



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUIMICA

“Evaluación de la vida de anaquel (propiedades sensoriales, físico-químicas y antioxidantes) de tuna (*Opuntia ficus-indica*) procesada mediante tecnología de obstáculos”

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de:

Licenciatura en ingeniería en alimentos

PRESENTA:

MEZA GONZÁLEZ TOMASA

ASESOR:

DRA. MARÍA LETICIA CALDERÓN FERNÁNDEZ

Puebla, Pue. Julio del 2019



BUAP

Oficio No. FIQ/AC/1050/2017
Asunto: Registro de Tema de Tesis

**C. TOMASA MEZA GONZÁLEZ
PASANTE DE LA LICENCIATURA
EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS
P R E S E N T E:**

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería en Alimentos cuyo título es el siguiente:

"Evaluación de la vida de anaquel (propiedades sensoriales, físico-químicas y antioxidantes) de tuna (*Opuntia ficus-indica*) procesada mediante tecnología de obstáculos"

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

**CAPÍTULO 1
CAPÍTULO 2
CAPÍTULO 3**

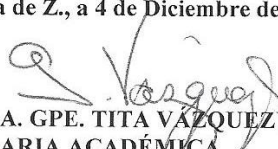
**ANTECEDENTES
METODOLOGÍA
RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA**

Directora de Tesis: Dra. María Leticia Calderón Fernández

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO**.

A T E N T A M E N T E
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., a 4 de Diciembre de 2017


M.I.C. MA. GPE. TITA VÁZQUEZ E. DE LOS MONTEROS
SECRETARIA ACADÉMICA



C.c.p. Directora de Tesis: Dra. María Leticia Calderón Fernández
C.c.p. Archivo Facultad de Ingeniería Química

80 AÑOS
DE UNIVERSIDAD

Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Manuel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00
Ext. 7250 y 7251

CTAI01



**Benemérita Universidad
Autónoma de Puebla**
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



CIUDAD UNIVERSITARIA

Mtro. Omar Gerardo Aguirre Ibarra
Director de la Administración Escolar
De la BUAP.
Presente

ASUNTO:
**AUTORIZACIÓN
IMPRESIÓN DE TESIS**

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería Química

Tomasa Meza González

Quién presenta como tema de tesis:

“Evaluación de la vida de anaquel (propiedades sensoriales, físico-químicas y antioxidantes) de tuna (*Opuntia ficus-indica*) procesada mediante tecnología de obstáculos”

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE

“Pensar Bien, para Vivir Mejor”

H. Puebla de Z., a 27 de julio del 2018

Director de Tesis
Dra. María Leticia Caldearon Fernández

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

Le doy gracias a mis padres Nicolás y Elodia por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mis hermanos por ser parte importante de mi vida y representar la unidad familiar. A Nicolás, Cecilia, Gregoria, Ana Silvia y Brenda Guadalupe por llenar mi vida de alegrías y amor cuando más lo he necesitado.

Mi agradecimiento a la directora de esta tesis, Dra. María Leticia Calderón Fernández, por la dedicación y apoyo que ha brindado a este trabajo, por el respeto a mis sugerencias e ideas y por la dirección y el rigor que ha facilitado a las mismas.

A Griselda Quirino, Mitchel Rivera, Dulce María López, Berenice y Miriam García por ser una parte importante de mi vida por el apoyo recibido desde el día que los conocí por ser más que amigos por ser una segunda familia. Por todo el apoyo recibido para la realización de esta tesis. Por todos los consejos y el apoyo recibido en los momentos difíciles de la vida.

A mis amigos de la palapa (Carlita, Clau, Mariana, Rafa, Sara, Regí, Lily y Karí) por todos los momentos que pasamos juntos. Por las tareas que juntos realizamos y por todas las veces a mí me explicaron gracias. Por la confianza que en mí depositaron.

Gracias a mis profesores por todo el apoyo brindado a lo largo de la carrera, por su tiempo, amistad y por los conocimientos que me transmitieron.

Y no me queda más que decir, que sin ustedes a mi lado no lo hubiera logrado, tantas desveladas sirvieron de algo y aquí está el fruto. Les agradezco a todos ustedes con toda el alma el haber llegado a mi vida y el compartir momentos agradables y tristes, pero esos momentos son los que nos hacen crecer y valorar a las personas que nos rodean. Los quiero y nunca los olvidare.

Índice general

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 1. ANTECEDENTES	3
1.1 Conservación de alimentos.....	3
1.1.1 Tecnología de obstáculos	4
1.2 Alimentos funcionales	6
1.2.1 Antioxidantes	8
1.2.1.1 Compuestos polifenólicos	9
1.2.1.2 Ácido ascórbico (vitamina C).....	11
1.2.1.3 Capacidad antioxidante	14
1.3 Generalidades de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	15
1.3.1 Producción de tuna (<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller)	16
1.3.2 Características morfológicas de la tuna	18
1.3.3 Propiedades nutritivas y funcionales de la tuna	19
1.3.4 Pérdidas postcosecha de la tuna	19
1.4 Vida de anaquel y vida útil	21
1.5 Objetivos	22
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA.....	23
2.1 Aplicación de tres formulaciones para el procesamiento de frutas conservadas con tecnologías de obstáculos	23
2.1.1 Establecimiento de las formulaciones a probar	23
2.1.2 Procesamiento de tuna conservada por métodos combinados	23
2.2 Selección de la formulación óptima para conservar la tuna por métodos combinados.....	26
2.3 Evaluación la vida de anaquel de la formulación seleccionada para la de tuna conservada por métodos combinados	27
2.3.1 Evaluación sensorial	28
2.3.2 Análisis microbiológicos	29
2.3.3 Análisis físico-químicos	32
2.3.4 Análisis de las propiedades antioxidantes	33
2.4 Análisis de resultados	39

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
3.1 Determinación de las formulaciones para el procesamiento de frutas conservadas con tecnologías de obstáculos que se adecuen a las propiedades físico-químicas de la tuna	40
3.2 Selección de la formulación óptima para conservar la tuna por métodos combinados.....	42
3.3 Evaluación de la vida de anaquel de tuna conservada de la formulación seleccionado para conservar la tuna por métodos combinados	43
3.3.1 Evaluación sensorial de la tuna procesada por métodos combinados	43
3.2.2 Evaluación microbiológica	45
3.2.3 Evaluación de la actividad de agua	47
3.2.4 Evaluación de los grados Brix	47
3.2.5 Evaluación del pH	48
3.2.6 Evaluación del color	50
3.2.7 Evaluación del contenido de ácido ascórbico	53
3.2.8 Evaluación del contenido de fenoles totales	54
3.2.9 Evaluación de la capacidad antioxidante	55
3.2.10 Evaluación de la vida de anaquel de la tuna procesada por métodos combinados	56
 CONCLUSIONES	 60
 BIBLIOGRAFÍA.....	 62
 APÉNDICES	 66
APÉNDICE 1.1 CORRELACIÓN DE ACTIVIDAD DE AGUA CONTRA TIEMPO	67
APÉNDICE 1.2 CORRELACIÓN DE GRADOS °BRIX CONTRA TIEMPO	68
APÉNDICE 1.3 CORRELACIÓN DE pH CONTRA TIEMPO	69
APÉNDICE 1.4 CORRELACIONES DE COLOR CON RESPECTO AL TIEMPO	70
APÉNDICE 1.5 CORRELACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO CONTRA TIEMPO	74
APÉNDICE 1.6 CORRELACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES CONTRA TIEMPO	75
APÉNDICE 1.7 CORRELACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE CONTRA TIEMPO	76

APÉNDICE 1.8 CORRELACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE CONTRA CONTENIDO DE FENO- LES	78
APÉNDICE 1.9 CORRELACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE CONTRA CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO	80

Índice de tablas

Tabla 2.1 Volumen adicionado de ácido gálico y etanol para la curva de calibración	37
Tabla 3.1. Propiedades físico-químicas de la tuna reportadas por diferentes autores	41
Tabla 3.2. Propiedades físico-químicas de las frutas de referencia	41
Tabla 3.3. Composición de las formulaciones de las soluciones estabilizadoras a seleccionar ...	42
Tabla 3.4. Calificaciones obtenidas en la evaluación sensorial de la tuna procesada por métodos combinados	45
Tabla 3.5. Estabilidad microbiológica de la tuna procesada por métodos combinados	46
Tabla 3.6 Efecto del almacenamiento sobre la a_w , °Brix y pH de la tuna procesada por métodos combinados	48
Tabla 3.7. Efecto del almacenamiento sobre la a_w , °Brix y pH de la solución estabilizadora de la tuna procesada por métodos combinados	49
Tabla 3.8. Efecto del almacenamiento sobre el color de la tuna procesada por métodos combinados	52
Tabla 3.9. Efecto del almacenamiento sobre el color de la tuna procesada por métodos combinados	53

Índice de figuras

Figura 2.1 Diagrama de flujo del proceso de tuna conservadas por métodos combinados	24
Figura 2.2. Ficha de evaluación sensorial por ordenación para la evaluación de las tres formulaciones de solución estabilizadora de tuna procesada	27
Figura 2.3 Diagrama de flujo para la evaluación de vida de anaquel de la formulación seleccionada	28
Figura 2.4 Ficha de evaluación sensorial para prueba de aceptación de tuna procesada	29
Figura 3.1. Grado de preferencia de las tres formulaciones evaluadas	43
Figura 3.2. Grado de aceptación de la tuna procesada por métodos combinados	44
Figura 3.3 Comportamiento del color con respecto al tiempo de tuna procesada	51
Figura 3.4 Cambio neto de color de la tuna conservada por métodos combinados durante su almacenamiento	52
Figura 3.5. Curva estándar de ácido gálico para determinar los fenoles totales.....	55
Figura 3.6 Efecto de los parámetros de equilibrio en la vida de anaquel de tuna procesada	57
Figura 3.7 Comportamiento de los parámetros de capacidad antioxidante en la vida de anaquel de tuna procesada.....	58

INTRODUCCIÓN

En México, el incremento de enfermedades crónico degenerativas se ha incrementado notablemente en los últimos años, como es el caso del cáncer, ya que durante 2010 del total de egresos hospitalarios por tumores, 56% fueron debidos a tumores malignos, siendo para la población infantil y joven (menores de 20 años) más alta que para la adulta (71.8% y 53.4%, respectivamente); además ocupa el segundo lugar como causa de muerte (INEGI, 2015). Así mismo, las proyecciones indican que el número de muertes por cáncer en América aumentará de 1.3 hasta 2.1 millones en 2030 (Globocan, 2012), y se espera que el número de casos nuevos se incremente en un 67% en América Latina y el Caribe (1.8 millones por año), y en un 41% para Norteamérica (OMS, 2017).

Lo anterior está relacionado, en parte, con el bajo consumo de alimentos frescos, lo cual se debe, en cierta medida, al estilo de vida acelerado de la población que opta por alimentos económicos y fáciles de adquirir, dejando de lado las frutas y hortalizas, debido a que son altamente perecederas y por ello no se venden en cualquier lugar.

Por otro lado, según Mondragón-Jacobo y Pimienta-Barrios (1995), existen pérdidas significativas (23%) de frutas y hortalizas debido a deterioros microbiológicos y fisiológicos, así como a la pérdida de agua, al daño mecánico durante la cosecha, envasado y transporte, o a las inadecuadas condiciones de traslado, resultando en pérdidas mayores del 40-50 % en las regiones tropicales y subtropicales. Tal es el caso de los cultivos de nopal tunero (*Opuntia ficus indica*) de la localidad de Villanueva del municipio del estado de Puebla, los cuales son afectados por factores intrínsecos (características genéticas y estado de madurez durante la cosecha) y extrínsecos (condiciones ambientales y prácticas de cultivo), tal como el tamaño pequeño de los frutos, la presencia de fauna invasora y los efectos extremos del clima.

Además también son afectados por los factores políticos y comerciales, como el exceso de producción en relación con la demanda, y la globalización de los mercados, entre otros. Por lo que se producen grandes pérdidas económicas, ya que una proporción importante se pierde al no cumplir con el tamaño requerido y el estado óptimo para su venta (Ramírez *et al.*, 2015).

Así mismo, se producen grandes pérdidas nutricionales, ya que este fruto presenta una concentración significativa de compuestos bioactivos, tales como vitamina C, vitamina E, pigmentos, polifenoles y taurina, por lo que se le considerara como alimento funcional (Piga, 2004).

Aunado a lo anterior, la calidad exigida de productos agrarios cada día es mayor, tanto por los consumidores, como por los comercializadores, ya sea frescos, mínimamente procesados o

transformados. Donde la calidad no tan solo implica idoneidad del producto para su uso (cumplimiento de propiedades sanitarias, sensoriales, nutritivas y funcionales), sino en muchos casos, incluye contar con un grado de excelencia, es decir, que sean más sanos, frescos, nutritivos, con mejores características sensoriales, y sobre todo, que dichas propiedades se den a conocer a los usuarios.

Por esas razones, se han diseñado diversos métodos para la conservación de frutas y hortalizas, los cuales utilizan diferentes técnicas que contribuyen a obtener la calidad deseada del producto terminado. Uno de ellos es el método de factores combinados, también conocido como tecnología de barreras u obstáculos.

