

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE: INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**Efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en el pH,
índice de pardeamiento y aceptabilidad sensorial del color y sabor,
en palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada**

Área de investigación:

Tecnología de alimentos

Autor:

Br. Benites Morales, Percy Fred

Jurado evaluador:

Presidente: Rodríguez Zevallos, Antonio Ricardo

Secretario: Ferradas Horna, Ana Cecilia

Vocal: Vásquez Senador, Max

Asesora:

Barraza Jáuregui, Gabriela del Carmen

Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-0376-2751>

**TRUJILLO,
PERU 2022**

Fecha de sustentación: 18/12/2018

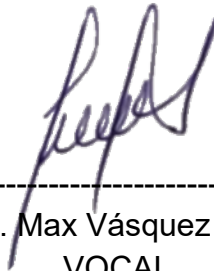
La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:



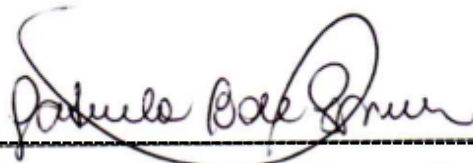
Ing. Dr. Antonio Ricardo Rodríguez Zevallos
PRESIDENTE



Ing. Ms. Ana Cecilia Ferradas Horna
SECRETARIO



Ing. Ms. Max Vásquez Senador
VOCAL



Ing. Ms. Gabriela del Carmen Barraza Jáuregui
ASESORA

DEDICATORIA

Dedico la presente tesis a Dios, porque sin Él nada es posible, por haberme dado la vida y permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres, Juan y María; los pilares más importantes en mi formación personal y en todo ámbito por demostrarme siempre su cariño y apoyo.

A mi esposa, Silvana, que siempre ha estado junto a mí, por demostrarme su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A mis padres, Juan y María; quienes me apoyaron en todo momento en la realización de la presente tesis, dándome todo el apoyo necesario.

A mis docentes universitarios, en especial a mi asesora Ing. Gabriela Barraza Jáuregui, que compartieron sus enseñanzas, guiaron mi desarrollo académico e hicieron posible esta tesis.

A mi esposa, Silvana, que estuvo siempre apoyándome y alentándome cada día para poder cumplir mis metas, en este caso la tesis.

ÍNDICE GENERAL

CARÁTULA	¡Error! Marcador no definido.
APROBACIÓN POR EL JURADO DE TESIS.....	ii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE ANEXOS.....	x
RESUMEN.....	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISION DE BIBLIOGRAFÍA	4
2.1. Palta.....	4
2.1.1. Descripción.....	4
2.1.2. Propiedades nutricionales de la palta.....	4
2.1.3. Producción de palta en La Libertad.....	5
2.2. Congelación de alimentos.....	5
2.2.1. Definición.....	5
2.2.2. Congelación por lecho fluidizado.....	6
2.3. Pardeamiento enzimático	7
2.3.1. Generalidades	7
2.3.2. Factores que condicionan el pardeamiento enzimático	7
2.3.3. Polifenoloxidasas	8
2.3.4. Mecanismos de reacción de la polifenoloxidasas (PFO)	9
2.3.5. Métodos estabilizantes del pardeamiento enzimático	9
2.4. Medición del color	14
2.4.1. Espacios de color	15
2.4.2. Equipos de medición del color.....	15
2.5. Superficie de respuesta	16
2.6. Evaluación sensorial	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21

3.1. Lugar de ejecución.....	21
3.2. Materiales y equipos	21
3.3. Método experimental de la investigación en palta congelada	22
3.3.1. Esquema experimental de la investigación en palta congelada.....	22
3.3.2. Diagrama de flujo para la elaboración de palta en cubos congelada.....	25
3.3.3. Métodos de análisis.....	28
3.4. Análisis estadístico	30
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1. Efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en el pH de palta (<i>Persea americana</i> Mill) en cubos congelada..	31
4.2. Efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en el índice de pardeamiento de muestras de palta (<i>Persea americana</i> Mill) en cubos congelada.....	36
4.3. Efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en la aceptabilidad del color de palta (<i>Persea americana</i> Mill) en cubos congelada.....	43
4.4. Efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en la aceptabilidad del sabor de palta (<i>Persea americana</i> Mill) en cubos congelada.....	46
4.5. Determinación de la zona de formulación factible y localización numérica de la mezcla óptima	47
V. CONCLUSIONES.....	49
VI. RECOMENDACIONES	50
VII. BIBLIOGRAFÍA	51
VIII. ANEXOS	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Valores de α	17
Cuadro 2.	Valores utilizados en DCCR para las dos variables seleccionadas.....	22
Cuadro 3.	Valores codificados y reales de las variables bajo estudio	23
Cuadro 4.	Valores de pH de palta en cubos congelada	31
Cuadro 5.	Análisis de varianza para valores de pH de palta en cubos congelada	33
Cuadro 6.	Análisis de regresión para valores de pH de palta en cubos congelada	34
Cuadro 7.	Valores observados y estimados para índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada. 35	
Cuadro 8.	Índice de pardeamiento de muestras de palta (<i>Persea americana</i> Mill) en cubos congelada	37
Cuadro 9.	Coefficientes de la regresión del modelo lineal aplicado a valores de índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada.....	39
Cuadro 10.	Coefficientes de la regresión del modelo cuadrático aplicado a valores de índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada.....	40
Cuadro 11.	Valores observados y estimados de índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada. 41	
Cuadro 12.	Prueba de Durbin para evaluación de la aceptabilidad del color de muestras de palta (<i>Persea americana</i> Mill) en cubos congelada.....	44
Cuadro 13.	Prueba de comparaciones múltiples de Conover para valores de aceptabilidad del color de muestras de palta (<i>Persea americana</i> Mill) en cubos congelada.....	44
Cuadro 14.	Prueba de Durbin para evaluación de la aceptabilidad del sabor de muestras de palta (<i>Persea americana</i> Mill) en cubos congelada.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema experimental para la investigación en palta en cubos congelada.....	24
Figura 2. Diagrama de flujo para la elaboración de palta en cubos congelada.	26
Figura 3. Ficha de evaluación de aceptabilidad general de cubos de palta.	29
Figura 4. Superficie de respuesta (a) y de contorno (b) para valores de pH de muestras de palta en cubos congelada.	36
Figura 5. Superficie de respuesta (a) y de contornos (b) para valores de índice de pardeamiento (L^*) de muestras de palta en cubos congelada.....	42
Figura 6. Gráfica de superposición de superficie de respuesta para la optimización de la concentración de ácido cítrico y ascórbico.....	47

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Resultados de L* y pH en palta en cubos congelados....	56
Anexo 2. Resultados de color y sabor en palta en cubos congelados.....	57
Anexo 3. Resultados evaluación sensorial del color	58
Anexo 4. Resultados evaluación sensorial del sabor	59

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en el pH, índice de pardeamiento (L^*) y aceptabilidad sensorial del color y sabor de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada. Las paltas fueron procesadas, trozadas en cubos de 1.5 cm de lado, sumergidas en solución de ácido cítrico, ácido ascórbico en concentraciones de acuerdo al diseño experimental, por un tiempo de 40 segundos, con el fin de inhibir el pardeamiento enzimático. Se empleó una relación trozos de palta: solución de 1:4. Posteriormente se escurrieron y congelaron en un túnel de congelación de lecho fluidizado (IQF) a una temperatura de $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Luego fueron envasadas en bolsas de polietileno de 0.25 kg de capacidad y almacenadas en una cámara de congelación a una temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un período de 7 días, hasta su posterior evaluación. El análisis estadístico indicó que el efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en el pH, índice de pardeamiento (L^*) y aceptabilidad del color de palta en cubos congelada, fue significativo, con excepción del sabor, en el que no se encontró efecto significativo. La concentración de ácido cítrico y ascórbico que optimizaron las variables pH e índice de pardeamiento, a partir de la superposición de contornos, fue de 1.02 y 3.26% respectivamente, determinándose los valores estimados de las variables respuesta pH: 5.29 e índice de pardeamiento (L^*): 65.425.

ABSTRACT

The objective of this investigation was to evaluate the effect of the concentration of citric and ascorbic acid in the pH, browning index (L^*) and sensory acceptability of the color and flavor of avocado (*Persea americana* Mill) in frozen cubes. The avocados were processed, cut into cubes 1.5 cm on each side, submerged in citric and ascorbic acid solution in concentrations according to the experimental design, for a time of 40 s, in order to inhibit the enzymatic browning. A ratio of avocado pieces was used: solution of 1: 4. Subsequently, they were drained and frozen in a fluidized bed freezing tunnel (IQF) at a temperature of $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Then they were packed in 0.25 kg polyethylene bags and stored in a freezing chamber at a temperature of $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for a period of 7 days, until further evaluation. The statistical analysis indicated that the effect of the concentration of citric and ascorbic acid in the pH, browning index (L^*) and sensory color of frozen cubed avocados, was significant, except for the flavor, in which no effect was found significant. The concentration of citric and ascorbic acid that optimized the pH and browning index variables, from the superposition of contours, was 1.02 and 3.26% respectively, determining the estimated values of the response variables pH: 5.29 and browning index (L^*): 65,425.

I. INTRODUCCIÓN

La Sociedad de Comercio Exterior del Perú (ComexPerú), destacó la palta como el “oro verde” de las exportaciones peruanas, al lograr un crecimiento sostenido en los últimos años y superar los US\$ 570 millones, en los primeros nueve meses del 2017. El gremio empresarial refirió que de acuerdo con el Centro de Comercio Internacional (ITC), desde el 2014 el Perú se ubica tercero en el ranking mundial de exportadores de palta al mundo, después de México y Países Bajos. De acuerdo a cifras de la Sunat, la exportación peruana de palta dio un primer gran salto de 64 % de incremento entre 2013 y 2014 al pasar de US\$ 183.6 millones a US\$ 301 millones. En 2015 se incrementó ligeramente en 1.6 % al situarse en 306 millones de dólares, y en 2016 alcanzó los US\$ 396.9 millones (29.7 % de crecimiento) y se ubicó en el ranking nacional exportador como el tercer producto no tradicional y en el periodo enero-setiembre del año 2017, las exportaciones de palta ascendieron a US\$ 570.3 millones, un 43.7 % más que en el mismo periodo de 2016 (Gestión, 2017).

La palta se exporta fresca y procesada, como pasta, congelada, aceite de palta, entre otros. La palta congelada, cada año, presenta un incremento remarcable en la demanda, pues el precio de este producto puede llegar a diferenciarse del fresco en un 50%, por lo que representa una alternativa interesante para el consumidor (AgroForum.pe, 2016).

Sin embargo, su vida útil es determinada por el deterioro microbiano y los procesos oxidativos. La mayoría de cambios de calidad observados a lo largo del almacenamiento de pulpa de palta, son el resultado de la oxidación de lípidos y pardeamiento enzimático; este último, catalizado por la enzima polifenoloxidasas, que afecta a la preservación del color de la pulpa de palta. Esta enzima, que contiene cobre, en presencia de oxígeno, cataliza la oxidación de sustratos fenólicos en quinonas; estos, a su vez,

son polimerizados a pigmentos marrón, rojo o negro (Aguiló-Aguayo y otros, 2014).

La medición de la intensidad del pardeamiento es esencial para evaluar la efectividad de los procesos utilizados para obtener los alimentos con apariencia similar a los frescos y también para determinar su vida útil. Varios métodos han sido utilizados en la inhibición de la actividad de la PPO de frutas y verduras: exclusión de oxígeno, adición de productos químicos, ajuste de pH, entre otros. Ácidos orgánicos tales como málico, fosfórico, tartárico, cítrico y ascórbico pueden actuar como inhibidores de la actividad PPO debido a una disminución del pH y la quelación del cobre en el grupo prostético de la PPO. El sulfito también es usado en alimentos procesados como un agente antimicrobiano, un inhibidor de las reacciones enzimáticas y pardeamiento no enzimático y un agente de blanqueo. La mayor efectividad del sulfito es debido al hecho de que no sólo inhibe la PPO directamente, pero también se combina con o-quinona, la prevención de la formación de melanina (Hernández y Briceño, 2009).

Tradicionalmente, el pardeamiento enzimático, como actividad de la polifenoloxidasas, ha sido cuantificado utilizando índices bioquímicos (Hosoda et al., 2005). Sin embargo, también se han empleado indicadores físicos basados en espacio de color, el sistema CIEL*a*b*, empleándose especialmente el valor L*, como indicador de pardeamiento en frutas (Quevedo y otros, 2009).

Es por lo anteriormente expuesto, que se plantea la posibilidad de medir el pardeamiento enzimático en palta en trozos congeladas tratadas con soluciones a diferentes concentraciones de ácido cítrico y ácido ascórbico, para mantener su color durante 2 horas después del descongelado, a una temperatura de 20 °C (SAVSA, 2015).

El problema planteado para esta investigación fue:

¿Cuál será el efecto de la concentración de ácido cítrico y ácido ascórbico en el pH, índice de pardeamiento y aceptabilidad sensorial del color y sabor en palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada?

