (RPM) | LECTURA | FACTOR | $\mu_{ap.}$ (cps.) | μ_{ap} (Pa.s) | Log (μ_{ap}) | $4\pi N/60$ (Seg.) | $\log(4\pi N/60)$ |
|------------------|---------|--------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| 20 | 50,0 | 100 | 5000 | 5,00 | 0,699 | 4,189 | 0,622 |
| 50 | 58,5 | 40 | 2340 | 2,34 | 0,369 | 10,472 | 1,020 |
| 100 | 75,0 | 20 | 1500 | 1,50 | 0,176 | 20,944 | 1,321 |

Elaborado por: Andrea Guerrero

En la figura 3.5. Están representados los datos de viscosidad aparente ($\log(\mu_{ap.})$) contra la velocidad rotacional ($\log(4\pi N/60)$).

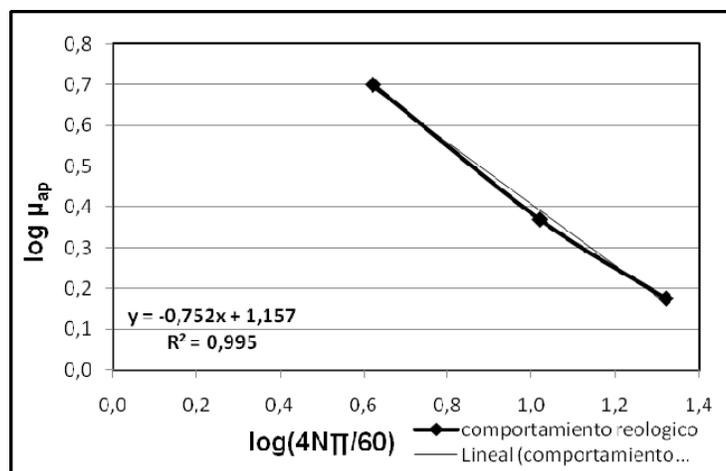


FIGURA 3.5. GRAFICA PARA DETERMINACIÓN DE PARAMETROS REOLOGICOS n Y k

Se estableció un excelente ajuste de los datos experimentales con la ecuación (2.3); ya que, se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,995. Lo cual indica que el modelo de la ley de potencia para fluidos pseudoplásticos es adecuado para describir el flujo de la pulpa de badea. La ecuación de regresión determinada es:

$$\log (\mu_{ap.}) = -0,752(4\pi N/60) + 1,157$$

Con la que se obtiene un valor de $n = 0,25$ y $k = 14,35 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$. El valor del índice de comportamiento al flujo $0,25$ ($n < 1$), indica una gran desviación con respecto a fluidos newtonianos, en los cuales el valor de éste índice es 1,0. Lo cual confirma su pseudoplasticidad. En la figura 3.6, se muestra el comportamiento de la pulpa, relacionando el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación. La curva presenta una forma convexa, la cual es característica de los fluidos pseudo plásticos. Igual procedimiento se siguió para las pulpas con tratamiento térmico, presentando similar comportamientos no newtonianos del tipo pseudoplástico.

De acuerdo a bibliografía (1), la causa de la desviación del comportamiento newtoniano, observado en productos de frutas,

como por ejemplo pulpas, purés, jugos concentrados, etc., se debe a su composición. Dichos alimentos pueden ser aproximados a un sistema de dos fases. El zumo que es una solución acuosa de sales minerales, azúcares naturales, pectinas que se encuentran disueltas en el zumo y contribuye a la consistencia del mismo, y radicales ácidos orgánicos que les dan el sabor característico. Los sólidos en suspensión constituyen la pulpa, que está formada, principalmente, por tejido desintegrado, que contiene fibra celulósica, pectinas y partículas lipoides que contienen carotenoides y aceites esenciales.

La viscosidad depende de la concentración y el grado de polimerización de la pectina, así como del pH y de las sales existentes. Los polímeros de pectinas en presencia de azúcares y ácidos, tienden a juntarse y a formar una malla tridimensional, provocando un gradual debilitamiento del corte, desviándose del comportamiento newtoniano. Con relación a las partículas que flotan, cuando están presentes en cantidad suficiente refuerzan la malla de pectinas, pero a concentraciones bajas el efecto es opuesto, las partículas suspendidas tienden a interferir con la formación de la malla. (1)

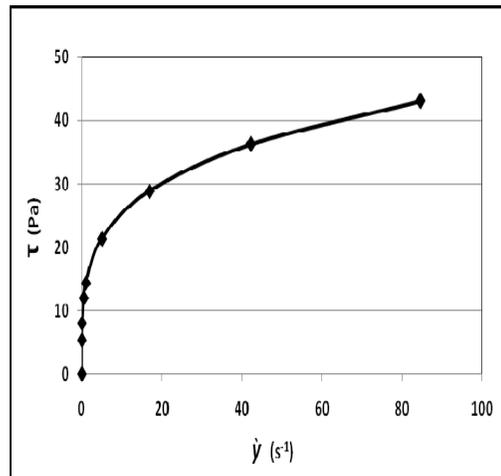


FIGURA 3.6. CURVA DE FLUJO OBTENIDA EN LA PULPA FRESCA A TEMPERATURA AMBIENTE (26°C)

En la tabla 11, se presentan parámetros reológicos determinados en diferentes frutas a temperaturas de 10 y 25°C. Se observa que existe una tendencia hacia valores más bajos del índice de consistencia con el incremento de la temperatura, lo que significa que éste parámetro reológico es dependiente de dicho factor.

Se destaca que los parámetros reológicos n y k , serán diferentes cuando se los determine en pulpas de distintas frutas. Por ejemplo la badea (*Passiflora quadrangularis*) presenta un valor de índice de consistencia muy superior al de maracuyá (*Passiflora edulis*), siendo de la misma familia pero de diferente especie. Cada parámetro depende de la composición y estructura de cada alimento analizado.

TABLA 11. PARÀMETROS REOLÒGICOS REPORTADOS EN FRUTAS

| PRODUCTO (Nombre Botánico) | 10°C | | 25 °C | |
|---|------|------|--------|-------|
| | k | n | k | n |
| Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | 5,2 | 0,22 | 3,8 | 0,22 |
| Babaco (<i>Carica pentagona</i>) | 5,4 | 0,24 | 4,9 | 0,24 |
| Aguacate (<i>Persea gratissima</i>) | 46,2 | 0,25 | 39,9 | 0,25 |
| Guayaba (<i>Psidium guajava</i>) | 53,7 | 0,29 | 40,6 | 0,28 |
| Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) | 0,4 | 0,31 | 0,3 | 0,33 |
| Papaya (<i>Carica papaya</i>) | 7,1 | 0,33 | 6,8 | 0,33 |
| Durazno (<i>Prunas persica</i>) | 26,2 | 0,33 | 20,3 | 0,33 |
| Mango (<i>Mangifera indica</i>) | 8,7 | 0,35 | 7,5 | 0,35 |
| Guanábana (<i>Annona muricata</i>) | 13,6 | 0,34 | 9,2 | 0,36 |
| Tomate de árbol (<i>Cyphomandra betacea</i>) | 28,0 | 0,38 | 23,7 | 0,38 |
| Badea (<i>Passiflora quadrangularis</i>) | - | - | 14,35* | 0,25* |

*Resultado experimental determinado en este trabajo a 26°C

Fuente: 1

3.4 Determinación del tiempo de inactivación térmica para PME

Aplicando el método de cálculo detallado en el punto 2.2.1 del capítulo 2, se determinó de manera teórica el tiempo de inactivación enzimática, el cual fue de 25 min., a una temperatura constante de

90°C, lo que implica una reducción de 2,7 ciclos *D*. Se tomo como referencia una actividad residual de 0,001 UPE/ml, ya que de acuerdo a referencias (11) un producto se considera comercialmente estable a esa actividad residual de pectinmetilesterasa. En la tabla 12, se muestra tiempos de inactivación enzimática determinados en diversos productos derivados de frutas.

TABLA 12. TIEMPOS DE INACTIVACION TERMICA DE LA ENZIMA PME REPORTADOS EN DIVERSOS PRODUCTOS

| PRODUCTO | TIEMPO (min) | TEMPERATURA (°C) |
|---------------------------|---------------------|-------------------------|
| Jugo de acerola | 110,00 | 98 |
| Jugo de maracuyá | 25,03 | 90 |
| Néctar piña-guayaba-mango | 40,39 | 90 |
| Puré de tamarindo | 35,00 | 88 |
| Néctar de tamarindo | 25,00 | 88 |

Fuente: 10

Análisis de los resultados experimentales de los ensayos reológicos.