Por todo lo mencionado, en el presente estudio, se evaluó una tecnología de obstáculos que sea factible para procesar tuna (*Opuntia ficus indica*) en piezas enteras, la cual permitió no tan sólo aprovechar el producto que no cumple con las características de calidad solicitado por los consumidores y comercializadores, sino que también permitió mantener sus propiedades sensoriales, nutricionales y funcionales cercanas a las naturales, además de conservarlo por más tiempo respecto al producto fresco.

Por lo que el objetivo general del presente trabajo fue evaluar la vida de anaquel de piezas enteras de tuna (*Opuntia ficus indica*) procesada mediante tecnología de obstáculos mediante la determinación de sus propiedades sensoriales, sanitarias, físico-químicas, y antioxidantes.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1.1 Conservación de alimentos

Las técnicas de conservación se aplican para controlar el deterioro de la calidad de los alimentos, el cual puede ser causado por microorganismos y/o por una variedad de reacciones físico-químicas que ocurren después de la cosecha. Por lo que, la prioridad de cualquier proceso de conservación es minimizar la probabilidad de ocurrencia y de crecimiento de microorganismos deteriorativos y patógenos.

Desde el punto de vista microbiológico, la conservación de alimentos consiste en exponer a los microorganismos a un medio hostil (por ejemplo a uno o más factores adversos) para prevenir o retardar su crecimiento, disminuir su supervivencia o causar su muerte. Ejemplos de tales factores son la acidez, por ejemplo pH bajo; la limitación del agua disponible para el crecimiento, por ejemplo reducción de la actividad de agua (a_w); la presencia de conservadores (tanto sintéticos como naturales); las temperaturas (altas o bajas); la limitación de nutrientes, la radiaciones (por ejemplo la ultravioleta y las ionizantes).

Sin embargo, los microorganismos han desarrollado distintos mecanismos para resistir los efectos de estrés (mecanismos homeostáticos), que actúan para mantener relativamente los parámetros y las actividades fisiológicas de los microorganismos (Leistner y Gould, 2002). En el caso de microorganismos vegetativos, los mecanismos homeostáticos son energético dependientes, es decir, consumen energía para resistir a los factores de estrés. Por su parte las esporas, no consumen energía, ya que están incluidos en la estructura de la célula aún antes de que ésta sea expuesta a los estreses ambientales.

Los factores más importantes que controlan la velocidad de los cambios deteriorativos y la proliferación de los microorganismos en los alimentos son la disponibilidad de agua (a_w), el pH y la temperatura.

Así por ejemplo, las bacterias comunes deteriorativas se inhiben a a_w aproximadamente de 0.97; los clostridios patógenos a 0.94, y la mayor parte de las especies de *Bacillus* a 0.93. Sin embargo, *Staphylococcus aureus* es el patógeno que posee mayor tolerancia a la a_w , ya que puede crecer a a_w de 0.86 y en aerobiosis. Muchos hongos y levaduras son capaces de proliferar a a_w por

debajo de 0.86; algunas levaduras osmofílicas y hongos xerófilos pueden crecer lentamente a a_w ligeramente mayores a 0.60.

Respecto al pH, la mayoría de las bacterias asociadas a alimentos, su óptimo está en el rango 6.5-7.5; aunque algunas bacterias patógenas pueden crecer a pH de 4.2, y algunas bacterias deteriorativas en condiciones muy ácidas (pH de 2.0). En general, los hongos y las levaduras tienen mayor habilidad que las bacterias para crecer a pH ácidos, pudiendo proliferar a un valor de pH de 1.5.

Los ácidos orgánicos débiles (sorbico, propiónico y benzoico) son usados como conservadores en condiciones ácidas para que una gran proporción del ácido esté en forma no disociada, que es la que actúa como transportadora de protones a través de la membrana celular.

De esta forma, cada respuesta homeostática a un factor adicional requiere energía, por lo que la demanda energética supera la capacidad de generación de energía y el crecimiento cesa. Por ello, se debe aplicar más de un factor de conservación u obstáculo a un nivel bajo con la consecuente mejora en la calidad nutricional y sensorial.

1.1.1 Tecnología de obstáculos

Actualmente existe una demanda por los consumidores por alimentos con la menor cantidad de aditivos, lo que a su vez ha llevado a una oportunidad para investigar nuevas tecnologías en la conservación de alimentos. Sin embargo, en el caso de los alimentos ácidos, es difícil obtener resultados viables sin el uso de métodos combinados (Palou, 1999, citado en Cinta-Chacon, 2007).

Es por ello, que hasta la fecha las tecnologías de obstáculos -también llamadas métodos combinados, método de barreras, procesos combinados, conservación por combinación, técnicas combinadas o conservación multiblanco-, son una opción para la conservación los alimentos, que consisten en la aplicación de dos o más factores de estrés usados. Resultando un método muy efectivo para vencer las respuestas homeostáticas microbianas y al mismo tiempo retener las características nutricionales y sensoriales deseadas (Gould, 1995; Leitsner, 2000; Leitsner y Gould, 2002).

El diseño de alimentos tratados con esta tecnología consiste en establecer una combinación de los tratamientos para asegurar la estabilidad, inocuidad y calidad de los alimentos. Se basa en la aplicación de varias técnicas de estrés a bajos niveles para conservar los alimentos, como: a) escalado, o sea la exposición de las piezas de frutas u hortalizas a altas temperaturas durante unos pocos minutos, es una operación de control crítica en el procesamiento de frutas autoestables; b) adición de humectantes que permiten que la a_w disminuya cuando se aumenta la concentración de compuestos disueltos o solutos; c) incorporación de antimicrobianos como el ácido sorbico, el ácido

benzoico y los compuestos sulfitados, los cuales se usan principalmente para inhibir el crecimiento de hongos y levaduras, y cuya acción depende fuertemente del pH, siendo más activos contra los microorganismos en los alimentos ácidos; y d) adición de acidulantes para ajustar la acidez, como el ácido cítrico y el fosfórico principalmente, debido a su bajo precio y a su compatibilidad sensorial.

Por lo tanto, los factores de conservación seleccionados y sus intensidades o niveles que aseguran la estabilidad microbiológica, así como la calidad sensorial y nutritiva de los productos a conservarse, deben ser estudiados y evaluados para cada producto para alcanzar la estabilidad microbiológica o mejorar la aceptabilidad sensorial, y/o aumentar la vida útil y/o satisfacer los hábitos locales de la población, así como de las empresas que los procesan (Argaiz *et al.*, 1995; Alzamora *et al.*, 1993). Lo que ha llevado a realizar una gran variedad de investigaciones a nivel científico, como de aplicación en diversas frutas con resultados significativos, y sobre todo de utilidad para pequeños productores, ya que se requiere de infraestructura y materiales accesibles para ellos, con lo cual se ha contribuido a su desarrollo económico y social.

Por ejemplo, se puede combinar una reducción del pH y una reducción de la a_w hasta un nivel que sea organolépticamente aceptable, y que además sea más estable debido a que la célula requiera energía adicional para resistir la reducción de la a_w aunada al pH más bajo que inhibe el crecimiento de los microorganismos. Si además se adicionan ácidos orgánicos débiles (conservadores), los efectos del pH y de la a_w se amplifican.

Los métodos combinados se han aplicado a diversos alimentos mínimamente procesados. Por ejemplo, alimentos con pH reducido y adición de antimicrobiano naturales o sintéticos; alimentos fermentados; alimentos envasados con exclusión de oxígeno; y los alimentos con a_w reducida (deshidratación parcial o por adición de humectantes como sales o azúcares), que se lleva a cabo en conjunto con la acidificación y adición de agentes antimicrobianos, entre otros.

Esta tecnología se ha aplicado obteniendo resultados exitosos, así por ejemplo, Alzamora *et al.* (1995) aplicaron la tecnología de barreras en mango, chicozapote, papaya, piña y durazno, utilizando escaldado durante 1 a 3 minutos con vapor saturado, el cual es un tratamiento térmico muy ligero; también se bajó la a_w levemente a valores de 0.93 a 0.98 adicionando glucosa o sacarosa; de igual forma se disminuyó el pH ligeramente, llegando a valores de 3.0 a 4.1 mediante la adición de ácido cítrico, ácido fosfórico, y mezclas de los mismos; además se adicionaron antimicrobianos como el benzoato de sodio o el sorbato de potasio a 1000 ppm, y el bisulfito o sulfito de sodio a 150 ppm. Con estos niveles de estrés se logró una vida útil de 3 a 8 meses a temperatura

ambiente, lo cual es un gran avance considerando que estos productos tienen una vida útil relativamente corta cuando se encuentran frescos (naturales), la cual va de días hasta unas pocas semanas si se almacenan bajo refrigeración. Cabe mencionar que también se llevaron a cabo operaciones preliminares como selección, lavado, pelado y cortado.

Argaíz (2004, citado en González-Miguel y López- Malo, 2010) tras varios años de investigaciones, propuso la conservación de frutas mediante la deshidratación osmótica con jarabes adecuados que permitan las condiciones deseadas de equilibrio de a_w , pH y contenido de antimicrobianos. Así, para diversas frutas como piña, papaya, durazno, manzana, y cereza, utilizó soluciones estabilizadoras con a_w entre 0.92 a 0.98 utilizando principalmente sacarosa, glucosa y sus combinaciones; y con pH entre 3.1 a 3.9. Además utilizó conservadores como sulfitos y sorbato de potasio en concentraciones de 150 a 560 ppm, y 0.1 a 0.22 % respectivamente. Así mismo utilizó acidulantes como ácido ascórbico al 1%. De esta forma logró que la vida de anaquel a temperatura ambiente fuera mayor a seis meses en todos los casos. En todos los casos se acondicionó la materia prima (lavado, cortado y escaldado).

De igual forma, la FAO (2004 y 2007), ha promovido la aplicación de los métodos combinados en la transferencia de tecnología en diversas comunidades de Latinoamérica principalmente con diversas frutas. Por ejemplo, en fresa, durazno, melón, papaya, y piña, de diversas formas (frutas de alta humedad por infusión húmeda, y frutas de humedad intermedia por infusión seca) para obtener productos autoestables una vez alcanzado el equilibrio con el humectantes (sacarosa), conservadores (sorbato de potasio y bisulfito de sodio) y acidificante (ácido cítrico). Logrando de esta manera pH finales entre 2.3 a 2.84 en jarabes, y 2.4 a 4.7 en la frutas estabilizadas; y ° Brix finales de 27.7 a 35.3 en jarabes y de 26.1 a 35.8 en frutas estabilizadas, correspondientes a a_w finales de 0.93 a 0.94. Cuando se partió de infusiones con pH de 2.7 a 3.2, a_w de 0.97 y ° Brix de 19.4 a 31.9. Además se llevaron a cabo las operaciones preliminares (lavado, desinfección, pelado y pesado) a los tratamientos.

1.2 Alimentos funcionales

El acelerado estilo de vida, propio de finales del siglo XXI, ha generado importantes cambios en materia de alimentación a nivel mundial. Los nuevos y algunas veces poco saludables hábitos alimenticios de la población junto con el sedentarismo y el estrés inducen al incremento de enfermedades como la diabetes, la obesidad, y cáncer entre otras, que se convierten en un problema de salud pública en muchos países (Guesry, 2005).

En busca de una respuesta a dichos problemas de salud, y gracias a los importantes avances científicos y al desarrollo tecnológico, actualmente se pretende fomentar el consumo de alimentos, que además cumplan con los requerimientos de una nutrición básica, aporten beneficios adicionales para la salud y el bienestar de la población, teniendo en cuenta sus características genéticas, ambientales, sociales y culturales (Roberfroid, 1999), tal como lo son los alimentos funcionales.

El término de alimento funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos de uso específico de salud" (Foods for Specified Health Use" o FOSHU) y que se refiere a aquellos alimentos procesados que contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutricional (Hennesy, 2015). Actualmente se ha definido como "aquellos que contienen componentes con una característica particular relacionada con funciones específicas del organismo, provocando un efecto fisiológico positivo saludable".

Estos alimentos pueden estar destinados a toda la población o a grupos determinados, que se pueden definir, por ejemplo, según su edad o su constitución genética (Araya y Lutz, 2003); así como para la prevención de enfermedades crónicas, ya que se supone que tiene efectos beneficiosos fisiológicos, estos alimentos tienen bioactivos específicos agregados por sus beneficios para la salud, contienen una cantidad mayor de nutrientes promocionando comodidad a los consumidores (Pringsulaka *et al.*, 2015). Por ello, el mercado mundial de alimentos y bebidas funcionales ha crecido de manera interesante, ya que pasó de \$ 33,000 millones en el año 2000 a casi \$177,000 millones en el año 2013, que representa el 5% del mercado global de alimentos (Granato *et al.*, 2010).

A los alimentos funcionales se les considera como productos que se consumen en cantidades adecuadas y que pueden ayudar a la salud, siendo los principales aquellos que pueden reducir el riesgo de contraer enfermedades degenerativas, tales como las cardiovasculares, cáncer, hipertensión, osteoporosis, degeneración macular y diabetes, etc.