Los objetivos propuestos para la presente investigación fueron los siguientes:

Evaluar el efecto de la concentración de ácido cítrico y ácido ascórbico en el pH, índice de pardeamiento y aceptabilidad sensorial del color y sabor en palta en cubos congelada.

Determinar la concentración de ácido cítrico y ácido ascórbico que permita optimizar los valores de pH, índice de pardeamiento y aceptabilidad sensorial del color y sabor en palta en cubos congelada.

II. REVISION DE BIBLIOGRAFÍA

2.1. Palta

2.1.1. Descripción

La palta (*Persea americana* Mill), es una fruta de climática subtropical que generalmente, tiene forma oblonga y de piel verde, aunque la variedad Hass, madura, su piel es de color a morado-negro. Es una de las pocas frutas que contienen cantidades significativas de aceite con alta concentración de ácidos grasos monoinsaturados (Yahia, 2011).

La palta se consume como fruta fresca, además de su uso en las industrias de aceite, cosmética, jabón y champú. A diferencia de muchas frutas que suelen tener un sabor dulce o ácido, la palta tiene una consistencia suave, mantecosa y un rico sabor. Su uso principal es en ensaladas, pero también se transforman en guacamole. El aceite extraído de la palta se puede utilizar para cocinar, preparación de ensaladas, salsas y marinados (Yahia, 2011).

2.1.2. Propiedades nutricionales de la palta

La palta es conocida por su alto contenido nutricional y sus beneficios para la salud, que se deben esencialmente a la fuente de nutrientes liposolubles o fitoquímicos. La pulpa de palta contiene fibra insoluble y soluble (70 y 30%, respectivamente), así como azúcares, pigmentos, taninos, polifenoles y fitoestrógenos (Araújo y otros, 2018).

Se ha informado que la composición nutricional de la pulpa de palta tiene una humedad entre 67 a 78%, contenido de lípidos desde 12 a 24%, carbohidratos del 0,8 al 4,8%, proteínas del 1,0 al 3,0%, cenizas entre 0,8 y 1,5%, fibra entre 1,4 y 3,0% y energía entre 140 y 228 kcal por palta. Sin embargo, la composición de la palta o de cualquier otra fruta depende de la variedad, el grado de maduración, clima, composición del suelo y fertilizantes empleados durante su cultivo (Araújo y otros, 2018).

2.1.3. Producción de palta en La Libertad

La Libertad, es la primera región productora de palta en el Perú, con una producción anual de 97,470 toneladas en el 2015, que constituye el 29% del total nacional. La exportación de palta en el 2014 alcanzó los 308 millones de dólares, lo que significó un crecimiento de 66,2 por ciento con respecto al 2013, según la Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria del Ministerio de Agricultura y Riego (Minagri). De esta manera, el Perú se consolidó como el segundo exportador mundial de paltas, pues superó a Chile, Sudáfrica y Estados Unidos (Sierra Exportadora, 2016).

2.2. Congelación de alimentos

2.2.1. Definición

La congelación es una operación unitaria que está destinada a conservar los alimentos sin causar cambios significativos en su calidad sensorial o valor nutricional. Implica una reducción en la temperatura de un alimento por debajo de su punto de congelación, utilizando ya sea un sistema mecánico o criogénico (Fellows, 2013).

Está comprobado que numerosos cristales de hielo pueden ser formados durante el proceso de congelación. La formación de núcleos de hielo es el proceso precursor de la cristalización. El tamaño del cristal de hielo depende del número de núcleos formado y es directamente proporcional al grado de sobre enfriamiento logrado en la muestra antes de la nucleación y la tasa de crecimiento del cristal posterior (Otero y Sanz, 2012); (Otero y Sanz, 2006).

El grado de sobre enfriamiento alcanzado antes de la nucleación es un factor importante en la dinámica de un proceso de congelación debido a que la tasa de núcleos formación depende de ello (Otero y Sanz, 2012). Por cada grado de sobre enfriamiento, la tasa de nucleación de hielo es casi 10 veces mayor. Una vez que el sobre

enfriamiento cesa, se produce una transición de fase casi instantáneamente en toda la zona sobre enfriada. Posteriormente, se produce la cristalización durante la cual la temperatura sube rápidamente a la temperatura de congelación debido a la liberación del calor latente (Fernández y otros, 2006).

2.2.2. Congelación por lecho fluidizado

La tecnología de las hortalizas congeladas permite una larga conservación de los productos a una temperatura muy baja (-18 °C).

La gama de hortalizas congeladas está muy diversificada y proporciona productos fácilmente utilizables y seguros en su empleo. Las principales etapas en la elaboración de las frutas y hortalizas congeladas son: preparación, escaldado, congelación y almacenamiento (Tirilly y Bourgeois, 2001).

Esta técnica conocida como IQF (Individual Quick Freezer) permite congelar cada unidad individualmente. En estos equipos, el aire atraviesa una capa de producto, en circuito cerrado, de abajo hacia arriba, con una velocidad suficiente para mantener el producto en suspensión, quedando toda la superficie del vegetal en contacto con el aire. Esta técnica tiene la ventaja de evitar la formación de un lecho compacto en el que los productos pueden aglomerarse (Tirilly y Bourgeois, 2001).

Las corrientes de aire presentan coeficientes convectivos más elevados que en otros congeladores por aire (30 – 60 W/m² °C). Al estar limitado el tamaño de las partículas, estos equipos se utilizan para arvejas, judías verdes y vegetales en trozos. Para productos de mayor tamaño, que presentan la tendencia a aglomerarse, existen equipos en los que el aire pasa a través de un tambor giratorio y perforado. El producto que avanza con la ayuda de un tornillo de Arquímedes, se congela individualmente (brócoli, coliflor, entre otros) (Tirilly y Bourgeois, 2001).

2.3. Pardeamiento enzimático

2.3.1. Generalidades

Pardeamiento enzimático es un fenómeno que se produce en muchas frutas y verduras, como las patatas, setas, manzanas y plátanos, cuando se lastima el tejido, corta, pela o se expone a condiciones anormales, y se caracteriza por un oscurecimiento rápido al exponerse al aire como resultado de la conversión de compuestos fenólicos a melaninas marrones (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

La nomenclatura internacional de las enzimas implicadas en la reacción de pardeamiento ha cambiado. La primera enzima, monooxigenasa monofenol o tirosinasa (EC 1.14.18.1), inicia la reacción de pardeamiento, que más tarde se involucra a la difenol oxidasa o catecol oxidasa (EC 1.10.3.2) y lacasa (EC 1.10.3.1). La catecolasa oxidasa se denomina en la actualidad como polifenoloxidasa (PPO). Esta enzima requiere la presencia de un grupo prostético de cobre y oxígeno. La PPO se clasifica como una oxidoreductasa, con el oxígeno como el aceptor de hidrógeno. La enzima está ampliamente distribuida en plantas superiores, hongos y tejido animal (Mayer, 2006).

2.3.2. Factores que condicionan el pardeamiento enzimático

Existe gran heterogeneidad en los resultados de las publicaciones referentes a parámetros que afectan a la actividad enzimática de la polifenoloxidasa (pH óptimo, latencia, especificidad por el substrato, etc.) entre especies y dentro de la misma especie, entre variedades y diferentes estados de desarrollo (la actividad enzimática es más elevada en frutos jóvenes que en los maduros), aunque la causa de estas diferencias pueda deberse exclusivamente a los diferentes resultados de la extracción y purificación de la polifenoloxidasa, cuya metodología no ha sido muy homogénea (Eskin y Shahidi, 2012).

Las posibles vías bioquímicas de pardeamiento que comprenden la degradación de o-quinonas dependen del pH, el fenol implicado, la concentración relativa de reactivos y la cantidad de oxígeno disponible. Se ha publicado frecuentemente que el pH óptimo para la actuación de la enzima comprende valores entre 5.0 y 7.0, mientras que en arándanos se ha estimado que este pH óptimo ronda un valor de 4.0. Nilo (2006) afirma que generalmente las polifenoloxidasas procedentes de varias fuentes son inactivadas a valores de pH inferiores a 4. El factor pH es determinante en el pardeamiento enzimático. La intensidad del color resultante del oscurecimiento varía ampliamente dependiendo del fenol precursor y de las condiciones químicas ambientales, entre ellas el pH. Así para las quinonas derivadas del 4 metilcatecol pueden observarse varias vías de reacción. A pH ácido, tras la hidroxilación, siguen oxidaciones acopladas con otra o-quinona y se regenera el metilcatecol de partida. Sin embargo, con valores de pH más altos se favorecen las reacciones de polimerización y con ellas, lógicamente, los colores oscuros, pardos. Por otro lado, la eficiencia de los antipardeantes depende estrechamente del pH (Eskin y Shahidi, 2012).

2.3.3. Polifenoloxidasa

La polifenoloxidasa se denomina tirosina, fenolasa, catecol oxidasa, cresolasa o catecolasa, dependiendo del sustrato que se use en el ensayo o que se encuentre en mayor concentración en la planta que sirva de fuente a la enzima. Esta enzima se encuentra en mayor concentración en las plantas animales y en algunos microorganismos, especialmente en los hongos. La polifenoloxidasa del plátano, manzana, pera, etc., también poseen una actividad hidroxilante. Las polifenoloxidasas son metaloenzimas conteniendo un 0.2% de cobre, elemento que se puede separar por diálisis mediante el ácido etil-diamino, tetra-acético (EDTA). La cinética de la reacción se estudia midiendo la absorbancia de la quinona.

La reacción se inhibe por un exceso de producto final (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

2.3.4. Mecanismos de reacción de la polifenoloxidasas (PFO)

La PPO cataliza dos reacciones, la hidroxilación de monofenoles a o-dihidroxifenoles y la oxidación de o-dihidroxifenoles a o-quinonas. Ambas reacciones utilizan oxígeno molecular como un co-sustrato. Todavía es incierto si un solo sistema enzimático exhibe actividades mono y difenol oxidasa; sin embargo, cuando ambas están presentes en las plantas, la proporción de la actividad monofenol a difenoloxidasas es normalmente de 1:10 (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

La estructura del producto químico resultante con respecto a la actividad PPO, cuando la velocidad de reacción está en un máximo, parece corresponder a la estructura o-dihidroxi, evidente en compuestos tales como catecol, ácido cafeico y las catequinas. La oxidación de o-difenoles a las correspondientes quinonas es una reacción general, independientemente de la estructura del material vegetal. Actúan más lentamente en sustratos monofenoles, ya que han de ser hidroxilados antes de su oxidación al correspondiente a o-quinonas. La hidroxilación de monofenoles y la oxidación de difenoles son dos acciones enzimáticas distintas y separables; sin embargo parece que una misma enzima puede catalizar, frecuentemente ambas reacciones (Gawlik-Dziki y otros, 2008).

2.3.5. Métodos estabilizantes del pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático se puede controlar a través del uso de métodos físicos y químicos, y, en la mayoría de los casos, se emplean ambos para lograr una mayor eficacia.

A. Exclusión de oxígeno

El método más simple de controlar el pardeamiento enzimático es por inmersión del producto pelado, tales como patata, en

agua antes de la cocción. Recientemente, atmósferas modificadas también se han utilizado para prevenir el pardeamiento enzimático. El pardeamiento es una reacción oxidativa y puede ser retardada por la eliminación de oxígeno de la superficie de las verduras cortadas. El envasado en atmósfera modificada tiene el potencial de extender la vida útil de frutas y verduras, principalmente mediante la limitación de los procesos de oxidación (Limbo y Piergiovanni, 2006).

B. Inhibidores químicos de la polifenoloxidasas

Diferentes compuestos pueden controlar el pardeamiento enzimático y se clasifican, basado en el mecanismo de inhibición, como agentes reductores, agentes quelantes, acidulantes, inhibidores de la enzima, tratamientos enzimáticos y agentes complejantes (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

La PPO es un metaloproteína, en la que el cobre es el grupo prostético, y es inhibida por una variedad de agentes quelantes, incluyendo dietilditiocarbamato de sodio (DIECA), ázida de sodio, etilxantato de potasio, y etilendiaminotetraacetato (EDTA). Mientras que la ázida de sodio y EDTA inhiben PPO, parecen ser los quelantes menos específicos que DIECA o etilxantato potasio (Aydemir, 2004) (Gawlik-Dziki y otros, 2008) (Gao y otros, 2009).

Los sulfitos son inhibidores fuertes y se han utilizado durante mucho tiempo en la industria alimentaria. Sin embargo, un exceso de sulfito en las formaciones puede causar reacciones adversas, principalmente en las personas asmáticas. Desde que se informó por la 51^a Reunión del Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios que la ingesta de sulfitos podría estar por encima de los límites de seguridad, no se recomienda su uso como aditivos alimentarios (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

Investigadores han realizado estudios para encontrar potentes agentes anti pardeamiento que no causan daño al organismo. La

L-cisteína ha demostrado ser un inhibidor eficaz de PPO actuando como un acoplante de quinonas, así como un agente reductor. Reacciona con productos intermedios de o-quinona para producir productos incoloros y estables. Sin embargo, las concentraciones eficaces de cisteína producen un olor indeseable, lo que limita su uso en la elaboración de alimentos (Valente-Mezquita y Quiroz, 2013).