Con el fin de conocer el comportamiento reológico en las muestras, como resultado de la inactivación de la enzima PME, además de conocer el comportamiento a través de los días; se comparó el porcentaje de disminución del índice de consistencia, de las muestras a diferentes tratamientos térmicos frente a la fresca.

Los valores calculados del índice de consistencia obtenidos en los diferentes días, están incluidas en las tablas de la 13 a la 16, conjuntamente con la velocidad rotacional y las lecturas proporcionadas por el equipo. En las tablas 13 y 14, se presentan los resultados conseguidos en muestras con tratamientos térmicos de 2D y fresca, respectivamente.

TABLA 13. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE ENSAYO REOLOGICO EN MUESTRAS CON TRATAMIENTO TERMICO 2D

| TEMPERATURA DE TRATAMIENTO | | | | 90°C | | |
|--|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|---|
| CONDICIÓN DE MANTENIMIENTO DE LA MUESTRA | | | | Temperatura Ambiente | | |
| N° de día | TEMP. MUESTRA (°C) | VELOCIDAD ROTACIONAL (rpm.) | LECTURA DE PAR DE TORSIÓN | FACTOR | VISCOSIDAD APARENTE (cP.) | INDICE DE CONSISTENCIA (Pa.s ⁿ) |
| | | | \bar{x} | | | |
| 1 | 26 | 20 | 54,0 | 100 | 5400 | 16,37 |
| | | 50 | 60,0 | 40 | 2400 | |
| | | 100 | 76,0 | 20 | 1520 | |
| 2 | 27 | 20 | 30,0 | 100 | 3000 | 8,67 |
| | | 50 | 36,0 | 40 | 1440 | |
| | | 100 | 45,0 | 20 | 900 | |
| 3 | 27 | 20 | 19,0 | 100 | 1900 | 5,7 |
| | | 50 | 23,0 | 40 | 920 | |
| | | 100 | 27,5 | 20 | 550 | |
| Disminución de k (%) | | | 65,2 | | | |

Elaborado por: Andrea Guerrero

En la muestra con tratamiento térmico de 2D existe una disminución del índice de consistencia del 65,2 %, y para la muestra sin

tratamiento 73,7%; lo que demuestra que, en ambas hubo una pérdida considerable de viscosidad, lo cual indica que un tiempo de 2D a una temperatura de 90°C no es el adecuado para la inactivación de la enzima PME en la pulpa de badea. La acción de la enzima PME hace a la pectina susceptible a una degradación por efecto de la enzima PG, ya que; ésta enzima actúa solo en segmentos de la cadena de la pectina que ha sido desmetilada por la enzima PME. PG fragmenta la estructura de ácido poligalacturónico de la pectina, por lo que se reduce la longitud de las cadenas de pectina, ésta degradación de las cadenas de pectina reduce la viscosidad del producto (5).

En la tabla 15, se aprecia que la pulpa presenta una mínima disminución en el índice de consistencia con respecto al tiempo, en comparación a las muestras con tratamiento de 2D y fresca. Este comportamiento podría ser como resultado de la disminución en la velocidad de la actividad enzimática como resultado de las bajas temperaturas.

TABLA 14. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE ENSAYO REOLOGICO EN MUESTRAS SIN TRATAMIENTO TERMICO

| CONDICIÓN DE MANTENIMIENTO DE MUESTRA | | | | Temperatura Ambiente | | |
|---------------------------------------|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|---|
| N° de día | TEMP. MUESTRA (°C) | VELOCIDAD ROTACIONAL (rpm.) | LECTURA DE PAR DE TORSIÓN | FACTOR | VISCOSIDAD APARENTE (cP.) | INDICE DE CONSISTENCIA (Pa.s ⁿ) |
| | | | \bar{x} | | | |
| 1 | 26 | 20 | 50,0 | 100 | 5000 | 14,35 |
| | | 50 | 58,5 | 40 | 2340 | |
| | | 100 | 75,0 | 20 | 1500 | |
| 2 | 27 | 20 | 32,0 | 100 | 3200 | 10,19 |
| | | 50 | 36,0 | 40 | 1440 | |
| | | 100 | 43,0 | 20 | 860 | |
| 3 | 27 | 20 | 14,0 | 100 | 1400 | 3,78 |
| | | 50 | 19,0 | 40 | 760 | |
| | | 100 | 23,0 | 20 | 460 | |
| Diminución de k (%) | | | 73,7 | | | |

Elaborado por: Andrea Guerrero

En la muestra con tratamiento térmico de 3D, se tiene una disminución de k de 7,3%. La tabla 16 muestra los resultados. En cuanto a las muestras con tratamiento térmico de 4D, se tiene una disminución de k del 3,9%. Al igual que, con el tratamiento de 3D, ésta es mucho menor en comparación a la presentada en la muestra fresca. Los resultados están incluidos en la tabla 17.

Según se observa en la figura 3.7, en la que está graficado el comportamiento de los índices de consistencia de las muestras a

diferentes tratamientos térmicos a través del tiempo; en todos existe una tendencia a disminuir, conforme transcurre el tiempo. La muestra con tratamiento térmico 2D, a diferencias de las otras dos; presenta una mayor pendiente, lo que indica una mayor disminución en la viscosidad. Mientras que, en las muestras con tratamientos térmicos de 3D y 4D; las curvas presentan una inclinación mínima. Lo que revela que un tiempo de 3D y 4D, a una temperatura de 90°C es adecuado para la inactivación de la enzima PME. Los resultados obtenidos en los tres tratamientos térmicos y la muestra fresca están incluidos en la tabla 18.

TABLA 15. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE ENSAYO REOLOGICO EN MUESTRAS CON TRATAMIENTO TERMICO 2D

| TEMPERATURA DE TRATAMIENTO | | | | 90°C | | |
|--|--------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------|------------------|---|
| CONDICIÓN DE MANTENIMIENTO DE LA MUESTRA | | | | Refrigeración | | |
| N° de día | TEMP. MUESTRA (°C) | VELOCIDAD ROTACIONAL (rpm.) | LECTURA DE PAR DE TORSIÓN | FACTOR | VISCOSIDAD (cP.) | INDICE DE CONSISTENCIA (Pa.s ⁿ) |
| | | | \bar{x} | | | |
| 2 | 7 | 20 | 45,5 | 100 | 4550 | 11,72 |
| | | 50 | 60,5 | 40 | 2420 | |
| | | 100 | 78,0 | 20 | 1560 | |
| 3 | 7 | 20 | 44,5 | 100 | 4450 | 11,19 |
| | | 50 | 62,0 | 40 | 2480 | |
| | | 100 | 79,0 | 20 | 1580 | |
| 4 | 8 | 20 | 42,0 | 100 | 4200 | 10,33 |
| | | 50 | 60,0 | 40 | 2400 | |
| | | 100 | 76,5 | 20 | 1530 | |
| Disminución de k (%) | | | 11,9 | | | |

**TABLA 16. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE ENSAYO REOLOGICO
EN MUESTRAS CON TRATAMIENTO TERMICO 3D**

| TEMPERATURA DE TRATAMIENTO: | | | | 90°C | | |
|--|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|---|
| CONDICIÓN DE MANTENIMIENTO DE LA MUESTRA | | | | Temperatura Ambiente | | |
| N° de día | TEMP. MUESTRA (°C) | VELOCIDAD ROTACIONAL (rpm.) | LECTURA DE PAR DE TORSIÓN | FACTOR | VISCOSIDAD APARENTE (cP) | INDICE DE CONSISTENCIA (Pa.s ⁿ) |
| | | | \bar{x} | | | |
| 1 | 26 | 20 | 49,0 | 100 | 4900 | 14,09 |
| | | 50 | 63,5 | 40 | 2540 | |
| | | 100 | 75,0 | 20 | 1500 | |
| 2 | 26 | 20 | 46,5 | 100 | 4650 | 13,3 |
| | | 50 | 60,5 | 40 | 2420 | |
| | | 100 | 71,5 | 20 | 1430 | |
| 3 | 27 | 20 | 45,0 | 100 | 4500 | 13,06 |
| | | 50 | 57,5 | 40 | 2300 | |
| | | 100 | 68,0 | 20 | 1360 | |
| Disminución de k (%) | | | 7,3 | | | |