Los alimentos funcionales han sido desde su origen una alternativa de salud, ya que las autoridades sanitarias de Japón determinaron que era necesario controlar los gastos en salud pública, derivados de la mayor expectativa de vida de la población adulta. Además debían generar las condiciones para una mejor calidad de vida, lo que se logró con el desarrollo de alimentos específicamente para mejorar la salud y para reducir el riesgo de contraer enfermedades. Esto se debe a sus

ingredientes (antioxidantes, prebióticos, probióticos, ácidos grasos omega-3, ácido fólico, fitoesteroles, fitoestrógenos, entre otros), los cuales son además la base para su clasificación (Valenzuela *et al.*, 2014; Vega, 2003).

Se pueden considerar de varios tipos, así se tienen productos procesados fortificados diseñados específicamente, para contener proporciones adecuadas de compuestos nutrientes y no nutrientes como fibra, vitaminas, minerales, etc.; productos con microorganismos vivos (probióticos) y otros compuestos que estimulan su crecimiento (prebióticos); algunos fitoquímicos como los compuestos fenólicos (monofenoles, flavonoides, antocianinas, isoflavonas, fitoestrógenos, ácidos fenólicos), isoprenoides (carotenoides, fitoesteroles, ácidos grasos poliinsaturados), betalainas, y compuestos sulfurados (glucosinolatos y antioxidantes, principalmente. Estos alimentos pueden estar destinados a toda la población o a grupos determinados, que se pueden definir, por ejemplo, según su edad o su constitución genética (Araya y Lutz, 2003).

1.2.1 Antioxidantes

La capacidad antioxidante (anti-radicales libres) es la propiedad de los alimentos funcionales más explotada comercialmente debido al interés que ha surgido por una gran parte de la población para tener una vida más saludable, lo que ha permitido que la industria alimentaria diseñe productos a base de nuevos ingredientes con dichas características.

La industria alimentaria utiliza antioxidantes adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación o prevenirlos, como por ejemplo prevenir la rancidez oxidativa de los lípidos. Por ello, en el mercado existe una amplia gama de alimentos con propiedades antioxidantes como: jugos, bebidas (refrescantes, lácteas, isotónicas, energizantes, etc.) hechas a base de frutas, verduras y hortalizas; así como productos lácteos, cárnicos y vegetales adicionados con estos.

Los antioxidantes son sustancias que retardan e inhiben la oxidación de sustratos susceptibles al ataque de las especies reactivas al oxígeno. Forman parte de los alimentos de consumo cotidiano que pueden prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos. Las propiedades antioxidantes se deben a las interacciones químico-biológicas, y la función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos.

La función antioxidante está asociada al proceso de óxido-reducción, el cual se refiere a dos momentos de forma general: a) oxidación que implica pérdida de electrones de hidrógeno con la

ganancia de oxígeno en la molécula, b) reducción que significa ganancia de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno. Así el oxidante se reduce al reaccionar con aquella molécula que oxida.

El proceso anterior se lleva a cabo de manera cotidiana en el organismo humano y representa el conocido par óxido-reductor o balance redox. Por lo que la oxidación no sólo se refiere a ciertas sustancias aisladas sino a procesos celulares, internos que conllevan la aparición de enfermedades.

Los antioxidantes se pueden clasificar en endógenos o exógenos de acuerdo a la fuente de donde se obtienen: endógenas: superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), y catalasa (CAT); y exógenas vitamina E, vitamina C, betacarotenos o provitamina A, Fenoles (flavonoides), y quercetina. Los primeros son normalmente bio-sintetizados por el organismo, mientras que los segundos son incorporados al organismo a través de la dieta.

Además se consideran antioxidantes a otros compuestos como los omega-3, el ácido lipóico, bilirrubina, el ácido fólico, los fitoesteroles, los fitoestrógenos, y los compuestos fenólicos (Rosillo Zevallos, 2016).

1.2.1.1 Compuestos polifenólicos

La mayoría de los alimentos de origen vegetal contienen una gran variedad de nutrimentos con propiedades antioxidantes, tales como las vitaminas C y E, los carotenoides, flavonoides (incluyendo flavonas, isoflavonas, flavononas, antocianinas y catequizas), y polifenoles, los cuales son fuertes antioxidantes y contribuyen por lo tanto a la capacidad antioxidante total (Gutiérrez Zavala, et al. 2007).

Los compuestos polifenólicos son uno de los grupos más numerosos y representativos de metabolitos secundarios de vegetales. Son sustancias biológicamente activas que proporcionan un beneficio al organismo en contra diversas enfermedades, inhibición de tumores, activación de los sistemas de detoxificación hepáticos, bloqueo de las vías metabólicas que pueden ocasionar carcinogénesis, y la protección contra lesiones celulares y subcelulares, protección del organismo contra dermatitis, fiebre, gonorrea, arterioesclerosis hiperlipidemia, inflamaciones, lesiones celulares y subcelulares entre otras.

Los compuestos polifenólicos son metabolitos secundarios de los vegetales, cuya estructura tienen al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo y conforme aumenta el número de sustituyentes, se va incrementando la complejidad de la estructura. Se han identificado aproxi-

mamente 8,000 compuestos polifenólicos, la mayoría con una estructura de tres anillos (dos aromáticos: anillos A y B, y uno heterociclo oxigenado: anillo C). Se agrupan en 12 familias, pero en general se clasifican como ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), alcoholes fenólicos, taninos, estilbenos, lignanos, y flavonoides.

Los flavonoides tienen dos anillos aromáticos unidos por una cadena de tres átomos de carbono (C6-C3-C6). Mientras que los taninos son más complejos que se clasifican en hidrolizables y condensados.

Los taninos hidrosolubles están constituidos por unidades de ácido elágico, y pueden estar unidos a una molécula de glucosa. Los condensados contienen unidades de flavan-3-oles, tales como la catequina, los cuales se polimerizan (Mercado-Mercado, *et al.*, 2013).

Los compuestos fenólicos presentan excelentes propiedades de quelación con el hierro y otros metales de transición.

Determinación de polifenoles

El contenido de polifenoles totales se puede determinar mediante métodos que emplean el reactivo de Folin-Ciocalteu (formado del complejo molibdotungstato), los cuales miden la capacidad que tienen los polifenoles para reducir el Mo (VI) a Mo (V), pasando de color amarillo a azul intenso, el cual se cuantifica a 765 nm.

Todos los métodos se basan en la oxidación total de todos los compuestos capaces de reducirlo, pero difieren en las concentraciones que usan del reactivo de Folin-Ciocalteu, en el tipo de base (carbonato o hidróxido de sodio) y su concentración utilizada para alcalinizar el medio, en los tiempos de incubación (3-120 min) para la reducción del reactivo, y en las temperaturas de incubación de las muestras (20-50 °C).

El contenido de polifenoles totales se expresa generalmente como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de alimento, debido a que el ácido gálico es un compuesto fenólico simple empleado como estándar de comparación.

Sin embargo, también se puede utilizar como estándar de comparación y expresión de resultados polifenoles a la catequina o catecol, y a los ácidos tánico, clorogénico, caféico, vanílico y ferúlico.

1.2.1.2 Ácido ascórbico (vitamina C)

El ácido ascórbico (vitamina C), es un compuesto hidrosoluble de seis átomos de carbono relacionado con la glucosa. Puede presentarse en dos formas químicas interconvertibles en equilibrio fisiológico: ácido ascórbico (forma reducida) y ácido dehidroascórbico (forma oxidada), ambas con funciones biológicas. Existe también una tercera forma: ácido dicetogulónico, el cual se forma cuando el ácido dehidroascórbico es hidratado en disolución neutra o alcalina; este no es activo biológicamente.

Los seres humanos no sintetizan el ácido ascórbico debido a que carecen de la enzima (gulonolactona oxidasa) que participa en la etapa terminal de la síntesis de éste, por ello deben consumirlo en la dieta, principalmente de los vegetales ya que son fuentes de éste, por ejemplo los cítricos, kiwi, fresas, brócoli, lechuga, y otros, aunque su contenido depende de la especie, estado de maduración (generalmente aumenta con la maduración), área geográfica, y condiciones de almacenamiento postcosecha (Ciancaglini *et al.*, 2001).

La dosis recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es de 90 mg al día para hombres y 75 mg para mujeres, ya que es fundamental para diversos procesos metabólicos (Gutiérrez *et al.*, 2007; Rosillo Zevallos, 2016):

- Actúa como cofactor en diferentes reacciones enzimáticas. Por ejemplo tiene función como coenzima de las hidroxilasas de prolina y lisina, las cuales hidroxilan la lisina y prolina en el protocógeno, necesarias para formar enlaces cruzados que dan origen a las fibrillas del colágeno, y como consecuencia la formación del tejido conjuntivo normal, para la formación de los huesos (el tejido óseo contiene una matriz orgánica con colágeno) y para la curación de heridas; para de carnitina y de algunos neurotransmisores; en la síntesis de hormonas esteroideas y prostaglandinas; en la síntesis y metabolismo de neurotransmisores; tienen acción inmunoestimulante, curación, cicatrización y consolidación de lesiones óseas.
- La carencia de ácido ascórbico incrementa la fragilidad de los capilares y consecuentemente la producción de heridas, como por ejemplo en el caso del escorbuto, el cual está asociado con la disminución de la capacidad de curar heridas, la aparición de hemorragias, anemia, osteoporosis, mayor susceptibilidad a infecciones, debilidad muscular y fatiga.
- En niños puede causar anormalidades y hemorragias óseas.
- Es un antioxidante hidrosoluble intracelular con alto poder reductor debido a su gran capacidad para donar electrones. Esta propiedad se basa en dos procesos: primario (inactivación directa de especies reactivas y metales oxidados); y secundario (restablecimiento sistemas

redox). Por lo que puede atrapar una gran variedad de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno en medios acuosos.

- Así mismo participa en el metabolismo intermediario y oxidativo, en la reabsorción de hierro (necesario para la respuesta inmune), ya que lo reduce (estado ferroso) en el estómago; participa en el incremento de absorción y depósitos de hierro corporal; protege de la oxidación a algunas vitaminas como la A, E y algunas de las B; favorece la utilización del ácido; es un antioxidante biológico, por lo que protege al organismo del estrés oxidativo.

Desde el punto de vista de tecnología de alimentos, se usa en una gran variedad de alimentos, por razones nutricionales y tecnológicas:

- Para la fijación del oxígeno, ya que en alimentos embotellados o enlatados, el oxígeno contenido reacciona con otras moléculas del alimento, provocando decoloración, rancidez, entre otras.
- Para fijar los radicales libres y para controlar el pardeamiento.
- Como un indicador de la pérdida vitamínica de alimentos durante su procesamiento y almacenamiento, debido a que es un compuesto inestable, resultado de la facilidad con la que se oxida e hidrata, es utilizado.

Por lo anterior, esta vitamina es uno de los aditivos más empleados en la industria de los alimentos, incluso la Food and Drug Administration (FDA, Dirección de Alimentos y Medicamentos), ha clasificado al ácido ascórbico sintético como un aditivo alimenticio "generalmente reconocido como seguro" (Gutiérrez *et al.*, 2007).

Determinación de ácido ascórbico

De forma general, existen dos métodos para la determinación ácido ascórbico en base a las propiedades fisicoquímicas de la molécula: por titulación volumétrica, mediante una reacción de óxido-reducción, los cuales son muy utilizados por su economía. Y mediante métodos instrumentales, los cuales son más utilizados por tener una gran precisión, aunque resulta caro económicamente.

a) Volumetrías redox

La titulación volumétrica es un método cuantitativo, que consiste en medir el volumen de una solución de concentración conocida (patrón) necesario para reaccionar completamente con un compuesto en solución de concentración desconocida, mediante un indicador que tiene un cambio físico apreciable, como por ejemplo cambio de color.

Un método es la titulación yodimétrica, en la cual interviene el yodo como agente oxidante. Se basan en la reacción entre el yodo y el ácido ascórbico con una estequiometría 1:1, por lo que el punto final de la titulación, el número de moles de yodo reducido es equivalente a los moles de ácido ascórbico oxidado. Se utiliza almidón como indicador, ya que forma un complejo de color azul intenso al reaccionar con el ácido ascórbico. Por ello, al adicionar el yodo, el ácido ascórbico reducido desaparecerá, ya que pasará a yoduro, y el ácido ascórbico se oxidará; y cuando el ácido ascórbico reducido se agote, el yodo no desaparecerá, sino que se unirá al almidón, apareciendo el color azul, lo que indica el fin de la titulación.

Una desventaja de este método, es que también actúa sobre otras sustancias reductoras diferentes del ácido ascórbico, por lo tanto, el volumen de la solución de yodo consumida se incrementa, y consecuentemente el del contenido de ácido ascórbico. De igual forma, las soluciones de las muestras a analizar deben prepararse inmediatamente antes de ser tituladas, ya que el ácido ascórbico se oxida con el aire, y por tanto, es menor el volumen de la solución de yodo consumida. Así mismo, debido a que el almidón se hidroliza fácilmente a glucosa (azúcar reductor), si la solución de almidón se hidroliza parcialmente, ocasiona un error en la medición. Una desventaja más es que algunos productos muy coloridos pueden enmascarar el color azul, lo que dificulta su medición exacta (Ciancaglini *et al.*, 2001).