La aplicación de ácidos para controlar el pardeamiento enzimático es muy utilizada. Los ácidos empleados son los encontrados naturalmente en tejidos de plantas, incluyendo cítrico, málico, fosfórico y ácido ascórbico. Este método se basa en el hecho de que bajar el pH del tejido reduce o retarda el desarrollo de pardeamiento enzimático. El pH óptimo de la mayoría PPO se encuentra entre pH 4.0 y 7.0, con poca actividad por debajo de pH 3.0. Se ha examinado el efecto del pH sobre el desarrollo de las melaninas durante el pardeamiento enzimático. Aunque, la reacción inicial que implica la formación de quinona es catalizada por enzimas, la polimerización de estas quinonas a melaninas marrones, es esencialmente no-enzimática (Valente-Mezquita y Quiroz, 2013).

El ácido cítrico se ha utilizado en combinación con ácido ascórbico o sulfito de sodio como un inhibidor de la química del pardeamiento enzimático (Limbo y Piergiovanni, 2006) (Queiroz y otros, 2011). Frutas o verduras cortadas a menudo se sumergen en soluciones diluidas de estos ácidos justo antes de su procesamiento. Esto es particularmente importante en el caso de las frutas que pelan con solución de soda caustica, donde la inmersión en solución ácida contrarresta el efecto que cualquier residuo de soda podría tener sobre el pardeamiento enzimático. El ácido cítrico también inhibe la PPO por su acción quelante de la fracción de cobre de la enzima. En comparación con el ácido cítrico, sin embargo, el ácido málico, el ácido principal en el zumo de manzana, es un inhibidor mucho más eficaz de pardeamiento enzimático (Valente-Mezquita y Quiroz, 2013).

Un inhibidor particularmente eficaz de PPO es el ácido ascórbico. No tiene un sabor detectable a nivel utilizado para inhibir esta enzima, ni tiene una acción corrosiva sobre los metales. Esta vitamina actúa como un antioxidante debido a que reduce la quinona antes de que se someta a reacciones secundarias que conducen a un oscurecimiento, y también baja el pH disminuyendo la actividad de la enzima. El ácido ascórbico puede inhibir la enzima por la disminución de pH y actuar como un antioxidante. Por lo tanto, se reduce quinonas a difenoles, revirtiendo la reacción y la disminución de pigmentos marrones (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

El cloruro de sodio es un agente oxidante fuerte que puede generar dióxido de cloro bajo condiciones ácidas. Por debajo de los valores de pH de aproximadamente 5 se observa un efecto inhibitorio fuertemente dependiente del pH y aumenta el grado de inhibición con la acidez del medio de reacción. Por el contrario, un efecto de activación se observó a valores de pH más altos (Fan y otros, 2005). Severini y otros (2003) evaluaron el efecto del cloruro de sodio en la prevención del pardeamiento enzimático en papas en rodajas y observó que todos los tratamientos considerados permitieron la inactivación de la PPO. Con respecto al color, el uso de cloruro de calcio, a bajas concentraciones, parecería mejor que el uso de cloruro de sodio (Eskin y Shahidi, 2012).

C. Procesamiento térmico

El tratamiento térmico es el método más ampliamente utilizado para la estabilización de los alimentos debido a su capacidad para destruir los microorganismos y para inactivar enzimas. El escaldado es el método más común utilizado para inactivar enzimas vegetales. Esto causa la desnaturalización y por lo tanto la inactivación de las enzimas, sino también causa la destrucción de nutrientes termo sensibles, y rara vez se utiliza para las frutas blandas porque da lugar a pérdidas en vitaminas,

sabor, color, textura, carbohidratos, y otros componentes solubles en agua (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

D. Congelación

Discusiones recientes han atribuido la inactivación de la enzima durante la congelación a la influencia de la remoción del agua. La remoción del agua durante el congelamiento causa cambios que eventualmente producen una alteración del microambiente de la enzima, de manera similar a la deshidratación. Como con la inactivación a altas temperaturas tiene sus desventajas, el tratamiento a bajas temperaturas también. El congelamiento causa cambios en la textura y otras características de frescura, estos cambios generalmente son más notorios cuando el método de congelación es lento (congelado por placas), a diferencia de los métodos de congelación rápida que dañan menos la textura de los alimentos (congelado IQF y por Nitrógeno líquido). El congelamiento también puede conducir a la separación de ciertas enzimas, sustratos, y/o activadores como resultado de la ruptura celular, que de esta manera facilita la inactividad enzimática en estado congelado, que es reforzado al descongelar los alimentos (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

E. Alta presión hidrostática

Alta Presión Hidrostática (APH) es un tratamiento de productos hortofrutícolas alternativo a la pasteurización y nos da la oportunidad de producir alimentos de alta calidad, con mayor seguridad y mayor vida útil, reduce los recuentos microbianos e inactiva las enzimas (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

F. Irradiación gamma

La irradiación es un tratamiento físico que implica la exposición directa a los electrones o rayos electromagnéticos, para la conservación de alimentos y la mejora de la seguridad y la calidad. Por estas razones, puede ser utilizado para extender la vida útil de frutas y vegetales. La irradiación inactiva microorganismos, lo que garantiza la

desinfección y retrasar el proceso de maduración y senescencia. Además, se ha reportado la retención de ácido ascórbico y la síntesis de los polifenoles durante el almacenamiento de los alimentos irradiados (Zhang y otros, 2006).

El uso de la irradiación en combinación con otros métodos, o inhibidores químicos antipardecimiento, puede dar lugar a productos que son microbiológicamente seguro y de alta calidad (Fan y otros, 2005).

G. Campo Eléctrico Pulsado

Campo Eléctrico Pulsado (PEF) es una tecnología de conservación de los alimentos no térmico, que se utiliza como una alternativa a otras técnicas convencionales, que consiste en introducir el alimento en una cámara que contiene dos electrodos que se aplican de alto voltaje (kV 20-80) por un corto tiempo (microsegundos) (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

Esta tecnología de procesamiento de alimentos emergente está siendo investigada debido a su capacidad para inactivar microorganismos indeseables y enzimas, con aumento limitado de temperatura de los alimentos. El PEF aplicado a los alimentos provoca la electroporación, es decir, la pérdida irreversible de la funcionalidad de la membrana celular, lo que lleva a la inactivación de la célula microbiana y también induce cambios en la estructura secundaria de algunas enzimas (Valente-Mezquita y Quieroz, 2013).

2.4. Medición del color

El aspecto y el color de la superficie del alimento es el primer parámetro de calidad evaluado por los consumidores y se utiliza como una herramienta de aceptar o rechazar los alimentos. La observación del color de este modo permite la detección de ciertas anomalías o defectos que los alimentos puedan presentar (León y otros, 2006).

La determinación del color puede ser llevada a cabo por inspección visual (humana) o mediante el uso de un instrumento de medición de color. Aunque la inspección humana es bastante robusta, incluso en presencia de cambios en la iluminación, la determinación del color es en este caso, subjetiva y muy variable. Para llevar a cabo un análisis de color más objetivo, se utilizan estándares de color a menudo como material de referencia. Desafortunadamente, su uso implica una inspección más lenta y requiere capacitación especializada de los observadores. Por estas razones, es recomendable determinar el color a través del uso de un instrumento de medición del color (León y otros, 2006).

2.4.1. Espacios de color

En la actualidad, se utilizan espacios de color y valores numéricos para crear, representar y visualizar los colores en dos y tres espacios tridimensionales. Generalmente, el color de los alimentos se mide en $L^* a^* b^*$. Los valores de $L^* a^* b^*$, o espacio de color CIELab, es una norma internacional para medidas de color, adoptado por la Comisión Internacional d'Eclairage (CIE) en 1976. L^* es la luminancia o componente de luminosidad, que va de 0 a 100, y parámetros a^* (de verde a rojo) y b^* (de azul a amarillo) son los dos componentes cromáticos, que van desde -120 a 120. El espacio $L^*a^*b^*$ es uniforme perceptualmente, es decir, la distancia euclídea entre dos colores diferentes corresponde aproximadamente a la diferencia de color percibida por el ojo humano (Yam y Papadakis, 2004).

2.4.2. Equipos de medición del color

Los colorímetros tales como: (i) colorímetro Minolta; (ii) colorímetro Hunter Lab y (iii) Colorímetros Dr. Lange son algunos de los instrumentos más utilizados en la medición de color (León y otros, 2006).

2.5. Superficie de respuesta

La Metodología de Superficie de Respuesta (MSR), fue introducida por Box y Wilson y es una colección de técnicas que permite al investigador inspeccionar una respuesta, que se puede mostrar como una superficie, cuando los experimentos investigan el efecto que tiene el variar factores cuantitativos en los valores que toma una variable dependiente o respuesta; ejemplo de esto puede ser estudiar cómo los valores de temperatura y presión afectan la velocidad de una reacción química y tratar de encontrar los valores que optimicen esta respuesta. Esto es, se trata de encontrar los valores óptimos para las variables independientes que maximizan, minimizan o cumplen ciertas restricciones en la variable respuesta (Montgomery, 2011).

En la fase inicial del estudio de una superficie de respuesta se trata de identificar la región de respuesta óptima y para ello se utilizan experimentos factoriales completos 2^k o fraccionarios $2^k - p$, con el fin de estimar las respuestas medias para un modelo lineal o de primer orden. Se recomienda generalmente agregar dos o más observaciones en el nivel medio de cada uno de los factores para estimar el error experimental y tener un mecanismo de evaluación para saber si el modelo lineal es apropiado (Montgomery, 2011).

Ya identificada la región de respuesta óptima, los diseños factoriales completos o fraccionarios a dos niveles no son suficientes, pues se requieren al menos tres niveles para cada factor y el diseño debe de tener $1 + 2k + k(k-1)/2$ puntos distintos para estimar los parámetros de un modelo de regresión cuadrática. Sin embargo utilizar factoriales 3^k requiere un número de combinaciones de tratamientos poco práctico, pues si se tienen $k = 2$ factores se necesitarían 9 combinaciones de tratamientos y agregar un factor más, esto es, tener un diseño factorial 3^3 requiere 27 combinaciones de tratamientos (Montgomery, 2011).

Existen varias clases de diseños desarrollados para la aproximación a una superficie de segundo orden, que no requieren tantas combinaciones de tratamientos como los diseños factoriales 3^k y donde cada uno de ellos posee ciertas características y propiedades. Entre estos están los diseños centrales compuestos propuestos por Box y Wilson (1951), que no crecen tanto como los diseños factoriales 3^k , y los diseños Box-Behnken. Para comprender los diseños centrales compuestos, hay que aclarar que los factores generalmente se codifican, pues es más sencillo trabajar con los niveles de factores codificados pues proporcionan un marco de trabajo uniforme para investigar los efectos de los factores (Montgomery, 2011).

Dependiendo de la elección del factor de rotabilidad " α " en los puntos axiales, el diseño central compuesto puede tener diferentes propiedades como ortogonalidad, rotabilidad y uniformidad.

Consideraremos solamente una propiedad deseable en estos diseños consistente en que la varianza de los valores estimados sea constante en puntos equidistantes del centro del diseño. Esta propiedad llamada rotabilidad se logra estableciendo α según la ecuación 1.

$$\alpha = \left(2^k\right)^{1/4} \quad (1)$$

Donde:

α = Factor de rotabilidad

k = Número de variables independientes

Algunos de estos valores de α se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Valores de α

k	2	3	4	5	6
α	$\pm 1,4142$	$\pm 1,6818$	$\pm 2,0000$	$\pm 2,3784$	$\pm 2,8284$

Fuente: Rodriguez y lemma (2005).

Los diseños centrales compuestos son diseños de tratamientos factoriales 2^k con $2k$ combinaciones adicionales llamadas puntos axiales y n_c puntos centrales. Este diseño consiste en un factorial o factorial fraccionado 2^k donde los factores son codificados de tal manera que el centro sea $(0, 0, \dots, 0)$ aumentando por 2^k puntos axiales $(\pm\alpha, 0, 0, \dots, 0)$, $(0, \pm\alpha, 0, \dots, 0)$, $(0, 0, \dots, \pm\alpha)$ y n_c puntos centrales $(0, 0, \dots, 0)$.

Otra propiedad útil del diseño es que puede crecer a partir de un diseño 2^k de primer orden, agregando puntos axiales y quizás algunos puntos centrales. Con la elección del número de puntos centrales (n_c), el diseño puede hacerse ortogonal o transformarse en uno de precisión uniforme (Montgomery, 2011).

En la actualidad hay varios paquetes estadísticos para analizar superficies de respuesta, algunos de estos específicamente diseñados para ello. Utilizando la MSR se buscan las condiciones óptimas de un proceso, es decir las más deseables. Generalmente el investigador está interesado en los factores que pueden influenciar la variable respuesta en un determinado problema. Cada factor tendrá un número de niveles (que son el rango de valores en los cuales variará el factor). Cuando esos niveles se combinan para todos los factores que afectan la variable, se tendrá el número total de combinaciones de nivel (Reyes y otros, 2005).