Elaborado por: Andrea Guerrero

**TABLA 17. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE ENSAYO
REOLOGICO EN MUESTRA CON TRATAMIENTO TERMICO 4D**

| TEMPERATURA DE TRATAMIENTO | | | | 90°C | | |
|--|--------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------|------------------|---|
| CONDICIÓN DE MANTENIMIENTO DE LA MUESTRA | | | | Temperatura Ambiente | | |
| N° de día | TEMP. MUESTRA (°C) | VELOCIDAD ROTACIONAL (rpm.) | LECTURA DE PAR DE TORSIÓN | FACTOR* | VISCOSIDAD (cP.) | INDICE DE CONSISTENCIA (Pa.s ⁿ) |
| | | | \bar{x} | | | |
| 1 | 25 | 20 | 11,0 | 500 | 5500 | 15,28 |
| | | 50 | 14,5 | 200 | 2900 | |
| | | 100 | 17,5 | 100 | 1750 | |
| 2 | 26 | 20 | 11,0 | 500 | 5500 | 15,6 |
| | | 50 | 14,0 | 200 | 2800 | |
| | | 100 | 17,0 | 100 | 1700 | |
| 3 | 26 | 20 | 10,5 | 500 | 5250 | 14,69 |
| | | 50 | 13,5 | 200 | 2700 | |
| | | 100 | 16,5 | 100 | 1650 | |
| Disminución de k (%) | | | 3,9 | | *N° de Disco 6 | |

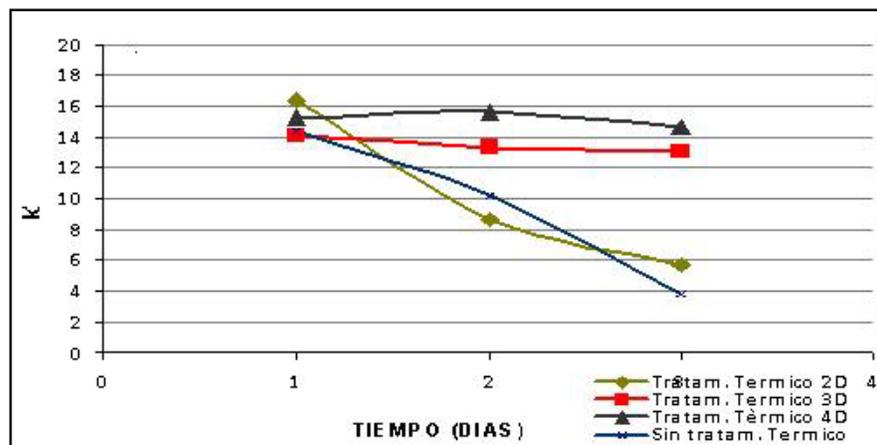


FIGURA 3.7. COMPORTAMIENTO DE k A TRAVÉS DEL TIEMPO A DIFERENTES TRATAMIENTOS TÉRMICOS Y PULPA FRESCA

TABLA 18. PORCENTAJES DE DISMINUCIÓN DE k EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS TÉRMICOS Y PULPA FRESCA

| TRATAMIENTO TÉRMICO | DISMINUCIÓN DE k (%) |
|---------------------|----------------------|
| 2 D | |
| Temp. Ambiente | 65,2 |
| Refrigeración | 11,9 |
| 3 D | 7,3 |
| 4 D | 3,9 |
| Fresca | 73,7 |

Elaborado por: Andrea Guerrero

3.5 Análisis estadístico de la prueba sensorial.

Las muestras utilizadas en la prueba sensorial se consiguieron a partir de pulpa de badea fresca y pulpa de badea con un tratamiento térmico de 3D a una temperatura constante de 90°C, ambas muestras tuvieron 10°Brix y 50% de pulpa, empleando como

edulcorante sacarosa. Se obtuvo el siguiente resultado: de los 17 panelistas, 11 tuvieron un juicio correcto, es decir detectaron la muestra diferente, de los cuales 6 consideraron que existía una ligera diferencia entre las muestras, 2 diferencia moderada y 3 mucha diferencia. Adicionalmente los 17 jueces hicieron comentarios acerca de las muestras que ellos consideraban diferente, varios de ellos mostraron agrado hacia la muestra diferente (pulpa con tratamiento térmico).

Para analizar si las muestras son diferentes significativamente se realizó el cálculo del estadístico z de la curva normal, para posteriormente mediante éste probar si se rechaza o no la hipótesis nula (H_0) la cual declara que no hay diferencia significativa entre las muestras. Se tiene un valor z de 2,49, al buscar éste valor en la tabla área bajo la curva normal estándar presentada en el APENDICE I, se localiza el área a la izquierda de dicho valor y se resta de 1. Se obtuvo 0,0064 (una cola) con el que se tiene la probabilidad exacta para rechazar o no la hipótesis nula.

La tabla de área bajo la curva normal estándar nos muestra que para un nivel de significancia del 5% y 1% se obtienen estadísticos Z de 1,64 y 2,33 respectivamente. A dichos niveles de significancia el estadístico $z = 2,49$ calculado en éste trabajo cae dentro del límite de

rechazo de la hipótesis nula; por tanto se declara que existen suficientes pruebas estadísticas para rechazar la hipótesis nula, y aceptar la hipótesis alterna la cual declara que si existe diferencia significativa entre las muestras, con la probabilidad de errar en ésta aseveración 0,64 ($p = 0,0064$) veces en 100 juicios.

3.6 Caracterización de la pulpa con tratamiento térmico

Las características químicas que presenta la pulpa de badea luego de pasar por un proceso de pasteurización de 3D a una temperatura constante de 90° C, sufren ligeras variaciones en comparación a la pulpa de badea fresca, dichas características se incluyen en la tabla 19.

TABLA 19. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LA PULPA CON TRATAMIENTO TÉRMICO

| CARACTERÍSTICAS | Pulpa pasteurizada | | |
|---------------------------|--------------------|--------|--------|
| | Media | mínimo | máximo |
| Sólidos solubles °Brix | 7,90 | 7,30 | 8,40 |
| pH | 4,49 | 4,47 | 4,52 |
| Acidez (%) | 0,108 | 0,098 | 0,125 |
| Acido Ascórbico (mg/100g) | 22,10 | 20,36 | 24,79 |

Elaborado por: Andrea Guerrero

Daños térmicos en el ácido ascórbico.

Tratamientos con calor inducen a cambios químicos y bioquímicos indeseables como: oscurecimiento no enzimático y deterioración de vitaminas, sabor, textura y color (8). Labuza (1982) señaló que el deterioro de los componentes ocurre en el siguiente orden: sabor, color, textura y con posterioridad pérdidas nutritivas (1). La velocidad de degradación de componentes alimenticios (ejemplo vitaminas) por acción del calor, es mucho más bajo que la velocidad de inactivación térmica de microorganismos resistentes al calor y enzimas. Por lo que, presentan significativamente valores más altos de *D* y *Z* (8). Tal como se observa en la figura 3.8, en donde las gráficas de componentes alimenticios presentan una menor pendiente, por ende un mayor factor de resistencia térmica *Z*. La pulpa de badea fresca muestra un contenido de ácido ascórbico de aprox. 30 mg/100g con un rango de pH 4 - 4,5; comparado con valores reportados en otras frutas, el de la badea es mucho menor. Contenido de ácido ascórbico en diversas frutas: guayaba 300 mg/100g, grosella 210 mg/100g, acerola 2000 mg/100g. En frutas cítricas se ha reportado: lima 43,5 mg/100g con un pH =5,92; °Brix = 6,34; mandarina 44,8 mg/100g; toronja 36,9 mg/100g con un pH=3,54; °Brix=11,20 (1). Por todo lo expuesto anteriormente, no se

consideró necesario efectuar pruebas experimentales de determinación de ácido ascórbico a diferentes temperaturas.

A más del calor, el ácido ascórbico es un nutriente sensible a ser oxidado en soluciones acuosas por el oxígeno, con la influencia de enzimas oxidasas catalíticas y/ o trazas de algunos metales. Otros factores que determinan la velocidad de degradación de dicho nutriente son: pH, concentración de azúcares y aminoácidos, y la estructura del alimento (10). La inestabilidad del ácido ascórbico al calor, se incrementa conforme aumenta el pH, tal como se observa en la tabla 20.