Por titulación con 2,6-diclorofenolindoenol, el cual se basa en la reducción de dicho colorante por el ácido ascórbico en solución estándar, de acuerdo al método 967.21 de la AOAC, y se expresa en mg de ácido ascórbico equivalentes a un ml de indofenol. Una desventaja de este método es que sólo determina la forma reducida, por lo que pueden interferir el tratamiento térmico de los alimentos que lo contienen, la presencia de sustancias reductoras como compuestos sulfhídricos, sulfitos, sales ferrosas, etc., así como el color de los productos (Nielsen, 2003).

b) Métodos instrumentales

También se emplean las técnicas polarográficas, debido a las características redox del analito; y en la cual se emplea mercurio como electrodo de trabajo, y pulso diferencial con velocidad de barrido de 10 mV/s.

Así mismo, se utiliza la espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), la cual es muy utilizada en alimentos, debido a las transiciones electrónicas fuertes en la región UV, lo que facilita su identificación y cuantificación.

Otra técnica muy utilizada es la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR o HPLC por sus siglas en inglés), la cual garantiza límites de detección y cuantificación más bajos, y que elimina

los efectos causados por la matriz, los cuales causan interferencias en otros métodos de análisis, y que es de gran utilidad para los estudios cinéticos detallados (Gutierrez *et al.*, 2007).

1.2.1.3 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante total de una muestra no se puede determinar a partir de la medición de los antioxidantes de forma individual, ni tampoco se puede medir directamente. Puede determinarse por los efectos de un compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlada, como en la medición de una muestra oxidante, donde se usan intermediarios o productos finales para valorar la capacidad antioxidante. Por ello, existen diferentes métodos para determinar la capacidad antioxidante total, los cuales son métodos de inhibición y utilizan una especie generadora de radicales libres y otra sustancia que detecta a estas especies, de tal forma que la capacidad antioxidante de la muestra inhibe la generación de estos radicales.

La mayoría de los métodos para determinar la capacidad antioxidante consisten en acelerar la oxidación en una muestra, la cual puede ser evaluada *in vitro* como un indicador indirecto de la actividad *in vivo*.

La capacidad antioxidante de un alimento se debe a las interacciones entre diferentes compuestos con diversos mecanismos de acción de extractos complejos, por lo que existen diferentes métodos para evaluar diversos mecanismos de acción. Los más comunes son: el CUPRAC (capacidad antioxidante reductor de ion cúprico), el ABAP (depleción del 2'-azobis(2-amidopropano), el DMPO (depleción de óxido N-5,5-dimetil-1-pirrolina), el ORAC (capacidad de absorción de radicales oxígeno), TRAP (capacidad antioxidante total), el FRAP (poder antioxidante reductor del hierro), el DPPH (depleción del óxido 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) y el ABTS (depleción del 2, 2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico), entre otros, los cuales pueden ser complementarios (Mercado-Mercado, *et al.*, 2013).

Determinación de la capacidad antioxidante

Los métodos más sencillos y versátiles son el FRAP, el ABTS y el DPPH. El primero se basa que los compuestos antioxidantes reduzcan el ion férrico a ión ferroso, el cual forma un complejo coloreado con el compuesto 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ). Por lo tanto, no evalúa la capacidad neutralizadora de radicales libres, sino la capacidad reductora por transferencia de electrones de la muestra a analizar. Mientras que los métodos ABTS y DPPH evalúan la capacidad para neutralizar radicales

libres modelo. Así el DPPH es un radical libre estable que se solubiliza en metanol y que principalmente es neutralizado mediante un mecanismo de transferencia de hidrógeno. Por su parte el ABTS o método TEAC (capacidad antioxidante en equivalentes de trolox) se forma después de una reacción química (dióxido de manganeso, persulfato potasio, ABAP), enzimática (peroxidasa, mioglobina) o eletroquímica, mediante un mecanismo de neutralización por transferencia de electrones principalmente.

El DPPH solo puede disolverse en medio orgánico, por lo que mide principalmente la capacidad antioxidante de compuestos poco polares; mientras que el ABTS mide la actividad de compuestos hidrofílicos y lipofílicos. Por otro lado, el espectro del ABTS presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, mientras que el DPPH presenta un pico de absorbancia a 515 nm (Mercado-Mercado, *et al.*, 2013).

1.3 Generalidades de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller

Opuntia spp. pertenece a la familia *Cactaceae*, se reproduce en forma sexual o asexual y existen numerosos híbridos interespecíficos; sus especies son endémicas del continente americano que se desarrollan principalmente en las regiones áridas y semiáridas (Flores *et al.* 1995).

Los nopales son tallos modificados (cladodios) de *Opuntia ficus-indica*; están conformados por un tronco y ramas aplanadas que posee cutícula gruesa de color verde de función fotosintética y de almacenamiento de agua en los tejidos. También tienen flores, localizadas en la parte superior de los cladodios, cuya longitud es de 6 a 7 cm, y abren a los 35 a 40 días de su brotación. Sus pétalos son de color amarillo, anaranjado, rojo, rosa; sus sépalos son numerosos de color amarillo claro a rojizo o blanco. Su fruto (tuna) es una baya polisperma de forma ovoide esférica de color verde, la cual toma diferentes colores cuando maduran (blancas, amarillas, anaranjadas, rojas y púrpura), su pulpa es gelatinosa conteniendo numerosas semillas, cuyas dimensiones y coloración varían según la especie (Escobar- Méndez *et al.*, 2011). Su fruto, conocido como tuna, es carnoso, varía en forma, tamaño (67 a 216 g de peso total) y color, dependiendo de la variedad, y tiene la característica de poseer una gran cantidad de semillas, un alto contenido de carbohidratos y una baja acidez, lo que le proporciona un sabor dulce y agradable (Piga, 2004; Cantwell, 1995).

Se considera que el nopal es originario de América tropical y subtropical, aunque se encuentran en una gran variedad de condiciones agroclimáticas, en forma silvestre o cultivada, en todo el continente americano. Además, se ha difundido a África, Asia, Europa y Oceanía donde también se

cultiva o se encuentra en forma silvestre. Sin embargo, los principales productores son México, Túnez, Argentina, Italia, Sudáfrica, Chile, Israel y EE.UU (Álvarez, 2007).

Actualmente se produce en 32 países, siendo en la mayoría de ellos un producto secundario de la producción de forraje o de su uso en la conservación de suelos, por lo que se siembra en plantaciones pequeñas, y como consecuencia son consumidos localmente y no participan en el mercado mundial de exportación. En cambio en México, el nopal representa uno de los recursos más importantes del país, lo cual se reflejó en el incremento de la superficie cosechada en más del doble de 1990 a 2012 (SIAP-SAGARPA, 2013).

En México representa un recurso de gran potencial debido a su gran adaptación a condiciones de fuerte estrés ambiental, por lo que es una alternativa de cultivo para regiones donde difícilmente crecen otras especies, lo cual se debe a que sus raíces son superficiales y extendidas, lo que hace que capten el agua de lluvias escasas que caen en esos ambientes; en cambio con lluvias aisladas inducen la formación de raíces secundarias que aumentan la superficie de contacto con el suelo lo cual facilita la absorción de agua y nutrientes. Cuando se inicia la sequía, las raíces comienzan a contraerse de manera radial contribuyendo a disminuir la pérdida de agua.

De acuerdo con Maki-Díaz *et al.* (2015), México produce el 74 % de nopal a nivel mundial, por lo que es el productor principal, además del consumidor más importante en su forma fresca y procesada (. Por ello, el nopal es uno de los recursos más importantes, ya que la superficie cosechada se incrementó más del doble (5269 - 12 105 ha) entre los años 1990 y 2012 (SIAP-SAGARPA, 2013), debido a que tiene un gran potencial para el desarrollo a su déficit de humedad y climas semidesértico y desértico. Por lo que el mercado extranjero, principalmente el de EE.UU. y Canadá, representa una oportunidad creciente para este producto. Además, esta verdura se considera un alimento funcional, ya que su consumo coadyuda al tratamiento de diversos padecimientos, debido a que es fuente de fibra soluble e insoluble, vitamina C y otros antioxidantes (Peña Valdivia *et al.*, 2012).

1.3.1 Producción de tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller)

La tuna al igual que el nopal, está cobrando gran importancia a nivel mundial con el acceso agresivo de países como Italia, Sudáfrica, Chile e Israel, a los mercados europeos y los Estados Unidos de América (E.U.A.), por lo que México compite con estos países para dominar los mercados externos, sin embargo tiene una ventaja debido a la riqueza de su material genético, en la gran diversidad de

variedades, lo extenso de sus recursos agroclimáticos y la tradición del cultivo y uso de esta planta por los campesinos mexicanos (Ferreira, 2014).

México es el principal productor con 50,000 hectáreas, seguido de Italia con 2,500 hectáreas, Sudáfrica con 1,500 hectáreas, Chile con 1,000 hectáreas, Israel con 300 hectáreas y E.U.A. con 200 hectáreas. La mayoría de los países basan su producción casi totalmente en una sola variedad, en cambio, México cuenta con una gran riqueza varietal que le permite ofrecer al mercado tunas blancas, amarillas, anaranjadas y rojas, lo que muestra una gran ventaja de México para liderar los mercados internacionales de este producto (Morales, 2016). Cabe mencionar que parte de la producción de México es destinada a mercados nacionales e internacionales (Estados Unidos y Canadá) por ser considerada una fruta exótica (SIAP, 2011).

En México, los principales estados productores se clasifican en tres regiones: Sur (Puebla), Centro (Edo. de México e Hidalgo), y Centro-Norte (Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato, Jalisco y Aguascalientes) (Callejos, 2016), produciendo alrededor de 352,374 toneladas por año, de las cuales Puebla produce 61,511.5 toneladas por hectárea al año, con lo que ocupa el tercer lugar (SIAP, 2011); siendo la comunidad San Sebastián Villanueva perteneciente al Municipio de Acatzingo, uno de los productores más importantes, ya que cuenta con 5 mil hectáreas de cultivos tuneños, los campesinos producen 80 mil toneladas anuales de tuna roja, amarilla y verde, de las cuales 10% se va al extranjero, principalmente E.U.A. (Flores, 2016).

Por otro lado, aunque se dice que la exportación de productos agropecuarios se ha convertido en el elemento esencial para el desarrollo de la política de comercio exterior, para la tuna no ha significado un gran paso hacia el desarrollo tecnológico requerido para incursionar con éxito en el mercado internacional, debido a varios factores como: es un producto de corta temporada, no existe tecnología de punta para seleccionar y empacar el producto, es una fruta exótica poco conocida en el ámbito internacional, contiene semillas difíciles de separar de la pulpa sin un proceso industrial, no existe infraestructura de frío; además que la actividad metabólica de las tunas en postcosecha se considera baja por tratarse de frutos no-climatéricos (Corrales, 2014).

Además, de acuerdo con las estadísticas del SIAP-SAGARPA (2016), en México hay una sobreproducción de tuna a nivel nacional en las tres últimas décadas, ya que el volumen de producción pasó de 43,000 toneladas en 1980 a 408,000 toneladas en 2015. Por ello, en épocas de cosecha cuantiosa los precios bajan y en años de escasa producción, los precios suben. Esto se refleja clara-

mente en los precios que alcanza el producto en los meses en que se produce la cosecha. Al principio, con poco abasto, los precios son altos (junio), en plena cosecha los precios son los más bajos (julio y agosto) y al final de la cosecha los precios vuelven a subir (septiembre).

1.3.2 Características morfológicas de la tuna

La tuna se compone de tres estructuras que determinan su calidad (Barbera, 1994):

- La cáscara: corresponde a la parte no comestible del fruto, por lo que a menor peso de esta, mayor será la calidad del fruto. Durante la primera semana después de floración es mayor el crecimiento de la cáscara que el del tejido que origina la pulpa, situación que luego se revierte y el lóculo empieza a expandirse, especialmente los últimos 30 días del desarrollo del fruto, por lo que es fundamental el aporte hídrico en esta etapa.
- La pulpa (porción comestible del fruto): se origina de células papilares de la epidermis dorsal de la envoltura funicular y el funículo. La envoltura funicular contribuye con 90% de la parte comestible y el funículo con el 10%. Durante la cosecha los rangos de sólidos solubles fluctúan entre 10-17 °Brix, siendo el óptimo 13-15 °Brix. Está compuesta principalmente por agua (84-90%) y carbohidratos (10-155 %). En el caso de sólidos solubles se encuentran en un rango de 10-17%, siendo la glucosa y la fructosa los azúcares predominantes. Contiene ácido cítrico (62 mg/100g), ácido málico (23.3 mg/100g) y ácido quínico (19.1 mg/100g), los que contribuyen a su baja acidez (pH de 5.3-7.1 y acidez titulable de 0.05-0.18 % expresada como ácido cítrico), lo que influencia mucho en las operaciones de procesado (Piga, 2004; Stintzing, 2001).
- Las semillas: son de forma discoidal, poseen testa reticulada y arilo lateral angosto. Se encuentran de 100 a más de 400 semillas por fruto, con diámetro de 3 a 4 mm (Cerezal y Duarte, 2005). Se diferencian en semillas viables y abortivas (35-40% del total). Una de las características más importantes que presenta la semilla abortiva es que su envoltura funicular es capaz de desarrollar pulpa, al igual que la envoltura de semillas normales. En un fruto maduro las semillas abortivas se distinguen por su tamaño pequeño y color pardo claro, en contraste con las semillas normales que son de mayor tamaño y de color oscuro (Pimienta, 1990; Scheinvar, 1999). Se han encontrado correlaciones positivas entre el contenido de semillas (número y peso) y el peso total de la fruta, indicando que el mayor tamaño de la fruta está relacionado con el mayor número de semillas.