Las superficies de respuesta son representadas matemáticamente por funciones de regresión. Sin embargo, como estas funciones pueden ser desconocidas o muy complejas, es necesario aproximarlas mediante funciones empíricas más simples, tales como polinomios de segundo orden. Un ejemplo de modelo para cuando existen dos variables se presenta en la ecuación 2.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad (2)$$

Donde:

β_0 = Término independiente (Intercepto)

β_1, β_2 , = Coeficientes de regresión que indican la importancia relativa del factor (mide los efectos lineales)

β_{11}, β_{22} , = Coeficientes de regresión que indican la importancia relativa del factor (mide los efectos cuadráticos)

β_{12} = Coeficientes de regresión que indican la importancia relativa del factor (mide los efectos combinados o de interacción de los factores)

y = respuesta ajustada.

(Reyes y otros, 2005).

Frecuentemente, se consideran valores experimentales para obtener expresiones empíricas a partir de análisis de regresión. Los ajustes son modelos empíricos sencillos, válidos solamente para las condiciones experimentales a partir de las que se obtuvo el modelo, lo que significa que se requiere una expresión para cada conjunto de datos experimentales a unas condiciones dadas. Uno de estos modelos es el Diseño Central Compuesto Rotacional (Reyes y otros, 2005).

2.6. Evaluación sensorial

El análisis sensorial es definido como el método experimental mediante el cual los jueces perciben y califican, caracterizando y/o midiendo las propiedades sensoriales de muestras adecuadamente presentadas, bajo condiciones ambientales pre-establecidas y bajo un patrón de evaluación acorde al posterior análisis estadístico (Ramírez-Navas, 2012).

Cuando se trabaja con un elevado número de muestras en evaluación sensorial, se recomienda trabajar con un diseño de bloques incompletos balanceados. En este caso la prueba de Durbin es una alternativa a la prueba de Friedman para el caso en que un estudio ha sido construido utilizando un diseño de bloques incompletos balanceados, sabiendo que la

prueba de Friedman requiere un diseño de bloques completos (XLSTAT, 2018).

Un diseño de bloques es un diseño en el que se estudia la influencia de dos factores en uno o más fenómenos. Sabemos que uno de los factores tiene un impacto que no podemos controlar, pero eso no es de interés. Así que queremos asegurarnos de que este factor no perturbe el análisis que llevamos a cabo una vez recogidos los datos. Para ello nos aseguramos de que los distintos niveles de otros factores están bien representados en cada bloque. El factor de bloqueo puede corresponder a los jueces que evalúan los productos, y el factor de interés sería entonces los productos que están siendo estudiados (XLSTAT, 2018).

En un diseño de bloques incompletos, todos los niveles de los factores de interés no están presentes en todos los niveles del factor de bloqueo. Es balanceado si todos los niveles del factor de interés están presentes un mismo número de veces en el diseño, y si cada par de niveles de cada factor está presente el mismo número de veces (XLSTAT, 2018).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Aseguramiento de calidad de la empresa Virú S.A. y en el Laboratorio de Ciencia de Alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Privada Antenor Orrego.

3.2. Materiales y equipos

Palta, variedad Fuerte, procedentes de la provincia de Virú, departamento de La Libertad.

Bisulfito de sodio. Marca Merck

Balanza analítica. Marca AND, modelo GR-200, Capac. 210 g aprox. 0.0001 g.

Cubicadora automatizada. Marca URSHEL DiversaCut 2110A™.

Túnel de congelación de lecho fluidizado (IQF) 9254 Tunnell Freezer Coil.MB-MT-2814-114-0.75/15/3ARW.

Envasadora al vacío MULTIVAC Sepp Haggemuller GmbH & Co. KG Bahnhofstr.4 Germany, modelo C550 (0.2-2 % O2 residual)

Refrigeradora. Marca Bosh. Modelo Frost 44. Rango 0-8 °C. Precisión ± 2 °C.

pHmetro. Marca METTLER TOLEDO. Rango de 0-14, sensibilidad aprox. 0.01.

Colorímetro Kónica-Minolta modelo CR-400.

Termómetro digital. Marca Multidigital. Rango -10 a 100. Precisión ± 0.1 °C.

3.3. Método experimental de la investigación en palta congelada

3.3.1. Esquema experimental de la investigación en palta congelada

Se empleó un modelo estadístico factorial completo 2^2 , además de un diseño experimental central compuesto rotacional con dos variables independientes, cuyo modelo general se muestra en la ecuación 3.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (3)$$

$$\text{IV. } i=1, 2, 3 \quad j=1, 2, 3$$

El diseño factorial completo con dos variables independientes incluyó 2^2 ensayos, 4 puntos axiales y 4 repeticiones en el punto central, totalizando 12 ensayos. En el Cuadro 2 se muestran los valores de las variables utilizadas en este experimento obtenidos para un α de ± 1.41 .

Cuadro 2. Valores utilizados en DCCR para las dos variables seleccionadas

Variables	-1.41	-1	0	+1	+1.41
(x ₁) = porcentaje de ácido cítrico	0.29	0.50	1.00	1.50	1.71
(x ₂) = porcentaje de ácido ascórbico	1.79	2.20	3.20	4.20	4.61

Siendo las variables independientes: porcentaje de ácido cítrico (x₁) y porcentaje de ácido ascórbico (x₂); y las variables dependientes son pH (y₁), índice de pardeamiento (y₂) y aceptabilidad general (y₃).

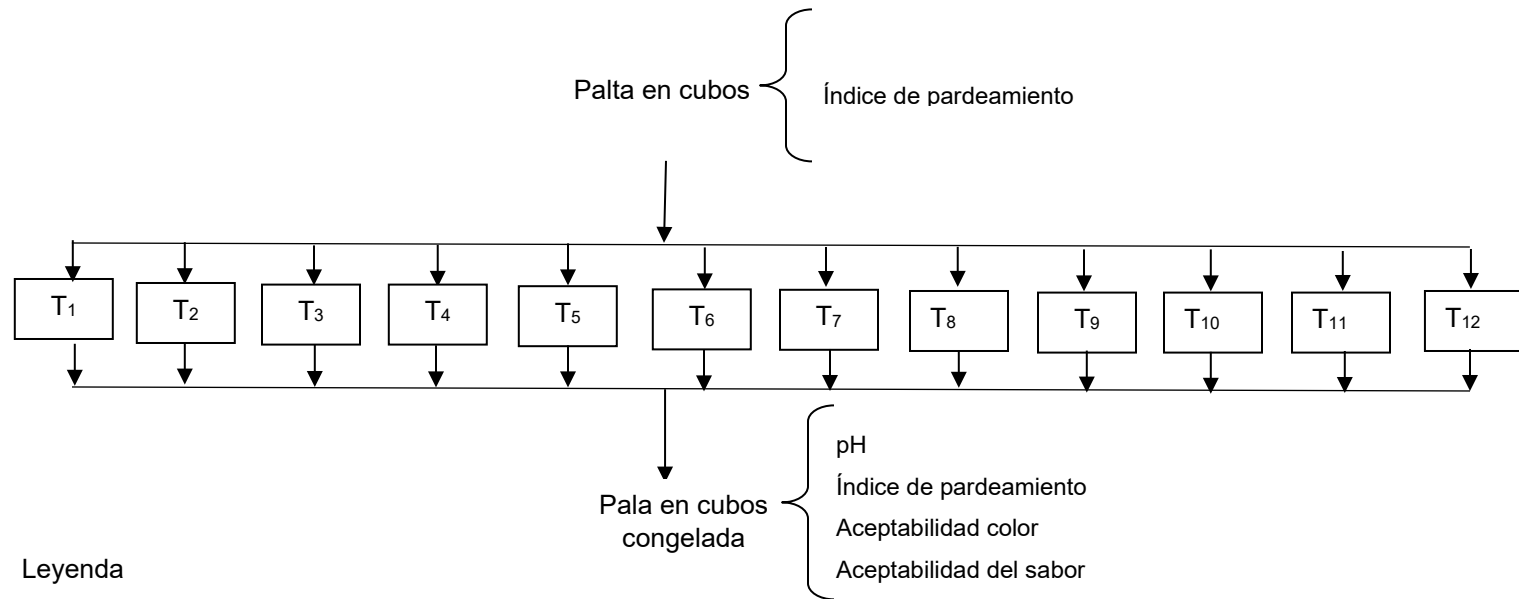
Los valores observados en el Cuadro 2 fueron utilizados para construir el diseño del experimento generado por el software estadístico

Design-Expert® versión 7.0 y presentado en el Cuadro 3, teniendo como respuesta el pH (Y_1), índice de pardeamiento (Y_2) y aceptabilidad del color (Y_3) y sabor (Y_4) en palta en cubos congelada.

Cuadro 3. Valores codificados y reales de las variables bajo estudio

Ensayos	% ácido cítrico		% ácido ascórbico		Y_1 pH	Y_2 Índice de pardeamiento	Y_3 Aceptabilidad color	Y_4 Aceptabilidad sabor
	Código	Real	Código	Real				
1	-1	0.500	-1	2.200	$Y_{1,1}$	$Y_{2,1}$	$Y_{3,1}$	$Y_{4,1}$
2	+1	1.50	-1	2.20	$Y_{1,2}$	$Y_{2,2}$	$y_{3,2}$	$Y_{4,2}$
3	-1	0.50	+1	4.20	$Y_{1,3}$	$Y_{2,3}$	$Y_{3,3}$	$Y_{4,3}$
4	+1	1.50	+1	4.20	$Y_{1,4}$	$Y_{2,4}$	$Y_{3,4}$	$Y_{4,4}$
5	-1.41	0.29	0.00	3.20	$Y_{1,5}$	$Y_{2,5}$	$Y_{3,5}$	$Y_{4,5}$
6	+1.41	1.71	0.00	3.20	$Y_{1,6}$	$Y_{2,6}$	$Y_{3,6}$	$Y_{4,6}$
7	0.00	1.00	-1.41	1.79	$Y_{1,7}$	$Y_{2,7}$	$Y_{3,7}$	$Y_{4,7}$
8	0.00	1.00	+1.41	4.61	$Y_{1,8}$	$Y_{2,8}$	$Y_{3,8}$	$Y_{4,8}$
9	0.00	1.00	0.00	3.20	$Y_{1,9}$	$Y_{2,9}$	$Y_{3,9}$	$Y_{4,9}$
10	0.00	1.00	0.00	3.20	$Y_{1,10}$	$Y_{2,10}$	$Y_{3,10}$	$Y_{4,10}$
11	0.00	1.00	0.00	3.20	$Y_{1,11}$	$Y_{2,11}$	$Y_{3,11}$	$Y_{4,11}$
12	0.00	1.00	0.00	3.20	$Y_{1,12}$	$Y_{2,12}$	$Y_{3,12}$	$Y_{4,12}$

En la Figura 1 se presenta el esquema experimental para evaluar el efecto la concentración de ácido cítrico, ácido ascórbico en el pH, índice de pardeamiento y aceptabilidad del color y sabor en palta en cubos congelada.



Leyenda:

- t₁: Tratamiento 1: 0.50% AC, 2.20%AA
- t₂: Tratamiento 2: 1.50% AC, 2.20%AA
- t₃: Tratamiento 3: 0.50% AC, 4.20%AA
- t₄: Tratamiento 4: 1.50% AC, 4.20%AA
- t₅: Tratamiento 5: 0.29% AC, 3.20%AA
- t₆: Tratamiento 6: 1.71% AC, 3.20%AA
- t₇: Tratamiento 7: 1.00% AC, 1.79%AA
- t₈: Tratamiento 8: 1.00% AC, 4.61%AA
- t₉: Tratamiento 9: 1.00% AC, 3.20%AA
- t₁₀: Tratamiento 10: 1.00% AC, 3.20%AA
- t₁₁: Tratamiento 10: 1.00% AC, 3.20%AA
- t₁₂: Tratamiento 10: 1.00% AC, 3.20%AA

Figura 1. Esquema experimental para la investigación del efecto de la concentración de ácido cítrico y ácido ascórbico, en el pH, índice de pardeamiento y aceptabilidad del sabor y color en palta en cubos congelada.

3.3.2. Diagrama de flujo para la elaboración de palta en cubos congelada

En la Figura 2, se presenta las operaciones para la elaboración de palta en cubos congelada. A continuación, se describe cada operación presentada en el diagrama de flujo de la Figura 2.

Recepción. Las paltas se recibieron teniendo en cuenta los requisitos de calidad (estar enteras, estar sanas, deberán excluirse los productos afectados por podredumbre o deterioro que hagan que no sean aptos para el consumo, estar limpios, y prácticamente exentos de cualquier materia extraña visible, prácticamente exentos de plagas, y daños causados por ellas, exentos de cualquier olor y/o sabor extraños, tener un pedúnculo de longitud no superior a 10 mm, cortado limpiamente) El peso del fruto se controló entre 165-196 g con un calibre de 22 (Codex Alimentarius, 2005).