Por lo que, las pérdidas de éste nutriente en la pulpa de badea, serán mayores en comparación a frutas de alta acidez. Sin embargo, dicha pérdida no es esencial en el tratamiento térmico de la pulpa de badea; ya que, su concentración de vitamina C no es significativa en comparación a otras frutas. A medida que se incrementa la temperatura, la degradación de la vitamina C será mayor. Aunque, en un proceso térmico, los tiempos de tratamientos son menores a mayores temperaturas; por lo que, se selecciona una adecuada combinación de tiempo temperatura; con el fin de evitar pérdidas excesivas de nutrientes, si el producto lo amerita.

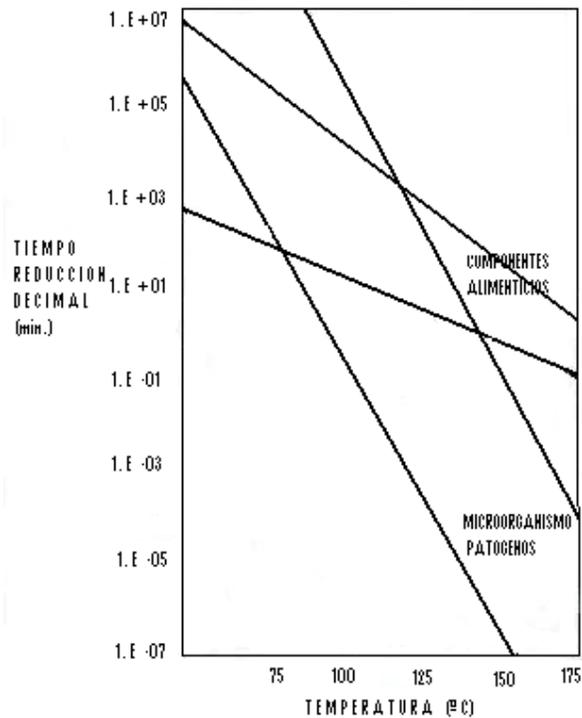


FIGURA 3.8. COMPARACIÓN DE TIEMPOS DE REDUCCIÓN DECIMAL ENTRE MICROORGANISMOS Y COMPONENTES ALIMENTICIOS

Fuente: 8

Se reconoce que un tratamiento térmico adecuado en alimentos permite retener un porcentaje alto de las vitaminas y otros nutrientes; las pérdidas mayores ocurren por un manejo inadecuado durante la cadena alimenticia, y en operaciones como el almacenamiento (1). Benterud (1977) concluyó que más del 90% de la vitamina C se retiene en jugos enlatados de frutas cítricas con alta acidez; en puré de frutas con un pH próximo a 3,5 con adición de ácido ascórbico y tratado térmicamente por 30 minutos a 95°C, utilizando envases de

crystal, se establecieron pérdidas del 10% (1). En ésta tesis se obtuvo una pérdida de aproximadamente el 26% a una temperatura de 90°C en un tiempo de 3D.

TABLA 20. FACTORES DE RESISTENCIA TÉRMICA DEL ACIDO ASCORBICO EN DIFERENTES PRODUCTOS

| Producto | Valor Z (°C) | Rango de temperatura (°C) | pH |
|----------------------------------|--------------|---------------------------|------|
| Jugo de uva 11,2°Brix | 130,00 | 61 - 96 | - |
| Jugo de limón | 72,00 | 20 - 92 | 2,94 |
| Jugo de mandarina 11,10 °Brix | 47,00 | 20 - 92 | 4,02 |
| Espinaca variedad Fruhjahr | 74,40 | 70 - 100 | - |
| Solución Buffer | 39,40 | 110 - 127 | 4,00 |
| | 31,90 | 30 - 100 | |
| cremogenado de brócoli | 58,13 | 60 - 90 | 6,50 |
| Jugo de maracuyá | 61,58 | 70 - 90 | 2,76 |

Fuente: 1, 8

CAPÍTULO 4

4. PROCESO DEL PRODUCTO

Este capítulo consta de tres secciones. El punto 4.1 se presenta el diagrama de flujo del proceso del producto. En el punto 4.2 se describe brevemente las principales etapas del proceso, y en el punto 4.3, se considera uno de los principios de diseño que son requeridos para la selección de un intercambiador de calor. El cual es el comportamiento de flujo del producto. Además, se presenta una breve información acerca de los intercambiadores de calor adecuados para el procesamiento de pulpas.

4.1 Diagrama de flujo

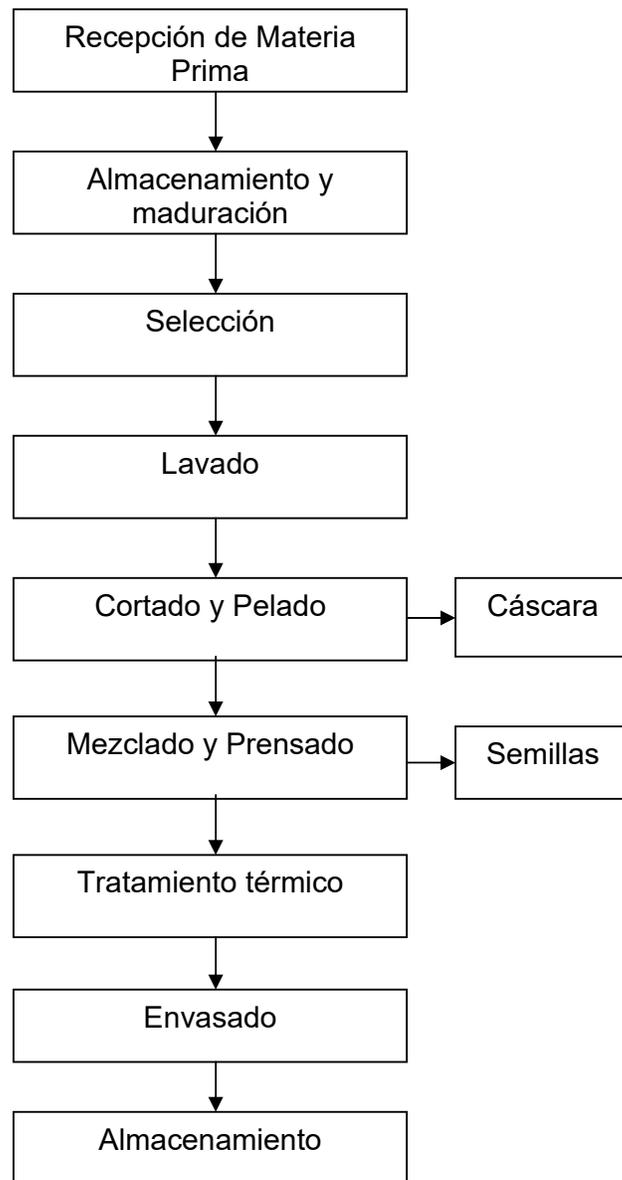


FIGURA 4.1 DIAGRAMA DEL PROCESO DEL PRODUCTO

4.2 Descripción del proceso

Recepción de materia prima

La fruta se recibe al granel y acomodada en gavetas, evitando los golpes y haciendo una selección eliminando la fruta sobremadura, con daños mecánicos, con presencia de hongos, etc.

Almacenamiento

Dependiendo de las prácticas de cultivo, clima, estado de madurez al momento de la cosecha y manejo y almacenamiento postcosecha, la composición de la fruta varía considerablemente.

Por simple apreciación visual, de la fruta recién llegada se separan las frutas verdes, que serán almacenadas hasta que se maduren y su contenido de azúcares sea el adecuado. Para que la fruta sea procesada debe tener las características físico-químicas presentadas en la tabla 4, del capítulo 1. La fruta alcanza su madurez óptima para ser procesada, entre el cuarto y quinto día de cosechada y mantenida a temperatura ambiente.

Selección

Una vez que la fruta está madura es llevada hacia la planta, colocada en gavetas, lista para las siguientes etapas. Se efectúa una inspección visual para descartar toda aquella fruta no apta para el siguiente proceso.

Lavado

Se lo efectúa por inmersión en una solución de agua a la que se le adiciona un producto desinfectante, suele utilizarse hipoclorito

sódico. El lavado se realiza en una lavadora de acero inoxidable, la cual está provista con una inyección de aire la cual provoca turbulencia con la finalidad de eliminar la suciedad de la fruta en general. Además de eliminar la suciedad, se persigue reducir la contaminación microbiana superficial de la fruta.