1.3.3 Propiedades nutritivas y funcionales de la tuna

De manera general, tanto la tuna (fruto) como los cladodios (nopales) de *Opuntia ficus* son fuente de compuestos funcionales y nutricionales como la fibra dietética, constituida de hidrocoloides como los mucílagos; pigmentos como las betalainas, carotenoides; minerales como calcio (15.4 – 32.8 mg/100g), potasio (90– 220 mg/100g) y fósforo (12.8 a 27.6 mg/100 g); y vitaminas como la C (20.0 – 24.1 mg/100g); aminoácidos libres como la prolina, glutamina y taurina; y polifenoles (FAO, 2006; Sarbojeet, 2012).

De manera particular, la tuna es rica en bioactivos con propiedades antioxidantes como el ácido ascórbico (vitamina C), compuestos fenólicos y pigmentos betalainicos (tuna roja); al igual que minerales y aminoácidos como calcio, magnesio, prolina y taurina (Tesoriere *et al.*, 2005; Galati *et al.*, 2003).

Los colores de la tuna que definen sus ecotipos se deben a los pigmentos contenidos, tales como carotenoides, betalainas, xantofilas. Por ejemplo, en el ecotipo púrpura son las betalainas que son hidrosolubles y que son derivados del ácido betalámico, principalmente la betanina e isobetanina; betaxantinas como la indicaxantina; y betacianinas. De igual forma, el ecotipo púrpura posee la mayor concentración de polifenoles totales aproximadamente de 660 mg/L de jugo y de 777.4 mg/ L a 900 mg/ L de pulpa (Rosillo Zevallos, 2016). En el caso del ecotipo blanco o cristalina, se debe a las clorofilas, aunque también contiene polifenoles en un rango de 24.2 ± 13.4 mg ácido gálico/100 mL de jugo (Stintzing *et al.*, 2005) a 45.0 ± 6.3 (Díaz Medina *et al.*, 2007).

Cabe mencionar que estos pigmentos tienen una gran demanda, tanto por los consumidores como por la industria alimentaria, para mantener una dieta saludable y como ingredientes para el diseño de nuevos alimentos, respectivamente.

1.3.4 Pérdidas postcosecha de la tuna

Las pérdidas postcosecha tanto económicas como nutricionales de la tuna son grandes debido a diversos factores, como: su baja comercialización comparada con otros productos hortifrutícolas; su corto periodo de producción (Junio a Julio), así como su alta perecebilidad, lo que hace que su precio disminuya debido a la sobreproducción y oferta (Esquivel, 2004; Corrales *et al.*, 1997); y la gran demanda de la alta calidad de esta (Barbera *et al.* 1991).

Su alta perecebilidad se debe a que es no climatérica, por lo que tiene una bajo índice de respiración y de producción de etileno (Lakshminarayana y Estrella 1978), por lo que los cambios

postcosecha internos (pH, acidez, sólidos solubles, concentración de acetaldehído y etanol) son relativamente bajos.

Es bien sabido que la calidad de los productos hortofrutícolas es fundamental para el éxito en los mercados nacionales e internacionales. Dentro de la calidad, una de las características es la inocuidad, la cual es de suma importancia en el comercio global, que demanda alimentos libres de contaminantes biológicos, químicos y físicos (Avendaño *et al.*, 2007). Además, y con igual grado de importancia está la apariencia física para lograr su aceptación, la cual incluye tamaño, color, grado de madurez, e integridad.

En el caso de la tuna, su calidad depende de los cultivares, los cuales tienen diferencias en el tamaño, tiempo de maduración, contenido de semillas (Mondragón-Jacobo y Pimienta-Barrios 1995 citados en Esquivel, 2004).

El grado de maduración adecuado en que se cosecha la tuna es de suma importancia, debido a que el contenido de azúcar está determinado por este factor, el cual está determinado por los siguientes índices de maduración: color de la cáscara (que es el más importante), cuerpo, tamaño del fruto, firmeza y presencia de espina o gloquideo. Este factor también es relevante, ya que de éste depende la resistencia durante el almacenamiento y la comercialización, ya que por un lado la temperatura ambiente favorece el deterioro (pérdida de peso, ablandamiento, cambio de color y sabor), mientras que las temperaturas bajas (8-10 °C) producen “daños por frío” (Cantwell 1995 citado en Esquivel, 2004).

De acuerdo con la “Norma Mundial del Codex para la tuna Codex Stan 186-1993” y la norma “NMX-FF-030-1995 (Productos alimenticios no industrializados para uso humano fruta fresca. Tuna (*Opuntia spp*) especificaciones)”, se clasifica en tres grados de calidad (extra, primera y segunda), de acuerdo con su peso unitario y su diámetro ecuatorial con las letras A (90 – 105 g / menor de 3.5 cm) , B (105 – 140 g / 3.5 - 4.0 cm) , C (140 – 190 g / 4.1 - 4.9 cm), D (190 – 270 g / 5.0 - 5.9 cm) y E (mayor a 270 g / 6.0 - 7.0 cm). En el grado extra y primera, se encuentran las tunas de todos los tipos comerciales con un tamaño mínimo de 4.1 cm (código C); y el grado segunda para las tunas de todos los tipos comerciales, el tamaño mínimo es el menor de 3.5 cm (código A).

Por lo que los productores mexicanos, incluyendo los de la localidad de Villanueva de Acatzingo, Puebla, las seleccionan para exportación con base a su apariencia (color y ausencia de daños) y tamaño, lo cual es uno de los factores para que el producto sea rechazado en la frontera, con las consecuentes pérdidas. Incluso el mercado nacional también es selectivo, ya que los consumidores

también seleccionan las tunas por los mismos parámetros en los centros de autoservicio o en los mercados simplemente por precio relacionado a dichos parámetros.

Aunado a esto, se tienen las pérdidas durante la comercialización en mercados y centros de autoservicio debido al deterioro con el tiempo y la manipulación de los consumidores.

1.4 Vida de anaquel y vida útil

El desarrollo de nuevos productos alimenticios, las condiciones de operación en las industrias procesadoras de alimentos, la competitividad de los mercados y sobretodo las exigencias del consumidor ante la calidad de los productos, son algunas razones por la que se adaptan tecnologías de conservación y medición de tiempo durante el cual los alimentos son aptos para el consumo desde el punto de vista inocuo y sanitario en el cual se conservan las características sensoriales y funcionales por encima del grado límite de calidad establecido y aceptable (Bolumen, 2005).

La vida de anaquel puede definirse como el tiempo durante el cual el producto envasado y almacenado no se percibe significativamente diferente al producto inicial. Durante este tiempo el alimento sufre una disminución tolerable de su calidad sin llegar a la objetabilidad, es decir, sin que se alcance con un nivel de incumplimiento de alguna norma legal establecida para el producto, usualmente, desarrollada de acuerdo a las características del alimento y su mercado considerando la posibilidad de riesgo físico, químico, nutricional y microbiológico o por evaluación sensorial (Torres, 2009).

Algunos factores fundamentales que influyen en la vida de anaquel de un alimento:

- Formulación
- Procesamiento
- Empaque
- Condiciones de almacenamiento

Por otro lado, la vida útil de un alimento representa aquel periodo de tiempo durante el cual el alimento se conserva apto para el consumo desde el punto de vista sanitario, manteniendo las características sensoriales, funcionales y nutricionales por encima de los límites de calidad previamente establecidos como aceptables (Pinzón, 2007).

Algunos factores fundamentales que influyen en la vida de útil de un alimento:

- Temperatura
- pH
- Actividad de agua
- Humedad relativa
- Radiación (luz)

1.5 Objetivos

General

Evaluar la vida de anaquel mediante la determinación de sus propiedades sensoriales, condiciones de inocuidad, físico-químicas, y antioxidantes de piezas enteras de tuna (*Opuntia ficus indica*) procesada mediante tecnología de obstáculos.

Particulares

1. Aplicar tres formulaciones para el procesamiento de frutas conservadas con tecnologías de obstáculos que se adecuen a las propiedades físico-químicas de la tuna.
2. Seleccionar la formulación óptima mediante la evaluación de sus propiedades sensoriales de manera global con una prueba de preferencia por ordenación.
3. Evaluar la vida de anaquel de tuna conservada de la formulación seleccionada mediante la determinación de sus propiedades funcionales, físico-químicas, microbiológicas y sensoriales.

CAPÍTULO 2

METODOLOGÍA

De acuerdo a los objetivos planteados en el presente trabajo, se utilizó la metodología que se describe a continuación.

2.1 Aplicación de tres formulaciones para el procesamiento de frutas conservadas con tecnologías de obstáculos

Debido a que existe una cantidad significativa de investigaciones sobre métodos combinados en diversas frutas, para establecer las formulaciones que se debían aplicar a las piezas enteras de tuna se recurrió a la investigación bibliográfica para adaptar las que se adecuaron a las propiedades de la tuna, de acuerdo a la siguiente metodología.

2.1.1 Establecimiento de las formulaciones a probar

Las condiciones de los parámetros (pH , a_w inicial y final, y concentración de conservadores) de las tres soluciones de estabilización a probar para el presente trabajo, se determinaron con base a los criterios de procesamiento de frutas conservadas por métodos combinados con propiedades físico-químicas similares a la tuna; así como tomando en cuenta los parámetros para este fin, como son los valores de tuna fresca de a_w , pH , °Brix y humedad.

2.1.2 Procesamiento de tuna conservada por métodos combinados

Una vez establecidas las formulaciones, se llevó a cabo el procesamiento con las tres formulaciones tal como se detalla a continuación y de acuerdo a la figura 2.1.

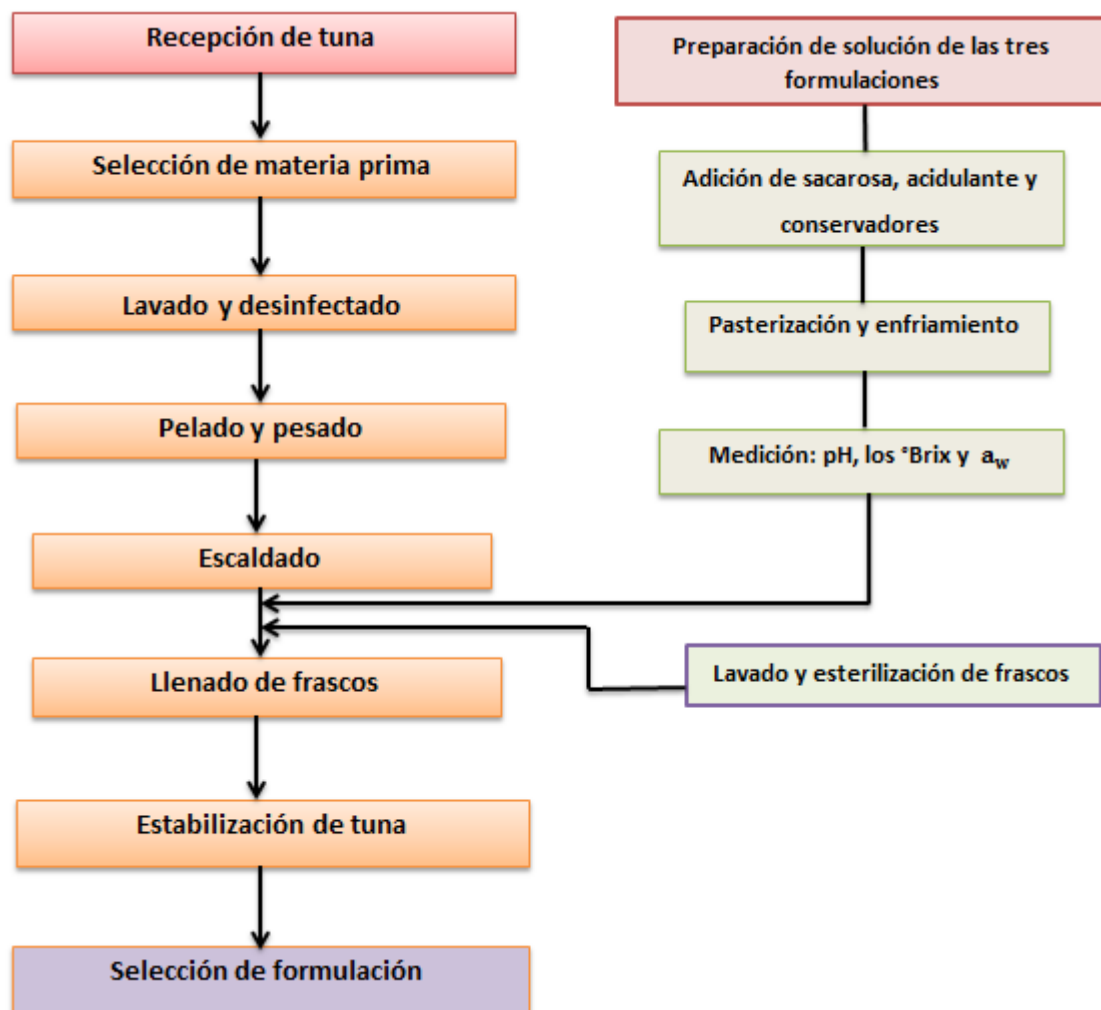


Figura 2.1 Diagrama de flujo del proceso de tuna conservadas por métodos combinados

1. Selección de materia prima

Se seleccionaron tunas de tamaño mediano, de color verde uniforme, con textura firme y lisa, sin daños y de aspecto fresco; las cuales fueron de la variedad o ecotipo cristalina adquirida de un productor de la comunidad de Villanueva del municipio de Acatzingo, Puebla.