Selección. Se seleccionaron paltas sanas y exentas de podredumbre o deterioro, libre de plagas que afecten al aspecto general del producto (Codex Alimentarius, 2005).

Clasificación. El peso de la palta estuvo entre 112-270 g y la textura entre 2-3 lbf (Codex Alimentarius, 2005).

Lavado. Las paltas fueron lavadas por aspersión con agua potable a 22 °C a fin de extraer el material contaminante.

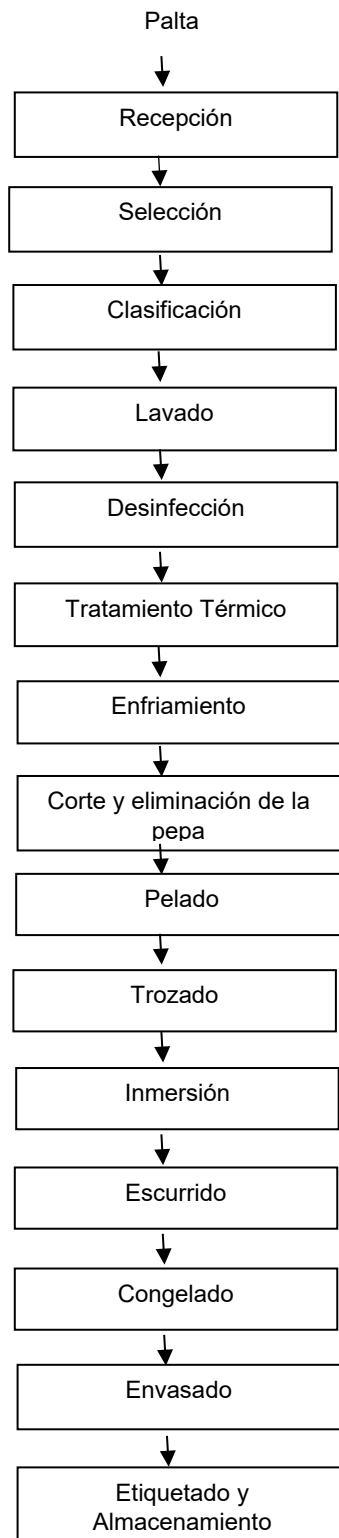


Figura 2. Diagrama de flujo para la elaboración de palta en cubos congelada.

Desinfección. Las paltas fueron sumergidas en una solución de ácido peracético al 15% (Oxonia) a 200 ppm durante 5 min con la finalidad de eliminar la carga microbiana.

Tratamiento térmico. Las paltas fueron sometidas a un tratamiento térmico con inyección de vapor saturado a 110 °C durante 57 segundos con el objetivo de ablandar la cáscara y facilitar la separación de la pulpa y eliminar carga microbiana (*Listeria* sp) a través de un sistema de túnel con faja transportadora.

Enfriamiento. Se realizó un enfriamiento por aspersion con agua a 2-8 °C con la finalidad de evitar la sobre cocción.

Corte y eliminación de la pepa. Las paltas se cortaron longitudinalmente y se procedió a remover la pepa de forma manual.

Pelado. Posteriormente se realizó la separación de la pulpa y la cáscara, en forma manual, con la ayuda de una cuchara plana.

Trozado. Finalizada la separación de la pulpa, se procedió a trozarla en cubos de 1.5 cm de lado en una cubicadora automatizada marca URSHEL DiversaCut 2110A™.

Inmersión. Se realizó la inmersión en solución de ácido cítrico, ácido ascórbico en concentraciones de acuerdo al diseño experimental, por un tiempo de 40 segundos, con el fin de inhibir el pardeamiento enzimático. Se empleó una relación trozos de palta:solución de 1:4.

Ecurrido. Se realizó en una zaranda de acero inoxidable con el objetivo de eliminar el exceso de solución adherida al producto.

Congelado. El congelado se realizó en un túnel de congelación de lecho fluidizado (IQF) a una temperatura de -35 °C.

Envasado y etiquetado. El producto congelado fue envasado en bolsas de polietileno de 0.25 kg de capacidad en una máquina

envasadora al vacío MULTIVAC (0.2-2 % O₂ residual) (SAVSA, 2015) y etiquetado para identificar y diferenciar los tratamientos.

Almacenamiento. El producto fue almacenado en una cámara de congelación a una temperatura de -20 °C por un período de 7 días, hasta su posterior evaluación.

3.3.3. Métodos de análisis

3.3.3.1. Determinación de pH en muestras de palta en cubos

Las muestras de palta fueron descongeladas a una temperatura de 4 °C durante 48 horas, manteniendo el envase cerrado. Después del tiempo indicado se abrió el envase y se procedió a extender el contenido de cada bolsa sobre un recipiente. Después de 2 horas a temperatura ambiente (20 °C), se procedió a realizar la determinación del pH empleando el método potenciométrico según método AOAC 920.43 (AOAC, 2005). Una muestra de 20 g de palta en cubos descongelada, fue triturada y homogenizada en una bolsa de polietileno y posteriormente fue colocada en un vaso de precipitado de 50 mL para realizar la lectura de pH.

3.3.3.2. Índice de pardeamiento

Las muestras de palta fueron descongeladas a una temperatura de 4 °C durante 48 horas, manteniendo el envase cerrado. Después del tiempo indicado se abrió el envase y se procedió a extender el contenido de cada bolsa sobre un recipiente. Después de 2 horas a temperatura ambiente (20 °C) se procedió a realizar la determinación del color. Para tal efecto se utilizó un colorímetro Kónica-Minolta modelo CR-400 para determinar los valores L*. Cuando la variación de las coordenadas de color a* y b* no es significativa, los valores de L* pueden ser utilizados como indicador del Índice de pardeamiento (Gomes y otros, 2014).

3.3.3.3. Aceptabilidad del color y sabor

Después de un periodo de siete días de almacenamiento, las muestras palta descongeladas a 4 °C durante 48 h y colocadas a 20 °C durante 2 h, fueron sometidas a un análisis sensorial para evaluar la aceptabilidad del color y sabor de las muestras correspondientes a los diferentes tratamientos, usando una escala hedónica de 9 puntos, que van desde “Me gusta muchísimo” hasta “Me disgusta muchísimo”. Dos cubos de palta de cinco tratamientos fueron presentadas a cada panelista, utilizando una disposición de números aleatorios y cada uno ellos evaluó cada muestra después de enjuagarse la boca con agua de mesa, cada cinco minutos (Anzaldúa-Morales, 2005).

La ficha de aceptabilidad del color y sabor se muestra en la Figura 3.

Nombre:	Fecha:
Producto: Palta en cubos	
Usted está recibiendo una muestra de palta en cubos descongelada. Después de probar la muestra, por favor, indique utilizando la escala cuanto le gusta o le disgusta el COLOR/SABOR de cubos de palta. Enjuague la boca después de la evaluación y espere 20 segundos antes de probar la siguiente muestra.	
ESCALA	
CODIGO DE MUESTRA
Me gusta muchísimo
Me gusta mucho
Me gusta bastante
Me gusta ligeramente
Ni me gusta ni me disgusta
Me disgusta ligeramente
Me disgusta bastante
Me disgusta mucho
Me disgusta muchísimo
Comentarios _____	
Muchas gracias	

Figura 3. Ficha de evaluación de aceptabilidad del color/sabor de cubos de palta.

Debido a la saturación que podría sufrir el panelista en el análisis sensorial por un excesivo número de evaluaciones, se utilizó un diseño en bloques incompletos balanceados, que fue aplicado a un panel de 33 evaluadores no entrenados. (Anzaldúa-Morales, 2005).

3.4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza para determinar si el modelo cuadrático fue significativo ($p < 0.05$), además de evaluar los coeficientes de determinación R^2 y R^2 ajustado, debiendo ser superiores al 85 y 75%, respectivamente, para cada variable respuesta en estudio. Determinado el modelo, se elaboró las figuras de Superficie de Respuesta y de Contorno para visualizar de una manera global el efecto de los factores. Para aceptabilidad general de color y sabor se usó la prueba de Durbin (al proceder las calificaciones de aceptabilidad de un diseño de bloques incompletos balanceados) y posteriormente la prueba de comparaciones múltiples de Conover para determinar el mejor tratamiento, a un nivel de confiabilidad del 95%, para el procesamiento de datos se utilizó el software Design Expert 7.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en el pH de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada

En el Cuadro 4 se muestra los valores de pH, promedio de tres repeticiones, de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada (Valores en Anexo 1).

Cuadro 4. Valores de pH de palta en cubos congelada

Tratamientos	Factores		Respuestas
	Ácido cítrico (%)	Ácido ascórbico (%)	pH
T1	0.50	2.20	5.46±0.10
T2	1.50	2.20	5.25±0.13
T3	0.50	4.20	5.40±0.10
T4	1.50	4.20	5.21±0.11
T5	0.29	3.20	5.49±0.10
T6	1.71	3.20	5.20±0.12
T7	1.00	1.79	5.34±0.09
T8	1.00	4.61	5.26±0.10
T9	1.00	3.20	5.30±0.10
T10	1.00	3.20	5.30±0.11
T11	1.00	3.20	5.30±0.12
T12	1.00	3.20	5.30±0.22

Tal como se observa, el pH disminuyó a mayor concentración de ácido cítrico y ascórbico. Estos ácidos se utilizan comúnmente para inhibir reacciones de pardeamiento enzimático (He y Luo, 2007).

El ácido cítrico reduce el pH bruscamente, disminuyendo la actividad de la polifenoloxidasas, mientras el ácido ascórbico no ocasiona una reducción drástica del pH, pero por su característica reductora se oxida a

ácido deshidroascórbico protegiendo los compuestos fenólicos (Valente-Mesquita y Queiroz, 2013). El ácido cítrico es uno de los más acidulantes muy utilizados en la industria alimentaria. Se usa a menudo en combinación con otros agentes anti-pardeamiento como ácido ascórbico. El ácido cítrico se aplica normalmente en niveles que van del 0.5% al 2% para la prevención del pardeamiento en productos recién cortados. Además de disminuir el pH, el ácido cítrico también ejerce su efecto inhibitorio sobre la polifenol oxidasa al quelar el cobre en el sitio activo de la enzima (He y Luo, 2007).

El ácido ascórbico (AA) se usa con frecuencia para el control de pardeamiento de los productos alimenticios. Esta vitamina actúa como antioxidante porque reduce la quinona producida antes de que sufra una reacción secundaria que conduce a un pardeamiento y también contribuye a disminuir el pH (Queiroz y otros, 2008).

Las diferencias en el pH óptimo de PPO con varios sustratos fueron reportado por Yoruk y Marshall (2003) variando de 4.0 a 7.0, dependiendo del origen del material, método de extracción y sustrato. Goyeneche y otros (2003) informaron que el pH óptimo de la PPO para rábano fue 7.0. Indican que, la mayoría de las plantas muestran actividad máxima de PPO en o cerca de valores de pH neutros. Sin embargo, para brócoli, el pH óptimo reportado es de 5.72 (Gawlik-Dziki y otros, 2007) y para PPO de uva, así como otras frutas, de 5.0 a 7.0 (Rapeanu y otros, 2006).

En el Cuadro 5 se presenta el análisis de varianza para valores de pH de palta en cubos congelada.

Cuadro 5. Análisis de varianza para valores de pH de palta en cubos congelada

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	p
Modelo	0.091	5	0.018	739.990	0.000
A-Ácido cítrico	0.081	1	0.081	3291.720	0.000
B-Ácido ascórbico	0.006	1	0.006	231.640	0.000
AB	0.000	1	0.000	4.080	0.090
A ²	0.004	1	0.004	171.430	0.000
B ²	0.000	1	0.000	2.550	0.161
Residual	0.000	6	0.000		
Falta de ajuste	0.000	3	0.000	5.620	0.095
Error puro	0.000	3	0.000		
Total	0.091	11			
R ²	0.998	R ² -ajustado		0.997	

Tal como se observa, el modelo cuadrático fue significativo ($p < 0.05$), con valores de coeficiente de determinación R^2 y R^2 -ajustado de 0.998 y 0.997 respectivamente, por lo que este modelo matemático fue seleccionado para representar el comportamiento de la variable en estudio. Adicionalmente, no se evidencia falta de ajuste ($p > 0.05$). Montgomery (2011) menciona que un coeficiente de determinación mayor a 0.85 permite predecir la respuesta de manera adecuada.

En el Cuadro 6, se presenta los coeficientes de la regresión del modelo cuadrático aplicado a valores de pH de palta en cubos congelada. Tal como se observa, los coeficientes estimados en unidades codificadas fueron significativos ($p < 0.05$), con excepción de los componentes correspondiente a las interacciones $A*B$ y B^2 ; sin embargo, se consideraron todos los coeficientes de la regresión para no disminuir la capacidad predictiva del modelo (Montgomery, 2011).