Cortado y pelado

Previo al cortado y pelado, se realiza una segunda selección por medio de inspección visual; eliminando las partes defectuosas de la fruta, elementos extraños que podrían provocar desperfectos en las maquinarias. Para facilitar el pelado, la fruta debe ser cortada en cuatro partes longitudinalmente y a lo ancho; luego proceder a su pelado manual con ayuda de un cuchillo. Posteriormente es colocada en una banda transportadora para su posterior trituración.

Mezclado y prensado

La fruta es triturada mediante un tornillo sin fin, y luego mediante tuberías entra a un finisher; este equipo contiene paletas y tamices con diferentes aberturas, cuya función consiste en mezclar la pulpa y arilo; y luego ir separando la pulpa de las semillas e impurezas, además de homogenizar la pulpa.

Tratamiento térmico

Las pulpas normalmente se conservan mediante un tratamiento térmico seguido de almacenamiento en refrigeración o congelación. Algunas veces se conserva por congelación sin ningún tratamiento térmico, o por procesamiento aséptico, empacado y almacenado a temperatura ambiente. En la sección 4.3 se presentan las principales características de los intercambiadores de calor utilizados para este tipo de producto. El producto luego de ser sometido a tratamiento térmico, es enfriado en un intercambiador de calor hasta una temperatura aproximada de 23 – 25°C, usando como medio de enfriamiento agua glicolada o agua fría.

Envasado y almacenamiento

El producto es colocado en doble funda de polietileno y luego sometido a un proceso de congelamiento. Posteriormente es colocado, ya sea en barriles de acero inoxidable o en cajas de cartón corrugado. Otra opción de almacenamiento y envasado, es mantener el producto en tanques con atmósferas inertes, generalmente de nitrógeno y mantenido en el interior de almacenes refrigerados. Estos tipos de envasado, son presentaciones para industrias. En condiciones de almacenamiento adecuadas (Temperaturas menores a -18°C), este producto tiene una vida útil de un año.

Por el contrario, si se realiza envasado aséptico, la pulpa es colocada en fundas compuestas de polietileno y aluminio (esterilizadas previamente), y cerradas al vacío. Luego se introducen en bidones metálicos que permiten su paletizado, facilitando así su manejo y almacenamiento (Temperatura ambiente). El envasado se realiza en un ambiente estéril, por lo general se lo esteriliza con peróxido de hidrógeno.

4.3 Características de intercambiadores de calor

Comportamiento de flujo del producto

La selección del óptimo intercambiador de calor depende en gran medida de las condiciones del flujo. En productos de alta viscosidad así como los de composición compleja, la retención de la integridad particular, sabor y color del producto final, son tomados en cuenta, en la elección del óptimo equipo. Por lo que, es necesario entender como el comportamiento de flujo interactúa con la elección del intercambiador de calor. (6).

Con respecto a la reología, pocos alimentos fluyen como alimentos newtonianos, aparte de la leche y jugos de frutas clarificados. Por lo que, muchos productos son no-newtonianos, lo que hace que

sus propiedades sean consideradas cuando se diseñan sistemas de procesamiento, con el fin de evitar excesivo daño, por las delicadas estructuras que presentan. Dependiendo de las propiedades reológicas del producto y de la posible presencia de partículas, el diseño y la elección del equipo puede variar significativamente de caso en caso. (6)

El régimen en que se encuentra el producto, ya sea laminar, transición o turbulento, se considera en el diseño del intercambiador de calor; ya que el comportamiento de flujo afecta el tiempo de retención necesario para obtener un suficiente tratamiento térmico. Para operaciones de transferencia de calor, la influencia de propiedades reológicas, como: la viscosidad aparente, coeficiente de consistencia e índice de comportamiento de flujo, son relacionados con el coeficiente de transferencia de calor (7).

La elección del tipo de equipo a usar para el calentamiento y enfriamiento, depende de factores como: el tipo de producto (ácido o de baja acidez, viscoso o no viscoso, fluido o con partículas, sensible o estable al calor), potencial de obstrucción en la superficie del intercambiador de calor por parte del producto, fácil

de limpiar y mantener, y el costo del intercambiador de calor. A continuación se describen las principales características de los intercambiadores de calor idóneos para el procesamiento de pulpas de frutas (7).

4.3.1 Intercambiador de calor de tubos concéntricos

Este equipo consiste de un tubo colocado dentro de otro tubo, por lo que, tiene un solo canal de producto, el cual fluye a través de la tubo interno y el medio de calentamiento es bombeado dentro del espacio anular formado por los tubos concéntricos (6). El flujo de fluido dentro del intercambiador de calor puede ser en paralelo o en contracorriente. El esquema de este equipo se muestra en la figura 4.2.

Muchos intercambiadores de calor usan corrugaciones lo que generan turbulencia en el medio de calentamiento y enfriamiento, el cual es típicamente agua; lo que incrementa la transferencia de calor. Esto reduce la resistencia a la transferencia de calor causada por las capas límites que pueden estar adheridas a la pared del tubo. En efecto,

asegura que el medio, sea agua de calentamiento o enfriamiento, no restrinja el desarrollo de la transferencia de calor en el intercambiador (7). Este tipo de intercambiador trabaja en un amplio rango de temperaturas.

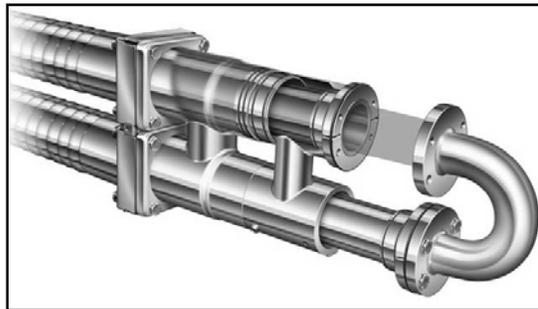


FIGURA 4.2 INTERCAMBIADOR DE CALOR DE TUBOS CONCENTRICOS.

4.3.2 Intercambiador de calor de superficie raspada

El intercambiador de calor de superficie raspada es un equipo tubular que tiene cuchillas raspadoras que rotan dentro del cilindro o tubo; tal como se observa en la figura 4.2. El alimento es bombeado dentro, mientras que el medio de calentamiento es circulado entre el cilindro y la chaqueta. (6) El raspador mantiene la superficie de calentamiento libre de cualquier depósito y también promueve la turbulencia. Este equipo es adecuado para

productos de muy alta viscosidad y también de los que contienen partículas grandes. Intercambiadores de superficie raspada tienden a usar vapor como medio de calentamiento, por su mayor eficiencia en transferencia de calor (7).

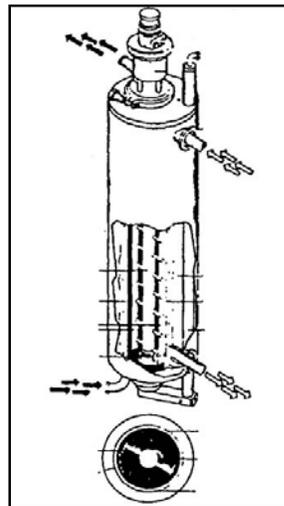


FIGURA 4.3 INTERCAMBIADOR DE CALOR DE SUPERFICIE RASPADA

El área de contacto del alimento es fabricada de acero inoxidable, níquel puro u otros materiales resistentes a la corrosión y las cuchillas del rotor están cubiertas de plástico laminado. Aunque la alta velocidad de rotación permite una mejor transferencia de calor, esto podría afectar la calidad

del procesado de producto por posible maceración. Por lo que, se selecciona cuidadosamente la velocidad del rotor y espacio anular entre el rotor y el cilindro para el producto que está siendo procesado. Típicas temperaturas de trabajo están en un rango de -39 a 190°C (7).

Alimentos de un amplio rango de viscosidad, pueden ser procesados en éste intercambiador; por ejemplo: jugos de frutas, sopas, concentrados cítricos, mantequillas de maní, pasta de tomate, purés, pulpas, etc. (7). Su costo de adquisición y mantenimiento son más altos que un intercambiador de tubos concéntricos, porque se tienen que desmontar partes. Por lo que, este intercambiador es visto como el último recurso en cuanto a elección de intercambiadores de calor. (6).