2. Lavado y desinfectado

Se lavaron las tunas con agua corriente, y enseguida se procedió a su desinfección por inmersión con una solución de hipoclorito de sodio al 2.5 % por 10 minutos.

3. Pelado y pesado

Se eliminó la cascará a la tuna manualmente con cuchillo, cortando primero los extremos, y posteriormente se hizo un corte ligero en un lado para eliminar toda la cáscara. Finalmente se pesó la fruta.

4. Escaldado

Enseguida se llevó a cabo el escaldado por inmersión en agua a una temperatura de 70 °C por un minuto.

5. Preparación de las soluciones de estabilización

Se prepararon las tres soluciones de estabilización (tabla 2.3) utilizando ácido cítrico como acidulante, sorbato de potasio y metabisulfito de sodio como conservadores y sacarosa como humectante o depresor de la actividad de agua. Los primeros tres de grado alimenticio marca “Fabsa”; y la sacarosa de grado comercial marca “Aurrera”.

Para calcular la a_w inicial (0.94, 0.95 y 0.96 de la formulación 1, 2 y 3 respectivamente), se utilizó la ecuación de Norrish (ecuación 2.1); mientras que para obtener la a_w de equilibrio o final 0.94, 0.92 y 0.93, respectivamente, se utilizó la ecuación de Ross (ecuación 2.2).

$$a_{whm}^{\circ} = X_1 \exp (-k X_2^2) \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Dónde:

a_{whm}° = actividad de agua del humectante

X_1 = fracción molar del agua

X_2 = fracción molar del humectante

k = constante del humectante (6.47 para sacarosa Chirife *et al.*, 1980)

$$a_{weq} = a_{wmu}^{\circ} * a_{whm}^{\circ} \quad (\text{Ecuación 2.2})$$

Dónde:

a_{weq} = actividad de agua en el equilibrio

a_{wmu}° = actividad de agua de la muestra

a_{whm}° = actividad de agua del humectante

Las soluciones de sacarosa y agua se pasteurizaron a 90°C por 5 minutos, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se adicionó el ácido cítrico, el sorbato de potasio y el metabisulfito de sodio.

Posteriormente se procedió a medir el pH, los °Brix y la a_w de las soluciones estabilizadoras por triplicado.

6. Lavado y esterilización de frascos

Los frascos se lavaron con detergente y se esterilizaron con vapor durante 20 minutos en ollas de acero inoxidable.

7. Llenado de los frascos

Se colocó una tuna en cada frasco previamente adicionado el almíbar a temperatura ambiente, y se cerraron.

8. Estabilización de la tuna

Las muestras se dejaron reposar por siete días en un lugar sin luz, con agitación manual tres veces al día; monitoreando el color e integridad de la fruta, así como el color y claridad de la solución estabilizadora.

9. Selección de la formulación óptima

La selección de la formulación óptima para conservar la tuna por métodos combinados se llevó a cabo de acuerdo a las propiedades percibidas a simple vista y a los resultados obtenidos en la evaluación sensorial como se describe a continuación.

2.2 Selección de la formulación óptima para conservar la tuna por métodos combinados

Dado que las formulaciones establecidas cumplieron con los requerimientos plateados de conservación, y debido a que tenían casi las mismas características de forma visual, el segundo criterio para seleccionar la mejor fue con base a su aceptación sensorial, debido a que las propiedades sensoriales son fundamentales en un producto alimenticio.

Por ello, en esta primera parte se aplicó una prueba de preferencia por ordenamiento para determinar la formulación con las mejores características sensoriales, utilizando la ficha mostrada en

la Figura 2.2, la cual se aplicó a 27 jueces no entrenados entre 15 a 45 años, de los cuales 52 % fueron mujeres y el resto hombres.

FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE TUNA PROCESADA			
Nombre _____ Edad _____ Femenino _____ Masculino _____			
Instrucciones: ordena las tres muestras de acuerdo a su sabor, de la que te guste más a la que te guste menos. Escribe sobre la línea el código correspondiente.			
Más	Intermedio	Menos	
1. _____	2. _____	3. _____	
Comentarios: _____			

¡MUCHAS GRACIAS!			

Figura 2.2. Ficha de evaluación sensorial por ordenación para la evaluación de las tres formulaciones de solución estabilizadora de tuna procesada

2.3 Evaluación la vida de anaquel de la formulación seleccionada para la de tuna conservada por métodos combinados

Una vez seleccionada la formulación óptima, se procedió al procesamiento de la tuna por métodos combinados utilizando el mismo procedimiento descrito en el apartado 2.1.2. Para ello, se realizaron 20 repeticiones para llevar a cabo la evaluación de la vida de anaquel mediante la evaluación sensorial, y los análisis microbiológicos, físico-químicos y de antioxidantes, tal como se muestra en la figura 2.3, y como se describe a continuación.

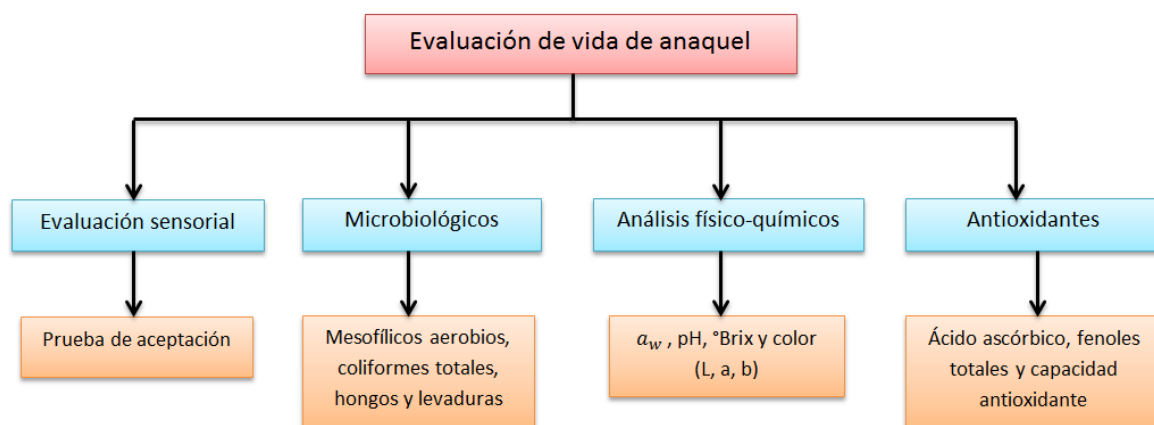


Figura 2.3 Diagrama de flujo para la evaluación de vida de anaquel de la formulación seleccionada

Para determinar la vida de anaquel de la tuna conservada por métodos combinados se llevaron a cabo los análisis físico-químicos y de antioxidantes durante aproximadamente cada 30 días los primeros 3 meses (41, 67 y 97 días) y una final aproximadamente a los seis meses (205). Cabe mencionar que estos no se pudieron llevar a cabo exactamente cada 30 días debido a la falta de disponibilidad de equipos y espacios. En el caso de los análisis microbiológicos sólo se pudieron llevar a cabo a los días 41, 80 y 187 por los mismos motivos expuestos anteriormente para los físico-químicos.

Respecto a la evaluación sensorial se llevó a cabo después de cumplido el tiempo de estabilización el cual debía ser a los siete días, sin embargo se pudo llevar a cabo hasta el día diez.

2.3.1 Evaluación sensorial

Una vez cumplido el tiempo de estabilización de la tuna conservada por métodos combinados, se llevó a cabo la evaluación sensorial para determinar el grado de aceptación. Para ello se empleó una ficha con escala hedónica de cinco puntos (figura 2.3), aplicada a 30 jueces no entrenados entre 15 a 45 años, de los cuales el 53 % fueron mujeres y el 47 % hombres.

FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL NDE TUNA PROCESADA				
Nombre _____ Edad _____ Femenino ____ Masculino ____				
Instrucciones: observa el color y olor, posteriormente prueba la muestra y evalúa cada una de las características con una X.				
Parámetro	Color	Olor	Sabor	Textura
Me gusta mucho				
Me gusta				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta				
Me disgusta mucho				
Comentarios: _____				
¡MUCHAS GRACIAS!				

Figura 2.4 Ficha de evaluación sensorial para prueba de aceptación de tuna procesada

2.3.2 Análisis microbiológicos

El análisis microbiológico se realizó de acuerdo a los siguientes métodos:

- Mesofílicos aerobios por vaciado en placa (NOM-092-SSA1-1994).
- Hongos y levaduras por vaciado en placa (NOM-111-SSA1-1994).
- Coliformes totales por la técnica del NMP (NOM-112-SSA1-1994).

Reactivos

Lauril sulfato de sodio marca “Difco”. Peptona de caseína marca “MCDOLAD”. Agar para métodos estándar marca “BD Bioxon”. Agar dextrosa y papa marca “BD Bioxon”

Procedimiento

I. Mesofílicos aerobios (cuenta estándar)

La presencia de los microorganismos mesofílicos aerobios refleja la calidad sanitaria con la que fueron elaborados los productos o alimentos analizados, además de las condiciones higiénicas propias de la materia prima y su manipulación durante su procesamiento. Estos pueden ser indicadores de la presencia de patógenos o sus toxinas sin embargo tienen un valor limitado, por lo que tampoco

significa que un alto recuento de estos indique la presencia de patógenos. Además de las ya mencionadas, su presencia también puede indicar alteraciones en el producto por altos recuentos, incluso si existen tasas mayores de 10^6 - 10^7 por g nos indican un grado de descomposición (Pascual y Calderón, 2000).

Para su determinación, se empleó la técnica de vaciado en placa de acuerdo con la NOM-092-SSA1-1994.

Técnica de vaciado en placa

Procedimiento:

1. Realizar diluciones seriadas de cada una de las muestras de 10^{-1} a 10^{-3} en tubos de ensayo con tapón de rosca.
2. Inocular 1 mL con ayuda de las pipetas estériles cada una de las diluciones en cajas petri estériles, previamente rotuladas por duplicado.
3. Agregar de 15 a 20 mL de Agar Cuenta Estándar fundido (mantenido a 45 °C en baño María).
4. Homogenizar el inóculo con el medio y dejar solidificar.
5. Incubar las cajas invertidas a 35 °C $\pm$ 2 °C por 48 $\pm$ 3 h.

II. Hongos y levaduras

Los hongos y levaduras constituyen una parte importante del ambiente así como en la elaboración de ciertos alimentos, los cuales requieren de condiciones extremas como por ejemplo bajos niveles de pH, altas concentraciones de sal o carbohidratos, baja temperatura de almacenamiento, baja humedad, etc. que favorecen el crecimiento. La importancia de su determinación radica en que algunos de estos microorganismos pueden causar problemas a la salud debido a la producción de micotoxinas; manifestando una resistencia al calor, congelamiento, antibióticos o irradiación e incluso alterando algunos sustratos y favorecer el crecimiento de ciertos microorganismos patógenos (Camacho *et al.*, 2009).

Para su determinación, se empleó la técnica de vaciado en placa en base a la NOM-111-SSA1-1994.

Técnica de vaciado en placa

Procedimiento:

1. Realizar diluciones seriadas de cada una de las muestras de 10^{-1} a 10^{-3} .

2. Inocular con ayuda de una pipeta estéril 1ml de las diluciones de cada una de las muestras en cajas petri estériles, por duplicado y previamente rotuladas.
3. Agregar de 15 a 20 mL de agar PDA fundido (mantenido a 45 °C en baño María) y previamente acidificado. Para lograr acidificar el medio a un pH de 3.5, adicionar por cada 100.0 mL de agar, 1.4 mL de ácido tartárico al 10% esterilizado por filtración en membrana, o bien esterilizar la solución a 121°C±1°C durante 15 minutos.
4. Homogenizar el inóculo dentro del medio y dejar solidificar.
5. Incubar una serie de placas a 25 °C por 5 días y la otra serie la incubar a 35 °C por 48 h.
6. Revisar las placas a las 48 y 72 h, y hacer el recuento. Si no hay presencia de hongos en ese tiempo dejar incubar hasta los 5 días.
7. Contar las colonias de hongos en la serie incubada a 25 °C, así como la serie de levaduras a 25 y 35 °C.
8. Contabilizar y multiplicar por el inverso de la dilución para reportar los resultados obtenidos.