Cuadro 6. Análisis de regresión para valores de pH de palta en cubos congelada

Factor	Coefficiente estimado	Error estándar	t(6)	p
Intercepto	5.300	0.002	2140.549	0.000
A-Ácido cítrico	-0.100	0.002	-57.143	0.000
B-Ácido ascórbico	-0.027	0.002	-15.429	0.000
AB	0.005	0.002	2.019	0.090
A ²	0.026	0.002	13.286	0.000
B ²	0.003	0.002	1.597	0.161

A partir de los coeficientes estimados en unidades codificadas se obtuvo el modelo de regresión en unidades naturales, tal como se muestra en la ecuación 4.

$$pH = 5.753 - 0.438 * A - 0.057 * B + 0.01 * A * B + 0.103A^2 + 0.003 * B^2 \quad (4)$$

En el Cuadro 7 se presenta los valores observados y estimados para valores de pH de muestras de palta en cubos congelada.

Se observa que la variación entre los valores observados y estimados de pH de muestras de palta en cubos congelada, fue menor al 10%. Montgomery (2011) indica que la medición de la variación (%) es una posibilidad para determinar la lejanía entre los valores estimados y observados de la variable respuesta. Si la variación es menor al 10% la estimación de la variable respuesta es considerada como excelente, mayor a 10% y menor a 20% aceptable, mayor a 20% y menor a 30% marginalmente aceptable; y mayor a 30% inaceptable.

Cuadro 7. Valores observados y estimados para pH de muestras de palta en cubos congelada.

Ácido cítrico (%)	Ácido ascórbico (%)	pH			
		Observados	Predichos	Residuos	Desviación (%)
0.50	2.20	5.46	5.46	0.00	0.02
1.50	2.20	5.25	5.25	0.00	0.06
0.50	4.20	5.40	5.40	0.00	0.05
1.50	4.20	5.21	5.21	0.01	0.13
0.29	3.20	5.49	5.49	0.00	0.00
1.71	3.20	5.20	5.21	-0.01	0.11
1.00	1.79	5.34	5.34	0.00	0.01
1.00	4.61	5.26	5.27	-0.01	0.10
1.00	3.20	5.30	5.30	0.00	0.06
1.00	3.20	5.30	5.30	0.00	0.00
1.00	3.20	5.30	5.30	0.00	0.06
1.00	3.20	5.30	5.30	0.00	0.00

El modelo cuadrático fue usado para generar la superficie de respuesta (Figura 4a) y de contornos (Figura 4b) para valores de pH de muestras de palta en cubos congelada. En la superficie de contornos (Figura 4b) se observa que, con la concentración en la solución de ácido cítrico en el rango de 1.36 a 1.71% y ascórbico de 3.91 a 4.62% el pH fue de aproximadamente 5.21. el pH, aproximadamente.

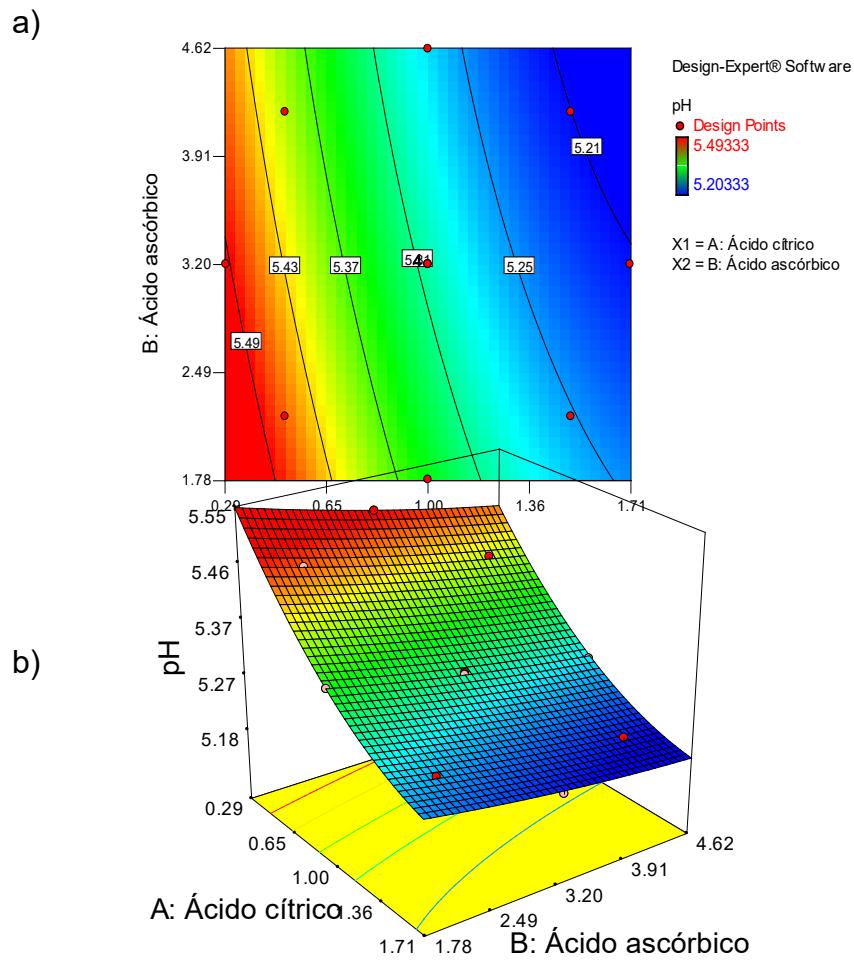


Figura 4. Superficie de respuesta (a) y de contorno (b) para valores de pH de muestras de palta en cubos congelada.

4.2. Efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en el índice de pardeamiento de muestras de palta (*Persea americana Mill*) en cubos congelada

En el Cuadro 8 se presenta valores del índice de pardeamiento de muestras de palta (*Persea americana Mill*) en cubos congelada (Anexo 2).

Cuadro 8. Índice de pardeamiento de muestras de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada

Tratamientos	Factores		Respuesta
	Ácido cítrico (%)	Ácido ascórbico (%)	L*
T1	0.50	2.20	60.68±1.53
T2	1.50	2.20	60.25±2.60
T3	0.50	4.20	61.87±1.59
T4	1.50	4.20	61.29±2.49
T5	0.29	3.20	59.48±2.90
T6	1.71	3.20	61.20±1.55
T7	1.00	1.79	59.89±1.63
T8	1.00	4.61	60.09±1.29
T9	1.00	3.20	65.43±0.42
T10	1.00	3.20	64.18±2.98
T11	1.00	3.20	66.09±4.33
T12	1.00	3.20	65.95±1.00

Tal como se observa, los valores de L* variaron en el rango de 59.48±2.90 (T5: 0.29% AC y 3.20% AA) a 66.09±4.33 (T11: 1.00% AC y 3.20% AA). Cuando las coordenadas de color a* y b* no son afectadas significativamente por la concentración de AC y AA, los valores de L* se pueden usar como indicador del Índice de pardeamiento (Gomes y otros, 2014).

Ibrahim y otros (2004) emplearon ácido ascórbico (1%), metabisulfito de sodio (0.1%) (sulfito), ácido cítrico (0.1%) y ácido acético (0.1%) para inhibir los cambios de color y las propiedades sensoriales de repollo cortado mínimamente procesado durante el almacenamiento a baja temperatura (5 ± 1 °C; 90-95% HR). Encontraron que, a medida que avanzaba el

almacenamiento, había una disminución significativa ($p < 0.05$) de los valores L^* en todos los tratamientos. Los resultados obtenidos en este estudio indicaron que la retención de color fue significativamente mayor ($p < 0.05$) para muestras tratadas con ácido ascórbico al 1% y 0.1% ácido cítrico.

Reacciones de pardeamiento enzimático ocurren por la oxidación de compuestos fenólicos catalizados por polifenoloxidasas seguida por la formación no enzimática de pigmentos. La polifenoloxidasa exhibe actividad mono o difenol oxidasa, o ambos tipos de actividades. La peroxidasa y fenilalanina amoniaco liasa también se encuentran estrechamente asociadas con el pardeamiento de frutas frescas cortadas y vegetales. Los tratamientos efectivos para inhibir el pardeamiento enzimático se pueden dividir en tres métodos: 1) inmersión en soluciones anti-pardeamiento; 2) envasado en atmósfera modificada y 3) choque térmico y almacenamiento refrigerado (He y Luo, 2007).

Las enzimas oxidativas se ven afectadas por el pH. Los grupos deben estar en la forma iónica apropiada para mantener la conformación del sitio activo o catalizar la reacción de pardeamiento. Cambios en el estado de ionización de las enzimas es generalmente reversible; sin embargo, la inactivación irreversible puede ocurrir en condiciones de pH extremo. La polifenoloxidasa puede ser inactivada ajustando el pH muy por debajo del requerido para una actividad óptima con acidulantes como el cítrico (He y Luo, 2007).

La aplicación de ácidos para controlar el pardeamiento enzimático se utiliza ampliamente. Los ácidos empleados son los encontrados naturalmente en los tejidos de las plantas, incluidos los ácidos cítrico, málico, fosfórico y ascórbico. Al bajar el pH del tejido reducirá o retardará el desarrollo del pardeamiento enzimático. El pH óptimo de la mayoría de enzimas polifenoloxidasas se encuentra entre pH 4.0 y 7.0, con poca actividad por debajo de pH 3.0 (Valente-Mezquita y Queiroz, 2013). La

reacción inicial que implica la formación de quinona está catalizada por enzimas, la polimerización de estas quinonas a melaninas de color marrón o marrón negro son esencialmente no enzimáticas (Eskin y Shahidi, 2012).

En el Cuadro 9, se presenta el análisis de varianza aplicado a valores de índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada.

Cuadro 9. Análisis de varianza aplicado a valores de índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	p
Modelo	63.102	5	12.620	13.301	0.003
A-Ácido cítrico	0.255	1	0.255	0.269	0.623
B-Ácido ascórbico	0.785	1	0.785	0.827	0.398
AB	0.005	1	0.005	0.005	0.944
A ²	34.503	1	34.503	36.363	0.001
B ²	39.917	1	39.917	42.069	0.001
Residual	5.693	6	0.949		
Falta de ajuste	3.439	3	1.146	1.526	0.368
Error puro	2.254	3	0.751		
Total	68.796	11			
R ²	0.91	R ² -ajustado		0.84	

Tal como se observa, el modelo cuadrático fue significativo ($p < 0.05$), con valores de coeficiente de determinación R^2 y R^2 -ajustado de 0.91 y 0.84 respectivamente, por lo que este modelo matemático fue seleccionado para representar el comportamiento de la variable en estudio. Adicionalmente,

no se evidencia falta de ajuste ($p > 0.05$). Montgomery (2011) menciona que un coeficiente de determinación mayor a 0.85 permite predecir la respuesta de manera adecuada.

En el Cuadro 10, se presenta los coeficientes de la regresión del modelo cuadrático aplicado a valores de índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada.

Cuadro 10. Coeficientes de la regresión del modelo cuadrático aplicado a valores de índice de pardeamiento (L^*) de muestras de palta en cubos congelada.

Factor	Coeficiente estimado	Error estándar	t(6)	p
Intercepto	65.412	0.487	134.304	0.000
A-Ácido cítrico	0.179	0.344	0.519	0.623
B-Ácido ascórbico	0.313	0.344	0.909	0.398
AB	-0.036	0.487	-0.074	0.943
A ²	-2.322	0.385	-6.030	0.001
B ²	-2.497	0.385	-6.486	0.001

Tal como se observa, los coeficientes estimados en unidades codificadas fueron significativos ($p < 0.05$), con excepción de los componentes correspondiente a A, B y la interacción A*B, sin embargo, se consideraron todos los coeficientes de la regresión para no disminuir la capacidad predictiva del modelo (Montgomery, 2011).

A partir de los coeficientes estimados en unidades codificadas se obtuvo el modelo de regresión en unidades naturales, tal como se muestra en la ecuación 5.

$$IP = 28.961 + 19.163 * A + 16.369 * B - 0.072 * A * B - 9.287 * A^2 - 2.497 * B^2 \quad (5)$$

En el Cuadro 11 se presenta los valores observados y estimados para valores de índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada.

Cuadro 11. Valores observados y estimados de índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada.

Tratamientos	Ácido cítrico (%)	Ácido ascórbico (%)	L*			
			Observados	Predichos	Residuos	Desviación (%)
T1	0.50	2.20	60.68	60.06	0.62	1.02
T2	1.50	2.20	60.25	60.49	-0.24	0.40
T3	0.50	4.20	61.87	60.76	1.10	1.78
T4	1.50	4.20	61.29	61.05	0.24	0.39
T5	0.29	3.20	59.48	60.52	-1.04	1.75
T6	1.71	3.20	61.20	61.02	0.18	0.29
T7	1.00	1.79	59.89	59.97	-0.09	0.15
T8	1.00	4.61	60.09	60.86	-0.77	1.28
T9	1.00	3.20	65.43	65.41	0.01	0.02
T10	1.00	3.20	64.18	65.41	-1.23	1.92
T11	1.00	3.20	66.09	65.41	0.68	1.03
T12	1.00	3.20	65.95	65.41	0.54	0.82

Se observa que la variación entre los valores observados y estimados de índice de pardeamiento de muestras de palta en cubos congelada, fue menor al 10%. Montgomery (2011) indica que la medición de la variación (%) es una posibilidad para determinar la lejanía entre los valores estimados y observados de la variable respuesta. Si la variación es menor al 10% la estimación de la variable respuesta es considerada como excelente, mayor a 10% y menor a 20% aceptable, mayor a 20% y menor a 30% marginalmente aceptable; y mayor a 30% inaceptable.