4.3.3 Intercambiador de calor multitubo modificado

Este tipo de intercambiador es una modificación del equipo multitubo. Tiene un especial diseño en la entrada de los tubos, la cual evita el riesgo de bloqueo por parte de las fibras contenidas en el producto. Este equipo es adecuado

para jugos con fibras largas, por ejemplo mayor de 15 mm de longitud; o pulpas de frutas con una alta concentración de pulpa y fibras. El producto es dirigido suavemente dentro del tubo y una vez dentro fluye con facilidad a través de todo el tubo y puede resistir altas presiones. Es conocido como intercambiador de calor fibratubo. Bombas de alta presión pueden ser utilizadas para evitar que hallan problemas con el fluido, como la formación de obstrucciones, lo que llevaría a un decrecimiento en la temperatura del producto y por ende sea sub-procesado. Éste tipo de bombas también son útiles en los intercambiadores de calor de tubos concéntricos y de superficie raspada.



FIGURA 4.4 INTERCAMBIADOR DE CALOR DE TUBO FIBRATUBO

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

Las conclusiones obtenidos en éste trabajo son:

1. El tiempo de inactivación térmica de la PME en la experimentación fue de $2.7D$ a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, siendo D igual a 9 minutos. Extrapolando, se necesitaría un tratamiento térmico aséptico a $137\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 minuto. Es por eso que tomando como referencia la inactivación de la PME, resulta tiempos muy largos de retención, por eso, es conveniente que a nivel industrial se considere como referencia la destrucción de microorganismos tales como mohos, levaduras o bacterias ácido lácticas, ya que requieren de calentamientos leves

2. La acción de la enzima PME en las pulpas de frutas, induce a cambios en su consistencia, además de causar pérdidas de turbiedad en los jugos elaborados a partir de ellas. La pulpa de badea fresca, presentó en promedio una actividad enzimática de 1,105 UPE/ml, la cual es superior al de otras fuentes, como por ejemplo en la maracuyá 0,500 UPE/ml. Lo que indicaría que en la pulpa de badea fresca, es mayor la tendencia a cambios en sus características reológicas, volviéndose poco viscosos por la acción de la enzima.

3. Existe una clara dependencia entre las constantes de inactivación enzimática y la temperatura de tratamiento, que puede expresarse según la curva de tiempo de inactivación térmica. La inactivación de la enzima PME en la pulpa de badea, presentó un valor de $Z = 38 \text{ }^\circ\text{C}$, lo que nos indica que la PME en la pulpa de badea es más termoresistente, que la misma enzima procedente de otras fuentes vegetales, como por ejemplo jugo de tomate (variedad monteroso) $Z = 31.2 \text{ }^\circ\text{C}$. La diferencia presentada en la termoresistencia de la enzima, es por causa de la estructura del alimento. La inactivación de la PME en la pulpa de badea se ajusta a una cinética de primer orden.

4. Se determinó un índice de consistencia de $14,35 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ y un índice de comportamiento de flujo de 0,25 (temperatura ambiente) en la pulpa de badea fresca. El comportamiento reológico de la pulpa de badea se considera no newtoniano del tipo pseudoplástico, tal y como revela el ajuste de los datos reológicos a la ley de potencia. Dichos parámetros reológicos son útiles en el diseño de equipos como bombas e intercambiadores de calor, y todo equipo en que exista flujo.

5. La inestabilidad del ácido ascórbico al calor, se incrementa conforme aumenta el pH. Por lo que, las pérdidas de éste nutriente en la badea (pH 4-4,5 aprox.), serán mayores en comparación a frutas de alta acidez, como por ejemplo, la maracuyá (aprox. pH 2,76). Sin embargo, dicha pérdida no es primordial en el tratamiento térmico en la pulpa de badea; ya que, su concentración de vitamina C no es significativa (aprox. 30 mg/100g).

6. De acuerdo a las características de los diferentes intercambiadores de calor utilizados para el procesamiento de frutas. Se determinó que el equipo adecuado para la obtención de pulpa de badea, sería el multitubo modificado; ya que, su

diseño especial permite que la pulpa fluya con facilidad a través de los tubos, evitando que se produzcan bloqueos y por ende sobrecalentamiento del producto. Los equipos tubulares concéntricos y los de superficie raspada, son más adecuados para pulpas de frutas que requieren de un alto valor inicial para fluir y presentan alta consistencia como por ejemplo: en el banano ($33,5 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ a 30°C); no siendo así en el caso de la pulpa de badea ($14,35 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ a 26°C).

Recomendaciones:

Se puede recomendar que:

1. Para contrarrestar la actividad de la PME, cuando se inactive microbiológicamente, es recomendable que se congele la pulpa luego del tratamiento térmico, ya que las enzimas son sensibles a las bajas temperaturas. Así, se evitaría los cambios en la consistencia de la pulpa, por acción de la PME residual.
2. Los resultados de temperaturas y tiempos de tratamientos térmico obtenidos en éste trabajo se validen, haciendo pruebas experimentales, como la inoculación de microorganismos como el *Bacillus coagulans*, ya que éste es resistente a condiciones de pH de

4 y 4,5; u otro tipo de microorganismo resistente en productos ácidos. Con el fin de determinar si el tratamiento térmico aplicado, es adecuado para obtener un producto inocuo.

3. Se realicen pruebas experimentales, determinando los parámetros reológicos n y k a diferentes temperaturas de tratamiento térmico; puesto que, la temperatura ejerce una influencia significativa en el comportamiento reológico de un fluido. Dichos parámetros son necesarios si se desea realizar el diseño de un equipo en donde interviene flujo de fluidos. En ésta tesis al momento de medir la viscosidad, las muestras estaban a la misma temperatura (ambiente), con el fin de poder comparar el efecto de la temperatura en la inactivación enzimática.

ANEXOS

APENDICE A

Determinación de grados °Brix

La determinación de los grados °Brix se la realizó por duplicado, con un refractómetro portátil Cole-Parmer, de escala 0-32 °Brix. Previo a la lectura de los grados °Brix se calibraba el equipo con agua destilada.

Determinación de pH

Se realizó la lectura del pH por duplicado, utilizando un potenciómetro digital marca OAKTON. Cabe recalcar que el pH se tomó a la pulpa licuada y al jugo de semilla por separado.

Determinación de Acidez titulable

La acidez titulable se la realizó por duplicado de acuerdo al método AOAC (2000) 939.05.

Determinación de Ácido Ascórbico

La concentración de ácido ascórbico se la determinó mediante el método AOAC (2000)976.22.

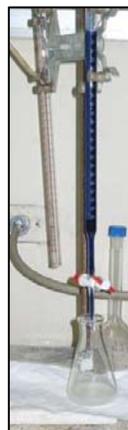


FIGURA A. SISTEMA PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO

APENDICE B

Preparación de soluciones

| SOLUCIÓN | PREPARACIÓN |
|---------------------------|--|
| Cloruro de Sodio 0,15 M | Disolver 8,76 g de cloruro de sodio en 1000 ml de agua destilada |
| Pectina 1% | Calentar solución de cloruro de sodio a 50-55°C, colocar una pequeña cantidad aparte y adicionar despacio 10g de pectina e ir mezclando hasta que éste bien disuelto. Enrasar hasta 1000 ml con solución de cloruro de sodio y mezclar. Mantener en refrigeración. |
| Hidróxido de Sodio 1N | Disolver 10 g de NaOH en 250 ml de agua destilada. |
| Hidróxido de Sodio 0,01N | Colocar 10 ml de NaOH 0,1N en matraz volumétrico y enrasar con agua destilada hasta 100 ml. |
| Hidróxido de Sodio 0,001 | Colocar 10 ml de NaOH 0,01N en matraz volumétrico y enrasar con agua destilada hasta 100 ml. |
| Hidróxido de Sodio 0,2 N | Colocar 20 ml de NaOH 1N en matraz volumétrico y enrasar con agua destilada hasta 100 ml. |
| Acido Oxálico 20% | Disolver 5 g de ácido oxálico en 250 ml de agua destilada. |
| 2,6 diclorofenolindofenol | Donado por Banalight S.A Guardar en frasco oscuro en refrigeración. |

APENDICE C

EQUIPO PRINCIPAL

El viscosímetro de Brookfield consta de un cabezal con un elemento rotatorio que consta de un resorte de berilio y cobre, en el que se inserta una aguja o disco y de una horquilla que enmarca la zona de la aguja. Esta se sumerge en el líquido hasta el nivel marcado en la misma. Al funcionar el elemento rotatorio y la aguja giran con una velocidad angular constante que se fija con un dado selector situado en el cabezal. La torca o par generado por la resistencia viscosa del líquido se puede leer en una escala situada también en el cabezal para lo cual se presiona una palanca llamada "clutch" la cual acopla una aguja deflectora a la escala. La deflexión leída es proporcional a la torca. En la figura A1. Se muestran los principales elementos del viscosímetro de Brookfield.