III. Organismos coliformes

Los coliformes se dividen en dos grupos: totales y fecales. Los coliformes totales son aquellos que indican la presencia de algún tipo de microorganismo no estrictamente intestinal, sin embargo permiten demostrar la presencia de coliformes fecales, específicamente de *E. coli* (UNAM, 2012).

Método del número más probable (NMP)

Procedimiento:

Esta prueba consiste de tres etapas: prueba presuntiva, prueba confirmativa y prueba confirmativa de coliformes fecales.

a) Prueba presuntiva:

1. Realizar diluciones seriadas de 10^{-1} a 10^{-3} en tubos de ensayo con tapón de rosca.
2. Inocular 1 mL de cada dilución en cada uno de los tubos con caldo.
3. Incubar los tubos a 35 °C por 24 h.
4. Observar los tubos después del tiempo indicado y si hay acumulación de gas en las campanas de fermentación durante ese tiempo realizar la prueba confirmativa, en caso contrario seguir incubando hasta las 48 h.

b) Prueba confirmativa

1. Agitar suavemente los tubos que salieron positivos.

2. Colocar de 2 a 3 asadas de cada tubo al caldo lactosa bilis verde brillante.
3. Incubamos los tubos con el caldo lactosa verde brillante a 35 °C por 48 h, si existe la presencia de gas en cualquier cantidad se considera positiva y se prosigue con la siguiente prueba.
4. Determinar el número de coliformes tomando como base el número de tubos en los que se encuentra el gas.

c) Prueba confirmativa de coliformes fecales

1. Agitar suavemente los tubos con caldo lauril triptosa que resultaron positivos.
2. Colocar de 2 a 3 asadas de cada tubo a los tubos con caldo EC (Eijkman)
3. Incubar los tubos de 44.5 °C en baño María y observar la producción de gas a las 24 o 48 h. Si existe la presencia de gas, hace positiva la prueba.
4. Alternativamente, colocar de 2 a 3 asadas de cada tubo positivo de la prueba presuntiva a tubos con caldo lactosa bilis verde brillante y agua peptonada (Mackenzie)
5. Incubar los tubos a 44.5 °C en baño María y observar la producción de gas a las 24 ó 48 horas.
6. Adicionar al tubo de agua peptonada de 2 a 3 gotas de reactivo de Kovac (prueba del indol), si existe una coloración roja hace positiva la prueba.

2.3.3 Análisis físico-químicos

De igual forma para evaluar la vida de anaquel se llevó a cabo la determinación de la actividad de agua, grados brix, pH y color.

I. Determinación de la actividad de agua

Esta determinación se llevó a cabo tanto en la tuna fresca y procesada como en la solución estabilizadora por triplicado con un medidor de agua Aqua Lab CX-2 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA., USA). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

II. Determinación de los grados Brix

Las mediciones de los °Bx se realizaron por triplicado con el refractómetro de bolsillo marca “Atago” modelo PAL-α (Since 1940 Tokyo), previamente calibrado; tanto en la tuna fresca y procesada como en la solución estabilizadora.

III. Determinación del pH

El pH tanto de la tuna fresca y procesada, y del jarabe se determinó por triplicado con un potenciómetro marca Hanna Instruments modelo HI 2221 HI 2223 (Yareth Químicos LTDA, Bogotá D. C. Colombia), previamente calibrado.

IV. Determinación del color

La medición de color se realizó mediante el colorímetro marca Color Flex Spectrocolorimeter Hunter-Lab, modelo S/n de geometría difusa (Reston, Virginia 20190., USA), a través de la escala de Hunter. Esta se llevó a cabo tanto para la tuna fresca como para la procesada por triplicado debido a que en el caso de la tuna tiene color, textura y figura irregular. El colorímetro se calibró previamente con los estándares blanco y negro.

Además se determinó el cambio neto de color (ΔE) utilizando la ecuación 2.3.

$$\Delta E = [(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2]^{1/2} \quad (\text{ecuación 2.3})$$

Dónde:

ΔE = cambio neto de color

L_0 = L al inicio del tiempo de almacenamiento

a_0 = a al inicio del tiempo de almacenamiento

b_0 = b al inicio del tiempo de almacenamiento

L = L al final del tiempo de almacenamiento

a = a al final del tiempo de almacenamiento

b = b al final del tiempo de almacenamiento

2.3.4 Análisis de las propiedades antioxidantes

La evaluación de las propiedades antioxidantes de la tuna se llevó a cabo a partir del contenido del ácido ascórbico y de fenoles totales, así como de la capacidad antioxidante.

I. Determinación del contenido de ácido ascórbico

La determinación de ácido ascórbico se llevó a cabo por el método de Tillman (AOAC 967.21, 1980), tanto para la tuna fresca (a partir de dos muestras) como para la tuna procesada por triplicado.

Reactivos

Ácido ascórbico grado reactivo marca “MEYER”. 2,6-diclorofenolindoenol marca “Macron” Chemicals. Carbonato de sodio (Na_2CO_3) grado reactivo marca “Merck”. Ácido meta-fosfórico grado reactivo marca “J.T.Baker”. Ácido acético glacial grado reactivo marca “Mallinckrodt” Chemicals. Agua bidestilada.

Procedimiento

Preparación de reactivos

Solución extractora: colocar 15 g de ácido metafosfórico pulverizado en 40 mL de ácido acético y 200 mL de agua destilada. Aforar en un matraz volumétrico de 500 mL. Posteriormente, filtrar en un frasco ámbar para evitar su deterioro y se almacena en refrigeración.

Solución de indofenol: colocar 50 mg indofenol, 42 mg de carbonato de sodio en 50 mL de agua destilada y se afora en un matraz volumétrico de 200 mL. Filtrar, transferir a un frasco ámbar y refrigerar.

Solución de ácido ascórbico estándar: en una proporción de 50 mg de ácido ascórbico agregar 50 mL de la solución extractora. Preparar el mismo día de uso.

Estandarización de la solución de indicadora

1. Transferir 2 mL de ácido ascórbico en 3 matraces Erlenmeyer de 50 mL con 5 mL de la solución extractora, y titular con la solución de indofenol hasta observar una coloración ligeramente rosa que persista por 30 s.
2. A la vez, titular 3 blancos con 7 mL de la solución extractora con un volumen de agua destilada, igual al volumen de la solución de indofenol usado en la titulación directa.
3. Al valor obtenido del estándar restar el valor del blanco y la concentración de indofenol expresar como mg de ácido ascórbico en equivalentes a 1 mL de indofenol.

Preparación de las muestras

Pesar aproximadamente 1 g de la muestra fresca, moler en una licuadora con agua durante 30 s, colocarlo en los tubos de centrifugación a 3.6 rpm durante 2 min, después recuperar el sobrenadante y reservar hasta el momento de la titulación.

Determinación de ácido ascórbico en las muestras

1. Colocar 2 mL de la muestra diluida en agua y 5 mL de solución extractora en 3 matraces Erlenmeyer de 50 mL.
2. Titular con la solución de indofenol, hasta observar una coloración ligeramente rosa que persista por 30 s.

El contenido de ácido ascórbico se calcula con la ecuación 2.4:

$$\frac{C \cdot V \cdot FD}{P_0} \times 100 = \text{mg de ácido ascórbico} \quad (\text{ecuación 2.4})$$

Dónde:

C= mg de ácido ascórbico por mL de solución de indofenol

V= mL de solución de indofenol para titular la muestra

FD= Factor de dilución utilizado.

P₀= Peso inicial de la muestra (g)

II. Determinación del contenido de fenoles totales

Su determinación se llevó a cabo mediante la reducción del Mo (VI) a Mo (V) contenido en el reactivo de Folin-Ciocalteu, de acuerdo a Moreno *et al.* (2014) con algunas modificaciones; determinado su concentración a una longitud de onda de 650 nm en un espectrofotómetro UV-V marca Thermo Scientific GENESYS 20 (I.C.T, S. L. Instrumentación Científica Técnica), y expresado como mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de alimento.

Reactivos

Ácido gálico marca "Sigma-Aldrich". Reactivo de Folin- Ciocalteu marca "Merck". Carbonato de sodio (Na₂CO₃) grado reactivo marca "Merck". Etanol absoluto grado laboratorio marca "CTR Scientific". Agua bidestilada.

Procedimiento

Preparación de la muestra

1. Pesar 10.0 g de muestra.
2. Adicionar 50 mL de etanol al 50%.

3. Agitar durante 30 min a velocidad media.
4. Centrifugar a 5000 rpm durante 10 min.
5. Guardar el sobrenadante en frasco ámbar a 4 °C.

Preparación de reactivos

Solución acuosa de etanol 50% v/v.

Solución acuosa de reactivo de Folin Ciocalteu al 10% v/v.

Solución acuosa de Na_2CO_3 al 6% p/v.

Solución de ácido gálico a 100 ppm en etanol al 90%.

Preparación de la curva de calibración de ácido gálico

1. Adicionar a cada vial ámbar 750 μL de solución de reactivo de Folin Ciocalteu al 10%.
2. Agregar el volumen de ácido gálico y etanol al 90% de acuerdo a la tabla 1.
3. Agitar en vórtex durante 30 s.
4. Reposar a temperatura ambiente durante 10 min.
5. Adicionar 750 μL de una solución de Na_2CO_3 al 6%.
6. Agitar en vórtex durante 30 s.
7. Incubar a temperatura ambiente en oscuridad durante 90 min.
8. Medir la absorbancia a 765 nm utilizando como blanco etanol al 90 %.

Notas: Todas las concentraciones se realizan por triplicado y se prepara un blanco.

Al graficar la pendiente debe ser positiva y mayor a 0.980.

Determinación de fenoles en la muestra

Para determinar la concentración de fenoles en la muestra, se repite el mismo procedimiento, sólo que en el paso 2 en lugar del ácido gálico se colocan 100 μL de la muestra diluida 1:9 con agua. Se realiza por triplicado para cada muestra.

La concentración de fenoles se expresa como mg de ácido gálico/100 g de muestra en B.H. La determinación de la capacidad antioxidante se llevó a cabo por el método de DPPH de acuerdo a Moreno *et al.* (2014), con algunas modificaciones. El método DPPH (2,2-difenil-picrahidrazil) evalúa la capacidad para neutralizar estos radicales libres modelo, por los antioxidantes presentes en el la muestra, debido a que el DPPH es un radical libre estable que es neutralizado mediante un mecanismo de transferencia de hidrógeno, medidos a una absorbancia a 517 nm, para ello se ocupó un

espectrofotómetro UV-V marca Thermo Scientific GENESYS 20 (I.C.T, S. L. Instrumentación Científica Técnica. Su determinación se expresa como porcentaje de inhibición mediante la ecuación 2.3 y en mg de trolox por 100 g de muestra.

Tabla 2.1 Volumen adicionado de ácido gálico y etanol para la curva de calibración

Concentración (ppm)	Ácido gálico (μl)	Etanol al 90% (μl)
5	50	950
10	100	900
15	150	850
20	200	800
25	250	750
30	300	700

III. Determinación de la capacidad antioxidante

Todas las mediciones se realizaron por triplicado para las muestras procesadas, así como para la tuna fresca, de la cual se tomaron dos muestras.

Reactivos

2,2-difenol-picrahidrazil (DPPH) “Calbiochem” marca “Merck”. Ácido 6- hidroxí- 2,5,8-tetrametil-chromano-2- carboxílico (Trolox) marca “Sigma-Aldrich”. Ácido gálico marca “Sigma-Aldrich”. Bicarbonato de sodio (NaHCO_3) grado reactivo marca “Merck”. Etanol absoluto grado laboratorio marca “CTR Scientific”. Agua bidestilada.

Procedimiento

Preparación de reactivos

Solución acuosa de etanol 50% v/v.

Solución de DPPH 0.1 mM en etanol.

Solución patrón primaria de Trolox 50 mM en etanol.

Solución patrón secundaria de Trolox 0.50 mM en etanol.

Preparación de la muestra

1. Pesar 10.0 g de muestra.
2. Adicionar 50 mL de etanol al 50%.
3. Agitar durante 30 min a velocidad media.

4. Centrifugar a 5000 rpm durante 10 min.
5. Guardar el sobrenadante en frasco ámbar a 4 °C.

Procedimiento

1. Adicionar 5 mL de solución de DPPH 0.1 mM en un vial ámbar.
2. Incubar a temperatura ambiente durante 7 min.
3. Medir la absorbancia a 515 nm (valor inicial de absorbancia).

Preparación de la curva de calibración

1. En cada vial ámbar, adicionar 500 µL de solución secundaria patrón de Trolox en etanol para obtener concentraciones de 2 a 40 µM.
1. Adicionar 870 µL de etanol y 130 µL de solución de DPPH 0.1 mM.
2. Incubar a temperatura ambiente en oscuridad durante 10 min.
3. Medir la absorbancia a 515 nm.