El modelo cuadrático fue usado para generar la superficie de respuesta (Figura 5a) y de contornos (Figura 5b) para valores de índice de

pardeamiento (L^*) de muestras de palta en cubos congelada. En la superficie de contornos (Figura 5b) se observa que, con la concentración de ácido cítrico en el rango de 0.80 a 1.20% y ácido ascórbico de 2.50 a 3.80%, el índice de pardeamiento (L^*) presentó un máximo valor de 66.22, lo que indicaría menor grado de pardeamiento. Generalmente, el valor de L^* en el espacio de color CIELab, estándar internacional para mediciones de color, adoptado por la Comisión Internacional D'Éclairage (CIE) en 1976, corresponde a la luminosidad, que varía de 0 (oscuro) a 100 (claro), (León y otros, 2006).

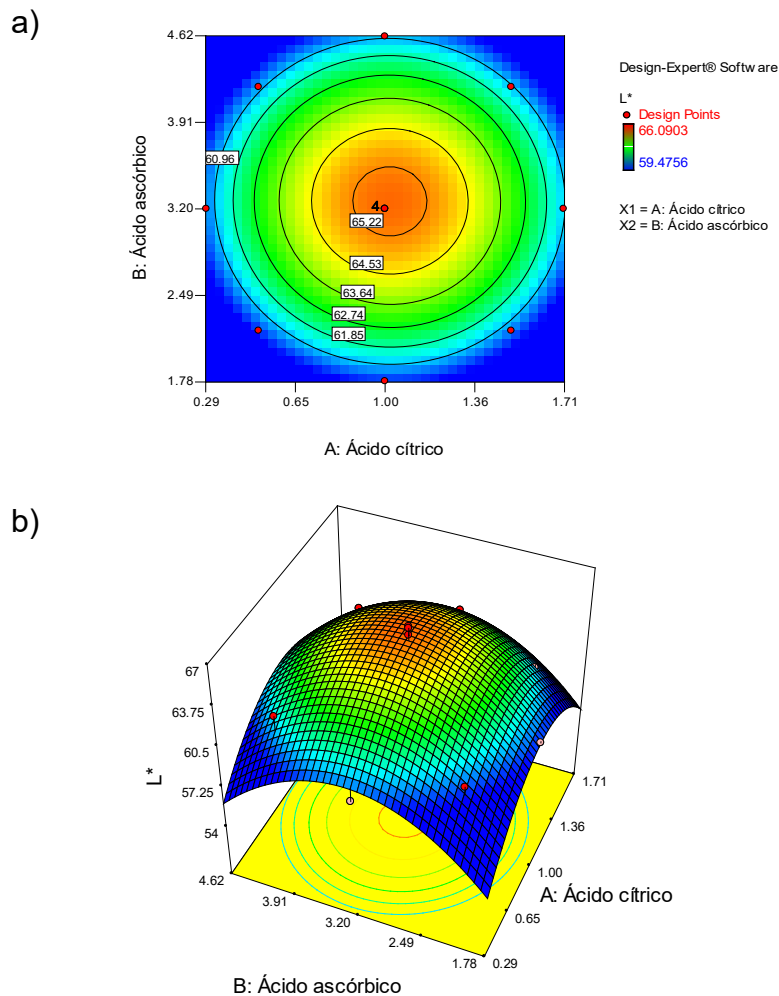


Figura 5. Superficie de respuesta (a) y de contornos (b) para valores de índice de pardeamiento (L^*) de muestras de palta en cubos congelada.

En la superficie de contornos y de respuesta se observa que con ácido cítrico en el rango de 0.80 a 1.20% y ácido ascórbico de 2.50 a 3.80%, la luminosidad en palta fue alta, siendo de aproximadamente 65.22.

Altunkaya y Gökmen (2008) aislaron polifenoloxidasas de lechuga fresca y encontraron valores de temperatura y pH óptimos en 40 °C y 7.0, respectivamente. Demostraron que la polifenoloxidasa de la lechuga usa catequina, catecol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido gálico como sustratos. Indicaron que la polifenoloxidasa fue sensible a algunos inhibidores, como el ácido ascórbico, la cisteína, el ácido oxálico y el ácido cítrico. Reportaron que el ácido ascórbico y el ácido cítrico, en concentraciones de 1.76-3.5% y 0.02-0.03% respectivamente, fueron eficaces en la inhibición de la polifenoloxidasa.

4.3. Efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en la aceptabilidad del color de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada

Los resultados correspondientes a la evaluación de la aceptabilidad del color de muestras de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada se muestran en el Cuadro 12 (Valores en Anexo 3).

Para color sensorial, la prueba de Durbin indicó la existencia de diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras evaluadas. El mayor promedio (7.55) con moda de 8 correspondiente a la percepción de "Me gusta muchísimo" fue para el tratamiento T1 (0.50% A y 2.20% B)

Cuadro 12. Prueba de Durbin para evaluación de la aceptabilidad del color de muestras de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada

Tratamientos	Factores		Rango promedio	Promedio	Moda
	Ácido cítrico (%)	Ácido ascórbico (%)			
T1	0.50	2.20	3.59	7.55	8
T2	1.50	2.20	2.68	6.45	7
T3	0.50	4.20	2.41	6.45	7
T4	1.50	4.20	2.14	5.45	8
T5	0.29	3.20	2.82	6.73	8
T6	1.71	3.20	2.14	5.82	7
T7	1.00	1.79	2.36	6.18	7
T8	1.00	4.61	2.59	5.55	6
T9	1.00	3.20	1.50	4.55	6
T10	1.00	3.20	3.00	7.27	8
T11	1.00	3.20	1.95	5.55	6
T12	1.00	3.20	2.82	6.55	7
Durbin-test			29.137		
p			0.002		

El ácido cítrico ha sido ampliamente usado por su efecto inhibitorio de la actividad de la polifenoloxidasas y por su actividad anti pardeamiento en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. El ácido cítrico ejerce un doble efecto inhibitorio, al disminuir el pH de actividad óptima de la polifenoloxidasas y quelar el cobre (Ibrahim y otros, 2004).

En el Cuadro 13 se presenta la prueba de comparaciones múltiples de Conover. Tal como se observa, los tratamientos T1, T10, T5, T12 y T2

presentaron mayor aceptación de color (siendo estadísticamente iguales al presentar la misma letra y encontrarse en el mismo grupo).

Cuadro 13. Prueba de comparaciones múltiples de Conover para valores de aceptabilidad del color de muestras de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada

Tratamientos	Rango promedio	Agrupación			
T1	3.59	a			
T10	3.00	a	b		
T5	2.82	a	b	c	
T12	2.82	a	b	c	
T2	2.68	a	b	c	
T8	2.59		b	c	
T3	2.41		b	c	d
T7	2.36		b	c	d
T4	2.14		b	c	d
T6	2.14		b	c	d
T11	1.95			c	d
T9	1.50				d

Ibrahim y otros (2004) emplearon ácido ascórbico (1%), metabisulfito de sodio (0.1%) (sulfito), ácido cítrico (0.1%) y ácido acético (0.1%) para inhibir los cambios de color y las propiedades sensoriales de repollo cortado mínimamente procesado durante el almacenamiento a baja temperatura (5 ± 1 °C; 90-95% HR). Realizaron una evaluación sensorial que involucró análisis descriptivo, hedónico y cuantitativo. Los resultados obtenidos mostraron que las muestras tratadas con 1% de ácido ascórbico y 0.1% de ácido cítrico presentaron puntuaciones de aceptabilidad superiores a 7, en una escala de 1 al 9. Indicaron que la prueba de aceptabilidad del color para los diferentes tratamientos eran un complemento a la medición del color instrumental (L^*).

4.4. Efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en la aceptabilidad del sabor de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada

Los resultados de la aceptabilidad del sabor de muestras de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada se muestran en el Cuadro 14. Tal como se observa, no existió efecto significativo ($p>0.05$) la concentración de ácido cítrico y ascórbico en la aceptabilidad del sabor de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada (Anexo 4).

Cuadro 14. Prueba de Durbin para evaluación de la aceptabilidad del sabor de muestras de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada

Tratamientos	Factores		Rango promedio	Promedio	Moda
	Ácido cítrico (%)	Ácido ascórbico (%)			
T1	0.50	2.20	2.73	5.09	3
T2	1.50	2.20	2.77	5.73	7
T3	0.50	4.20	3.27	5.18	7
T4	1.50	4.20	2.50	4.27	3
T5	0.29	3.20	3.00	6.09	6
T6	1.71	3.20	1.77	3.73	5
T7	1.00	1.79	2.05	3.45	4
T8	1.00	4.61	2.09	4.18	2
T9	1.00	3.20	2.41	4.91	7
T10	1.00	3.20	2.82	6.00	8
T11	1.00	3.20	2.18	4.45	3
T12	1.00	3.20	2.41	4.27	4
Durbin-test				18.406	
P				0.073	

Estos resultados concuerdan con los reportados Ibrahim y otros (2004), quienes emplearon ácido ascórbico (1%), metabisulfito de sodio (0.1%)

(sulfito), ácido cítrico (0.1%) y ácido acético (0.1%) para inhibir los cambios de color y las propiedades sensoriales de repollo cortado mínimamente procesado durante el almacenamiento a baja temperatura (5 ± 1 °C; 90-95% HR). Realizaron una evaluación sensorial que involucró análisis descriptivo hedónico y cuantitativo. Reportaron que el sabor no fue afectado significativamente ($p > 0.05$) por los tratamientos evaluados.

4.5. Determinación de la zona de formulación factible y localización numérica de la mezcla óptima

La concentración de ácido cítrico y ascórbico que optimizan las variables respuesta, se realizó mediante el método de superposición de graficas de contorno (Figura 6). La zona de formulación factible se determinó asignando valores esperados a la variable respuesta significativa de mayor importancia (índice de pardeamiento), considerando la maximización de esta variable. A partir de esta optimización se obtuvo la proporción óptima estimada de concentración de ácido cítrico y ascórbico de 1.02 y 3.26% respectivamente, determinándose los valores estimados de las variables respuesta: pH (5.29) e índice de pardeamiento (L^*) (65.425).

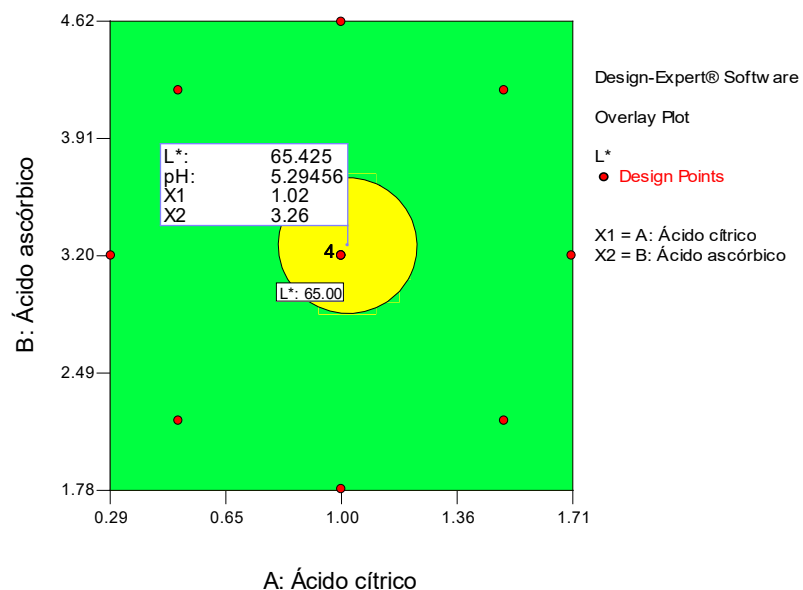


Figura 6. Gráfica de superposición de superficie de respuesta para la optimización de la concentración de ácido cítrico y ascórbico.

En el Cuadro 15 se muestra los resultados de la validación experimental de los valores estimados, para lo cual se realizaron tres corridas experimentales con la mezcla óptima, donde las respuestas observadas se encontraron dentro del intervalo de confianza al 95%.

Cuadro 15. Resultados de la validación experimental para valores de Índice de pardeamiento (L*) y pH de muestras de palta (*Persea americana* Mill) en cubos congelada

Respuestas	Predicción	Intervalo de confianza al 95%		Observado		
		Inferior	Superior			
Índice de pardeamiento (L*)	65.43	64.23	66.62	65.10	65.62	65.51
pH	5.29	5.29	5.30	5.30	5.29	5.30

IV. CONCLUSIONES

El efecto de la concentración de ácido cítrico y ascórbico en el pH, índice de pardeamiento (L^*) y aceptabilidad general del color de palta en cubos congelada fue significativo, a excepción de la aceptabilidad general del sabor, en el que no se encontró efecto significativo.