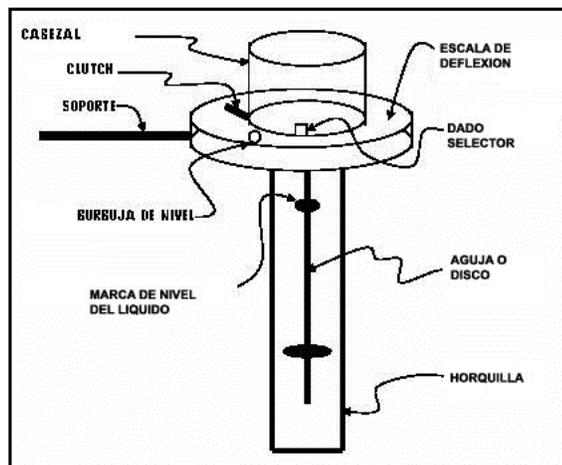


FIGURA C. PRINCIPALES ELEMENTOS DEL VISCOSÍMETRO DE BROOKFIELD.

Fuente: 16

APENDICE D

METODOLOGÍA PARA MEDIR LA VISCOSIDAD EN LAS MUESTRAS

1. Colocar la muestra en un vaso de precipitación de 600ml (llenado máximo de 500 ml), se utilizó 400 ml de muestra.
2. Verificar que la muestra no contenga burbujas de aire y este a una temperatura constante y uniforme, esto se lo hace tomando la temperatura en varios puntos de la muestra.
3. Insertar el disco en el material de prueba y ajústelo en el eje inferior del cabezal sosteniendo firmemente el eje inferior con una mano y enroscando el disco con la otra (se debe de tener cuidado de no golpear la aguja contra los lados del recipiente que contiene el material de prueba, mientras se une con el viscosímetro pues esto puede dañar la alineación del eje). El nivel de la muestra tiene que estar hasta la ranura (corte) en el eje del disco.
4. Chequear que el viscosímetro esté nivelado, haciendo uso de la burbuja de nivel que está en el cabezal.
5. Encender el switch del motor "on" y permita que se establezca el indicador, el tiempo dependerá a la velocidad a la cual el disco esté rotando, a las velocidades arriba de 4 rpm. Esto generalmente ocurrirá aproximadamente de 20 a 30 segundos. Mientras que a bajas velocidades esto tomará el tiempo requerido de una revolución del

cuadrante. El tiempo que se tomó para llevar a cabo los experimentos fue de 30 segundos.

6. Una vez que se ha estabilizado utilice el “clutch” de la parte de atrás del cabezal y apague el switch del motor “off”, para detener el equipo y realizar la lectura con el indicador a la vista.
7. Anotar velocidad angular y número de disco utilizados, y la lectura del viscosímetro, para posteriormente realizar el cálculo de la viscosidad, como se detalla en el APENDICE G. Repetir los pasos del 5 al 7 para tener un promedio.
8. Cambiar la velocidad angular en el dado selector del cabezal (de menor a mayor velocidad) y repita los pasos del 4 al 7.
9. Terminada las lecturas del viscosímetro con las velocidades rotacionales de experimentación, se saca el disco de la muestra y se lo cambia con el siguiente, repitiendo los pasos del 3 al 8.

La metodología que se siguió, se tomó de referencia (16).

APENDICE E

SELECCIÓN DE VELOCIDAD ROTACIONAL Y DEL DISCO

Método que se utilizó es el de prueba error, el cual consiste en verificar siempre que la lectura del dial del viscosímetro este entre 10 y 100% de la escala total. Se hacen pruebas con un disco y una velocidad, se presiona el "clutch" de manera que la aguja indicadora quede en la zona visible de la escala, si la aguja se estaciona fuera de la escala o fuera del rango de 10 y 100%, se cambia la velocidad de rotación, hasta hallar la combinación de disco y velocidad rotacional más adecuada. Los discos más grandes (#1, 2, 3) generalmente se utilizan para materiales de menor viscosidad, mientras que, los discos más pequeños (#4, 5, 6,7) se utilizan para materiales de mayor viscosidad.

Existe, para cada combinación de disco y velocidad, un rango máximo de viscosidad que es igual al factor del disco multiplicado por 100, y un rango mínimo de viscosidad que es igual a este factor multiplicado por 10. Por ejemplo para la aguja #3 de un viscosímetro RVT a 5 rpm el factor es igual a 200. Por tanto, el máximo rango para esta combinación será de 20000 cP y el mínimo de 2000 cP. (16).

Las mediciones con el mismo disco a diferentes velocidades se usan para detectar y evaluar propiedades reológicas del fluido a prueba (13).

Por lo antes expuesto, los ensayos reológicos tanto de la pulpa de badea fresca como la pasteurizada, se los llevó a cabo empleando los discos #4 y #6, y trabajando a tres velocidades rotacionales (20, 50 y 100 rpm.).

APENDICE F

TABLA 21: FACTORES DEL VISCOSÍMETRO DE BROOKFIELD MODELO RVT.

| MODELO: RV | | | | | | | | | |
|-----------------------------|------------|-----|----|-----|-----|------|------|-----|--------|
| N° de disco | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | FACTOR |
| VELOCIDAD ROTACIONAL (rpm.) | 0.5 | 200 | | 2M | 4M | 8M | 20M | 80M | |
| | 1 | 100 | | 1M | 2M | 4M | 10M | 40M | |
| | 2 | 50 | | 500 | 1M | 2M | 5M | 20M | |
| | 2.5 | 40 | | 400 | 800 | 1.6M | 4M | 16M | |
| | 4 | 25 | | 250 | 500 | 1M | 2.5M | 10M | |
| | 5 | 20 | | 200 | 400 | 800 | 2M | 8M | |
| | 10 | 10 | 40 | 100 | 200 | 400 | 1M | 4M | |
| | 20 | 5 | 20 | 50 | 100 | 200 | 500 | 2M | |
| | 50 | 2 | 8 | 20 | 40 | 80 | 200 | 800 | |
| | 100 | 1 | 4 | 10 | 20 | 40 | 100 | 400 | |

M=1000

Fuente: 13

APENDICE G

TRATAMIENTO DE LAS LECTURAS OBTENIDAS EN EL VISCOSÍMETRO

Para la expresión de los resultados se realiza lo siguiente:

1. Defina el factor utilizando la tabla 21 presentada en el APENDICE F, para esto se utiliza el número de disco y la velocidad (rpm.).
2. Una vez determinado el factor, multiplique la lectura obtenida por el factor.
3. El resultado se expresa en centipoise (cP).

Ejemplo:

Modelo: RVT
N° disco: 3
Velocidad (rpm.): 5
Factor: 200
Lectura obtenida: 50
Viscosidad: $(200 \cdot 50) = 10\,000$ cP.

Fuente: 13

APENDICE H

FIGURA H HOJA DE RESULTADOS PRESENTADA A LOS JUECES

NOMBRE: _____ FECHA: _____

PRODUCTO: JUGO DE BADEA

Ante usted hay 3 muestras. **DOS DE ELLAS SON IGUALES ENTRE SÍ.**
Pruébelas e indique cuál es la **MUESTRA DIFERENTE.**

MARQUE CON UNA X EL CODIGO DE LA **MUESTRA DIFERENTE**

2755 8643 1216

En el caso de muestra diferente, diga cuanta es la diferencia con respecto a las
muestras duplicadas.
(MARQUE CON UNA X)