La concentración de ácido cítrico y ascórbico que optimizaron las variables pH e índice de pardeamiento, a partir de la superposición de contornos, fue de 1.02 y 3.26% respectivamente, determinándose los valores estimados de las variables respuesta pH: 5.29 e índice de pardeamiento (L^*): 65.425.

V. RECOMENDACIONES

Evaluar el tiempo de vida útil fisicoquímico y sensorial de los cubos de palta congelados durante el almacenamiento.

Evaluar el efecto de la concentración de otros inhibidores enzimáticos, como el eritorbato de sodio y bisulfito de sodio en el índice de pardeamiento y aceptabilidad del color y sabor en cubos de palta congelados.

VI. BIBLIOGRAFÍA

AgroForum.pe, 2016. Una alternativa rentable: la palta congelada. Disponible en. <https://www.agroforum.pe/agro-noticias/alternativa-rentable-palta-congelada-10499/>

Aguiló-Aguayo, I., Oms-Oliu, G., Martín-Belloso, O. y Soliva-Fortuny, R. 2014. Impact of pulsed light treatments on quality characteristics and oxidative stability of fresh-cut avocado. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1):320-326.

Altunkaya, A. y Gökmen, V. 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry*, 107(3):1173-1179.

Anzaldúa-Morales, A. 2005. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Segunda edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

AOAC. 1997 Official Methods of the Association of Official Analytical Chemists. 17ava Edición Editorial Board. United States of America.

Araújo, R. G., Rodríguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E. y Aguilar, C. N. 2018. Avocado by-products: nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 80(51-60).

Aydemir, T. 2004. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Food Chemistry*, 87: 59-67.

Codex Alimentarius. 2005. Codex Stan 197-1997. [En línea] Available at: http://ftp.fao.org/Codex/knovel/updated%202013/CXS_197s.pdf [Último acceso: 25 Julio 2017].

Eskin, N. A. M. y Shahidi, F. 2012. Biochemistry of Food Processing: browning reactions. *Biochemistry of Food*, 239-296.

Fan, M., Wang, M. y Zou, P. 2005. Effect of sodium chloride on the activity and stability of polyphenol oxidase from Fuji apple. *Journal of Food Biochemistry*, 29:221-230.

Fellows, P. J. 2013. *Food processing technology: principles and practice*. Elsevier. Kidlington, United Kingdom.

Fernández, P., Otero, L., Guignon, B. y Sanz, P., 2006. High pressure shift freezing versus high-pressure assisted freezing: effects on the microstructure of a food model. *Food Hydrocolloid*, 20: 510-522.

Gao, Z. J., Han, X.-H. y Xiao, X. G. 2009. Purification and characterisation of polyphenol oxidase from red Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies cicla) leaves. *Food Chemistry*, 117:342-348.

Gawlik-Dziki, U., Szymanowska, U. y Baraniak, B. 2007. Characterization of polyphenol oxidase from broccoli (*Brassica oleracea* var. botrytis italica) florets. *Food Chemistry*, 105:1047-1053

Gawlik-Dziki, U., Zlotek, U. y Swieca, M. 2008. Characterization of polyphenol oxidase from butter lettuce (*Lactuca sativa* var. capitata L.). *Food Chemistry*, 107:129-135.

Gestión, 2017. Palta, el “oro verde” en las exportaciones peruanas. *Gestión*, 03 Diciembre, p. 1.

Gomes, M. H., Vieira, T., Fundo, J. F. y Almeida, D. P. 2014. Polyphenoloxidase activity and browning in fresh-cut ‘Rocha’pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. *Postharvest Biology and Technology*, 91:32-38.

Goyeneche, R., Di Scala, K. y Roura, S. 2013. Biochemical characterization and thermal inactivation of polyphenol oxidase from radish (*Raphanus sativus* var. sativus). *LWT-Food Science and Technology*, 54(1):57-62.

He, Q. y Luo, Y. 2007. Enzymatic browning and its control in fresh-cut produce. *Stewart Postharvest Review*, 3(6):1-7.

Hernández, E. y Briceño, L. 2009. Evaluación del pardeamiento enzimático durante el almacenamiento en congelación del puré de palta (*Persea americana* Mill) Var. Hass. *Anales Científicos*, 70(4):24-35.

Hosoda, H., Inoue, E., Iwahashi, Y., Sakaue, K., Tada, M. y Nagata, T. 2005. Inhibitory effect of sulfides on browning of apple slice. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology–Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 52(3):120-124.

Ibrahim, R., Osman, A., Saari, N. y Rahman, R. A. 2004. Effects of anti-browning treatments on the storage quality of minimally processed shredded cabbage. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 2:54-58.

León, K., Mery, D., Pedreschi, F. y León, J. 2006. Color measurement in L* a* b* units from RGB digital images. *Food Research International*, 39:1084-1091.

Limbo, S. y Piergiovanni, L. 2006. Shelf life of minimally processed potatoes: Part 1. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic browning. *Post Postharvest Biol. Technol*, 39:254-264.

Mayer, A. 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places places?. *Phytochemistry*, 67:2318-2331.

Montgomery, D. 2011. *Diseño y análisis de experimentos*. 2 Ed. México: Limusa.

Nilo, R. 2006. Purificación parcial y caracterización cinética de la polifenoloxidasas del Cambur Manzano (*Musa [AAB]* cv. “manzano”). *Revista de la Facultad de Agronomía*, IX(4):39-49.

Otero, L. y Sanz, P. 2006. High-pressure-shift freezing: main factors implied in the phase transition time. *Journal of Food Engineering*, 72(4):354-363.

Otero, L. y Sanz, P. D. 2012. High-pressure shift freezing. En: *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*. CRC, Boca Raton: Sun, D.W.

Queiroz, C., Mendes Lopes, M. L., Fialho, E. y Valente-Mesquita, V. L. 2008. Polyphenol oxidase: characteristics and mechanisms of browning control. *Food Reviews International*, 24(4):361-375.

Queiroz, C., da Silva, A. J. R., Lopes, M. L. M., Fialho, E. y Valente-Mesquita, V. L. 2011. Polyphenol oxidase activity, phenolic acid

composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) after processing. Food Chemistry, 125(1):128-132.

Quevedo, R., Díaz, O., Ronceros, B., Pedreschi, F. y Aguilera, J. M. 2009. Description of the kinetic enzymatic browning in banana (*Musa cavendish*) slices using non-uniform color information from digital images. Food Research International, 42(9):1309-1314.

Ramírez-Navas, J. S. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. Revista ReCiTeIA.

Rapeanu, G., Van Loey, A., Smout, C. y Hendrickx, M. 2006. Biochemical characterization and process stability of polyphenoloxidase extracted from Victoria grape (*Vitis vinifera* ssp. Sativa). Food Chemistry, 94:253-261.

Reyes, G., Corzo, O. y Bracho, N. 2005. Optimización de la deshidratación osmótica de sardina mediante la metodología de superficie de respuesta. RC, 15(4).

Rodriguez, M. e lemma, A., 2005. Planejamento de experimentos otimizacao de procesos. Casa do PAo Editora. Campinas, SP. Brasil.

SAVSA. 2015. Manual de Aseguramiento de la calidad.

Sierra Exportadora. 2016. Exportaciones de palta Hass de La Libertad generan ventas por S/. 1.5 millones a mayo. Gestión, 06 02, p. 1. Disponible en: <https://gestion.pe/economia/exportaciones-palta-hass-libertad-generan-ventas-s-1-5-millones-mayo-91956>

Tirilly, Y. y Bourgeois, C. 2001. Tecnología de las hortalizas. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.

Valente-Mezquita, V. L. y Quieroz, C. 2013. Chapter 10 Enzymatic Browning. En: Biochemistry of Foods. Third. Edition. Academic Press. San Diego, CA, USA.

XLSTAT. 2018. Su solución de análisis de datos. Disponible en: https://help.xlstat.com/customer/es/portal/articles/2062369-prueba-de-durbin-skillings-mack-en-excel?b_id=9283

Yahia, E. M. 2011. Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: fundamental issues. Elsevier. Cambridge, UK.

Yam, K. L. y Papadakis, S. 2004. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61:137-142.

Zhang, L., Lu, Z., Lu, F. y Bie, X. 2006. Effect of g irradiation on quality maintaining of fresh-cut lettuce. *Food Control*, 17:225-228.

VII. ANEXOS

Anexo 1. Resultados de pH en palta en cubos congelada

Ensayos	Ácido	Ácido	pH				
	Cítrico %	Ascórbico %	R1	R2	R3	Promedio	DE
1	0.5	2.2	5.47	5.46	5.45	5.46	0.010
2	1.5	2.2	5.25	5.26	5.25	5.25	0.006
3	0.5	4.2	5.4	5.39	5.41	5.40	0.010
4	1.5	4.2	5.21	5.22	5.21	5.21	0.006
5	0.29	3.2	5.5	5.48	5.5	5.49	0.012
6	1.71	3.2	5.2	5.2	5.21	5.20	0.006
7	1	1.79	5.34	5.34	5.35	5.34	0.006
8	1	4.61	5.26	5.27	5.26	5.26	0.006
9	1	3.2	5.3	5.3	5.31	5.30	0.006
10	1	3.2	5.31	5.3	5.29	5.30	0.010
11	1	3.2	5.3	5.29	5.3	5.30	0.006
12	1	3.2	5.31	5.29	5.3	5.30	0.010

Anexo 2. Resultados de L* en palta en cubos congelada

Ensayos	Ácido	Ácido	L*				
	Cítrico %	Ascórbico %	R1	R2	R3	Promedio	DE
1	0.5	2.2	59.49	60.16	62.40	60.68	1.53
2	1.5	2.2	61.02	62.38	57.35	60.25	2.60
3	0.5	4.2	63.70	60.88	61.02	61.87	1.59
4	1.5	4.2	61.74	63.52	58.61	61.29	2.49
5	0.29	3.2	57.25	58.41	62.76	59.48	2.90
6	1.71	3.2	60.01	60.63	62.95	61.20	1.55
7	1	1.79	58.12	60.18	61.35	59.89	1.63
8	1	4.61	58.97	61.49	59.80	60.09	1.29
9	1	3.2	65.22	65.14	65.91	65.43	0.42
10	1	3.2	65.82	60.75	65.98	64.18	2.98
11	1	3.2	63.50	71.09	63.68	66.09	4.33
12	1	3.2	65.29	67.10	65.46	65.95	1.00

Anexo 2. Resultados evaluación sensorial del color de la palta en cubos descongelada

Panel	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
1			8			8				7		7
2		7		8			6	7				
3		7							6		6	7
4			5					2	1			7
5	8	6				7	3					
6	8				7	5			6			
7				5		4					8	6
8		8	6	8	8							
9	8							4	7		6	
10	8			3				6			4	
11	8	3				6						7
12		7	5	7					5			
13			4					5		7	9	
14	6		8							8		4
15				5	8				3	6		
16		8			4					8	3	
17				4		7		6		8		
18					8	8			5		8	
19							4	7	2	5		
20					9		8			8		9
21	8				5			6				5
22		6						6		7	5	
23	9	5							3	8		
24				5			5				4	7
25			7			5	7		4			
26				8			7		8			9
27					6	4	7	5				
28	8		7	6	8							
29		7	7			7		8				
30	9			1		3				8		
31		7			3			5				4
32	3		7				7				2	
33			7		8		8				6	
Promedio	7.5	6.5	6.5	5.5	6.7	5.8	6.2	5.5	4.5	7.3	5.5	6.5
Moda	8	7	7	8	8	7	7	6	6	8	6	7

Anexo 3. Resultados evaluación sensorial del sabor de la palta en cubos descongelada

Panel	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
1			2			1				1		1
2		4		3			1	2				
3		7							7		8	8
4			6					1	4			3
5	4	6				5	3					
6	8				7	5			6			
7				6		3					3	4
8		3	7	7	7							
9	4							3	7		6	
10	3			3				2			3	
11	5	8				5						4
12		7	2	8					3			
13			3					2		8	7	
14	7		7							5		3
15				3	8				5	7		
16		7			4					8	3	
17				5		7		8		7		
18					6	4			7		8	
19							2	6	7	1		
20					5		4			4		5
21	3				6			7				4
22		4					3			8	2	
23	9	5							4	8		
24				5			7				3	6
25			5			3	4		2			
26				3			1		2			1
27					5	2	7	7				
28	5		6	2	6							
29		6	7			4		4				
30	5			2		2				9		
31		6			7			4				8
32	3		7				2				2	
33			5		6		4				4	
Promedio	5.1	5.7	5.2	4.3	6.1	3.7	3.5	4.2	4.9	6	4.5	4.3
Moda	3	7	7	3	6	5	4	2	7	8	3	4