Ligera diferencia

Diferencia moderada
diferencia

Mucha
diferencia

APENDICE I

TABLAS ESTADISTICA AREAS BAJO LA CURVA NORMAL ESTANDAR



| z | 0 | 0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.04 | 0.05 | 0.06 | 0.07 | 0.08 | 0.09 |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 0.0 | 0.5000 | 0.5040 | 0.5080 | 0.5120 | 0.5160 | 0.5199 | 0.5239 | 0.5279 | 0.5319 | 0.5359 |
| 0.1 | 0.5398 | 0.5438 | 0.5478 | 0.5517 | 0.5557 | 0.5596 | 0.5636 | 0.5675 | 0.5714 | 0.5753 |
| 0.2 | 0.5793 | 0.5832 | 0.5871 | 0.5910 | 0.5948 | 0.5987 | 0.6026 | 0.6064 | 0.6103 | 0.6141 |
| 0.3 | 0.6179 | 0.6217 | 0.6255 | 0.6293 | 0.6331 | 0.6368 | 0.6406 | 0.6443 | 0.6480 | 0.6517 |
| 0.4 | 0.6554 | 0.6591 | 0.6628 | 0.6664 | 0.6700 | 0.6736 | 0.6772 | 0.6808 | 0.6844 | 0.6879 |
| 0.5 | 0.6915 | 0.6950 | 0.6985 | 0.7019 | 0.7054 | 0.7088 | 0.7123 | 0.7157 | 0.7190 | 0.7224 |
| 0.6 | 0.7257 | 0.7291 | 0.7324 | 0.7357 | 0.7389 | 0.7422 | 0.7454 | 0.7486 | 0.7517 | 0.7549 |
| 0.7 | 0.7580 | 0.7611 | 0.7642 | 0.7673 | 0.7704 | 0.7734 | 0.7764 | 0.7794 | 0.7823 | 0.7852 |
| 0.8 | 0.7881 | 0.7910 | 0.7939 | 0.7967 | 0.7995 | 0.8023 | 0.8051 | 0.8078 | 0.8106 | 0.8133 |
| 0.9 | 0.8159 | 0.8186 | 0.8212 | 0.8238 | 0.8264 | 0.8289 | 0.8315 | 0.8340 | 0.8365 | 0.8389 |
| 1 | 0.8413 | 0.8438 | 0.8461 | 0.8485 | 0.8508 | 0.8531 | 0.8554 | 0.8577 | 0.8599 | 0.8621 |
| 1.1 | 0.8643 | 0.8665 | 0.8686 | 0.8708 | 0.8729 | 0.8749 | 0.8770 | 0.8790 | 0.8810 | 0.8830 |
| 1.2 | 0.8849 | 0.8869 | 0.8888 | 0.8907 | 0.8925 | 0.8944 | 0.8962 | 0.8980 | 0.8997 | 0.9015 |
| 1.3 | 0.9032 | 0.9049 | 0.9066 | 0.9082 | 0.9099 | 0.9115 | 0.9131 | 0.9147 | 0.9162 | 0.9177 |
| 1.4 | 0.9192 | 0.9207 | 0.9222 | 0.9236 | 0.9251 | 0.9265 | 0.9279 | 0.9292 | 0.9306 | 0.9319 |
| 1.5 | 0.9332 | 0.9345 | 0.9357 | 0.9370 | 0.9382 | 0.9394 | 0.9406 | 0.9418 | 0.9429 | 0.9441 |
| 1.6 | 0.9452 | 0.9463 | 0.9474 | 0.9484 | 0.9495 | 0.9505 | 0.9515 | 0.9525 | 0.9535 | 0.9545 |
| 1.7 | 0.9554 | 0.9564 | 0.9573 | 0.9582 | 0.9591 | 0.9599 | 0.9608 | 0.9616 | 0.9625 | 0.9633 |
| 1.8 | 0.9641 | 0.9649 | 0.9656 | 0.9664 | 0.9671 | 0.9678 | 0.9686 | 0.9693 | 0.9699 | 0.9706 |
| 1.9 | 0.9713 | 0.9719 | 0.9726 | 0.9732 | 0.9738 | 0.9744 | 0.9750 | 0.9756 | 0.9761 | 0.9767 |
| 2 | 0.9772 | 0.9778 | 0.9783 | 0.9788 | 0.9793 | 0.9798 | 0.9803 | 0.9808 | 0.9812 | 0.9817 |
| 2.1 | 0.9821 | 0.9826 | 0.9830 | 0.9834 | 0.9838 | 0.9842 | 0.9846 | 0.9850 | 0.9854 | 0.9857 |
| 2.2 | 0.9861 | 0.9864 | 0.9868 | 0.9871 | 0.9875 | 0.9878 | 0.9881 | 0.9884 | 0.9887 | 0.9890 |
| 2.3 | 0.9893 | 0.9896 | 0.9898 | 0.9901 | 0.9904 | 0.9906 | 0.9909 | 0.9911 | 0.9913 | 0.9916 |
| 2.4 | 0.9918 | 0.9920 | 0.9922 | 0.9925 | 0.9927 | 0.9929 | 0.9931 | 0.9932 | 0.9934 | 0.9936 |
| 2.5 | 0.9938 | 0.9940 | 0.9941 | 0.9943 | 0.9945 | 0.9946 | 0.9948 | 0.9949 | 0.9951 | 0.9952 |
| 2.6 | 0.9953 | 0.9955 | 0.9956 | 0.9957 | 0.9959 | 0.9960 | 0.9961 | 0.9962 | 0.9963 | 0.9964 |
| 2.7 | 0.9965 | 0.9966 | 0.9967 | 0.9968 | 0.9969 | 0.9970 | 0.9971 | 0.9972 | 0.9973 | 0.9974 |
| 2.8 | 0.9974 | 0.9975 | 0.9976 | 0.9977 | 0.9977 | 0.9978 | 0.9979 | 0.9979 | 0.9980 | 0.9981 |
| 2.9 | 0.9981 | 0.9982 | 0.9982 | 0.9983 | 0.9984 | 0.9984 | 0.9985 | 0.9985 | 0.9986 | 0.9986 |
| 3 | 0.9987 | 0.9990 | 0.9993 | 0.9995 | 0.9997 | 0.9998 | 0.9998 | 0.9999 | 0.9999 | 1.0000 |

BIBLIOGRAFÍA

1. ALVARADO, JUAN DE DIOS, Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos, Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato
2. ANZALDUA-MORALES, ANTONIO, La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y la Práctica, Editorial Acribia. Zaragoza, México, 1994
3. CHEFTEL, JEAN-CLAUDE Y CHEFTEL, HENRY, Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos, Editorial Acribia. Zaragoza, España, Volumen 1
4. FENNEMA, PETER, Química de los Alimentos, Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1993
5. G.G.BIRCH, N. BLAKEBROUGH AND K.J.PARKER, Enzymes and Food Processing, London, Great Britain, 1981

6. HELDMAN R. DENNIS Y SINGH PAUL, Introduction of Food Engineering, Tercera Edición, Food Science and Technology
7. RICHARDSON PHILIP, Improving the Thermal Processing of Foods
8. MAROULIS, ZACHARIAS B. Y SARAVACOS D. GEORGE, Food Process Design

REFERENCIAS

9. ALVARADO GUINAC, DAVID, “Búsqueda, Colecta, Caracterización de Cultivares de Granadilla de Costa (*Passiflora quadrangularis*) en la Zona Sur- Occidental de Guatemala” (Tesis, Dirección General de Investigación – DIGI- , Universidad de San Carlos de Guatemala, 2003)
10. FLORES AVILA, ELENA, “Desarrollo de una Bebida Funcional de Maracuyá (*Passiflora edulis. Flavicarpa*)” (Tesis, Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla, 2004)

11. FRANCESCO DE SIO, GIUSEPPE DIPOLLINA, AND GERARDO VILLARI, Thermal Resistance of Pectin Methylsterase in Tomato Juice, Department of Tomato Products, Department of Packaging and Food Sterilization, Italy, Journal of Elsevier

12. GORDON E. ANTHON AND DIANE M. BARRETT, Kinetic Parameters for the Thermal Inactivation of Quality-Related Enzymes in Carrots and Potatoes, Department of Food Science and Technology, University of California, Journal of Agricultural and Food Chemistry

13. Manual de Operaciones del Viscosímetro de Rotación Syncho-letric Brookfield

14. RODRIGUEZ, YESENIA Y AULAR, JESÙS, "Características del Fruto de Cuatro Pasifloras de la Zona Andina Venezolana" (Tesis, Posgrado de Horticultura. Decanato de Agronomía. Universidad. Centroccidental "Lisandro Alvarado". Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela, 2001)

15. S.A. DE ASSIS, D.C. LIMA, AND O.M.M. DE FARIA OLIVEIRA, Acerola's Pectin Methylsterase: Studies of Heat Inactivation, Departamento de Bioquímica y Tecnología Química, Brasil, Journal of Elsevier

16.SORIA LÓPEZ, ALBERTO, Manual de los laboratorios de Fenómenos de Transporte, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, 2003

17.www1, 2008: <http://mag.gov.ec>

18.www2, 2008: <http://sica.gov.ec>