Notas: Todas las concentraciones se realizan por triplicado y se prepara un blanco.

Al graficar la pendiente debe ser positiva y mayor a 0.980.

Determinación de la actividad antioxidante en las muestras

1. Adicionar 870 µL etanol y 130 µL de solución de DPPH.
2. Adicionar 500 µL de la solución de muestra.
3. Agitar en vórtex durante 30 s.
4. Incubar a temperatura ambiente en oscuridad durante 60 min.
5. Medir la absorbancia a 515 nm

Notas: Todas las concentraciones se realizan por triplicado y se prepara un blanco.

Al graficar la pendiente debe ser positiva y mayor a 0.980.

Los resultados se expresaron como µmol Trolox/100 g de muestra en B.H.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A_{DPPH} - A_{extracto}}{A_{DPPH}} \times 100 \quad (\text{ecuación 2.5})$$

Donde:

- A_{DPPH} : Absorbancia de la muestra blanca de DPPH
- $A_{extracto}$: Absorbancia de las soluciones preparadas

2.4 Análisis de resultados

Todos los resultados de las evaluaciones físico-químicas se analizaron mediante la correlación de Pearson para las variables evaluadas con respecto al tiempo de almacenamiento por medio del software estadístico XLSTAT.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinación de las formulaciones para el procesamiento de frutas conservadas con tecnologías de obstáculos que se adecuen a las propiedades físico-químicas de la tuna

Las condiciones de los parámetros de las tres soluciones a probar para el presente trabajo, se determinaron con base a los siguientes criterios:

- a) La tuna fresca tiene un valor de a_w de 0.97, pH de 5.3 a 7.1, de 11 a 14.8 °Brix, y humedad del 82 al 87 % (ver Tabla 3.1).
- b) La tecnología de barreras se ha aplicado a productos como piña (*Ananas comosus*), durazno (*Prunus pérsica*) y guayaba (*Psidium guajava*), los cuales tienen pH y humedad similares a la tuna (ver Tabla 3.2).
- c) La mayoría de los productos conservados por métodos combinados conocidos como de alta humedad, se parte de soluciones estabilizadoras con a_w de 0.92 a 0.98; pH de 3.0 a 4.1 y concentraciones de sorbato de potasio de 0.1 a 0.22% y de sulfitos de 150 a 560 ppm.
- d) El pH es uno de los factores de estrés más importantes utilizados en la tecnología de barreras, debido a que determina el tipo de microorganismo que puede desarrollarse, así como la efectividad de los conservadores; sin embargo, el pH de la fruta conservada no debe ser tan bajo, para no afectar su palatabilidad de manera negativa.
- e) Acerca de la a_w , si bien es cierto que las bacterias deteriorativas se inhiben a a_w aproximadamente 0.97; las patógenas como los clostridios, *Bacillus* y *Staphylococcus aureus* se desarrollan a a_w de 0.94, 0.93 y 0.86, respectivamente; además la mayoría de hongos y levaduras pueden proliferar a a_w menores de 0.86; sin embargo, en el caso de productos de alta humedad conservados por métodos combinados, al reducir la a_w a valores menores, perderían las características naturales por las que son demandados y como consecuencia, causarían su rechazo por esta razón.
- f) Respecto a la concentración de conservadores, dado que esta tecnología busca conservar alimentos con características similares a los naturales, al igual que en el caso anterior, usar cantidades mayores de estos, implicarían los mismos resultados.

De esta forma, se determinaron las condiciones de las formulaciones de las soluciones estabilizadoras a aplicar en el presente trabajo, las cuales se muestran en la Tabla 3.3.

Tabla 3.1. Propiedades físico-químicas de la tuna reportadas por diferentes autores

Parámetros			
Referencia	pH	Aw	°Bx
Askar y El-Samahy (1981), Piga (2004) y Sawaya <i>et al.</i> (1983)	5.3 a 7.1	--	--
Chaparro <i>et al.</i> (2015)	5.10 ± 0.05* 5.26 ± 0.08+ 5.34 ± 0.07#	--	6.00 ± 0.9 9.3 ± 0.8 12.5 ± 0.9
Gurrieri <i>et al.</i> (2000)	6.4 a 6.5	--	--
Galdino <i>et al.</i> (2016)	5.59 ± 0.010	0.976 ± 0.001	13.03 ± 0.35
Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán (2013)	5.37 ± 0.0	--	13.50 ± 0.3

* tuna verde, + tuna en madurez intermedia, # tuna madura

Tabla 3.2. Propiedades físico-químicas de las frutas de referencia

Parámetro				
Fruta	pH	% Humedad	°Brix	Referencia
Piña	3.2 - 4.0	86	11 – 18	FAO (2003); Coronel Aguilera (2003); Macrae <i>et al.</i> (1993)
Durazno	3.8 - 4.2	77-90	15.0 – 23.2	García (2006); Herrero y Guardia (1992)
Guayaba	3.89 - 4.62	80.05	6.5 - 10.1	Andrade <i>et al.</i> (2009)

Tabla 3.3. Composición de las formulaciones de las soluciones estabilizadoras a seleccionar

Composición	Formulación		
	1	2	3
Agua (%)	53.36	55.87	58.84
Sacarosa (%)	44.81	41.95	38.58
Ácido cítrico (%)	1.65	2.00	2.40
Sorbato de potasio (%)	0.16	0.16	0.16
Metabisulfito de sodio (%)	0.02	0.02	0.02
a_w inicial (teórica)	0.94	0.95	0.96

3.2 Selección de la formulación óptima para conservar la tuna por métodos combinados

Como se sabe, el análisis sensorial es el examen de las propiedades organolépticas (apariencia, olor, aroma, textura y sabor) de un producto que se lleva a cabo con los sentidos humanos. Este tipo de análisis se basa en un conjunto de técnicas y pruebas para la medición precisa de las respuestas humanas a los productos a evaluar, además de minimizar los efectos potenciales de desviación (prejuicios, marcas y otra información que pueden influenciar el juicio del consumidor). Además aporta información útil para el desarrollo o mejoramiento de productos (Stone y Sidel, 1993).

Una de las pruebas para llevar a cabo esta evaluación son las de aceptación, conocidas también como pruebas de nivel de agrado (hedónicas). Se emplean para determinar el grado de aceptación de un alimento por los consumidores, y por lo tanto indican el consumo y compra real que tendrá el producto. Para ello, se usan generalmente pruebas de ordenamiento, de comparación pareada o escalas categorizadas, aunque existen otras pruebas para categorías de productos particulares (Clark *et al.*, 2009).

Para ello, en esta primera etapa, se aplicó la prueba de preferencia utilizando una ficha por ordenación a 27 jueces no entrenados entre 15 a 45 años, de los cuales 52 % fueron mujeres y el resto hombres. Donde la Formulación 2 obtuvo el mayor porcentaje de preferencia (45 %) como se puede observar en el figura 3.1, por lo que fue la seleccionada para trabajar en el presente estudio.

Se considera que esta formulación fue la de mayor agrado debido a que tenía un grado de dulzor y acidez intermedio respecto a las otras dos, lo que la favoreció en su sabor, el cual fue el único parámetro a evaluar.

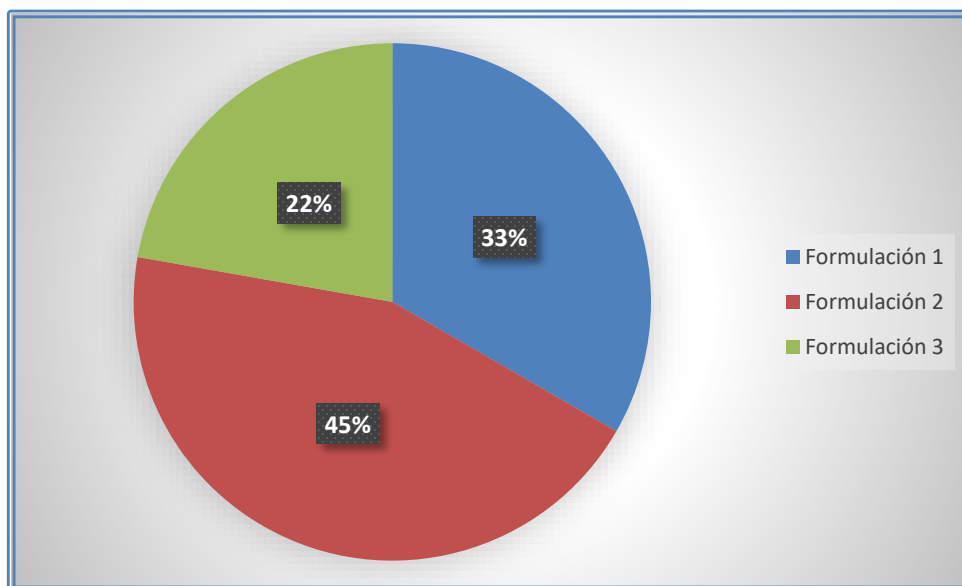


Figura 3.1. Grado de preferencia de las tres formulaciones evaluadas

3.3 Evaluación de la vida de anaquel de tuna conservada de la formulación seleccionado para conservar la tuna por métodos combinados

Una vez seleccionada la Formulación 2, se procedió a evaluar los diferentes parámetros para determinar su vida útil y la de anaquel, aclarando que la primera se refiere al “periodo de tiempo que posee un producto en buen estado para ser consumido sin ocasionar daños a la salud”; mientras que la vida de anaquel es el “tiempo que un alimento o producto puede permanecer en condiciones normales de almacenamiento sin que sufra cambios físicos o químicos que provoquen rechazo del consumidor”.

Esto es de gran importancia para conocer la eficiencia del tratamiento utilizado en la tuna, ya que como en todo producto alimenticio tratado mínimamente, uno de los objetivos es que mantenga sus propiedades similares a los naturales, lo cual incluye sus propiedades nutritivas y funcionales.

3.3.1 Evaluación sensorial de la tuna procesada por métodos combinados

A los diez días de haber alcanzado el tiempo de estabilización, se procedió a realizar la evaluación sensorial para conocer el grado de aceptación. Para ello, se empleó una prueba de aceptación mediante una escala hedónica de cinco puntos con 30 jueces no entrenados entre 15 a 45 años, de los cuales el 53 % fueron mujeres y el 47 % hombres.

De esta forma se observó que todas las características (sabor, color, olor y textura) tuvieron de forma general una aceptación favorable, ya que los porcentajes más altos se obtuvieron para las escalas de “me gusta mucho”, “me gusta”, y “no me gusta ni me disgusta”, como se puede ver en la figura 3.2. Donde además se puede ver que el sabor alcanzó el mayor porcentaje de aceptación (60 %), seguido del color (50 %), los cuales son la segunda y la primera característica (respectivamente) de mayor importancia en la aceptación de un producto alimenticio.

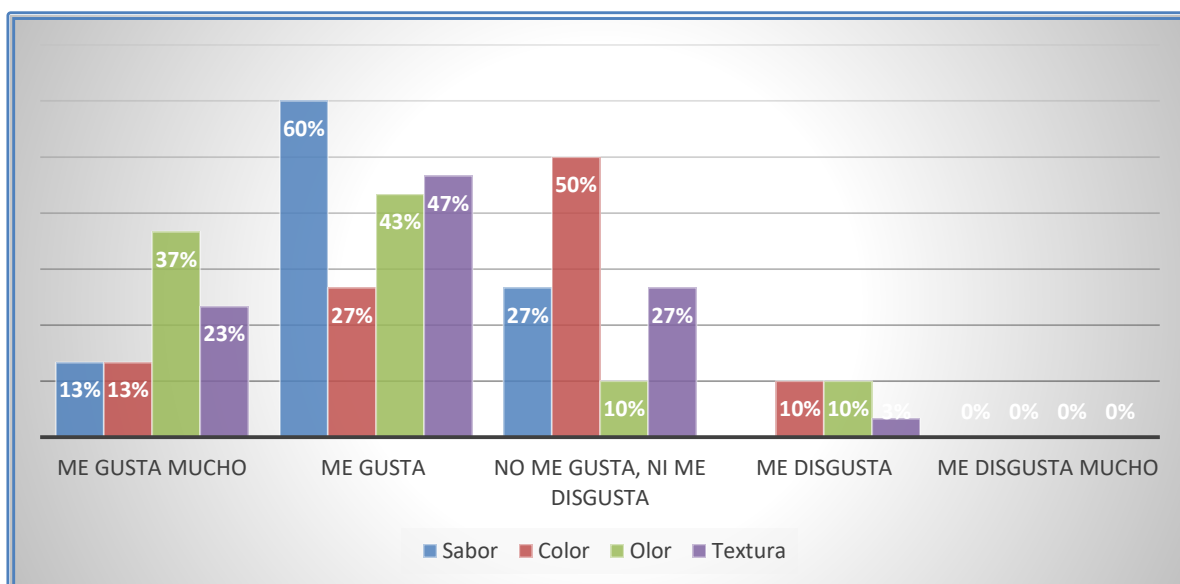


Figura 3.2. Grado de aceptación de la tuna procesada por métodos combinados

De forma específica, estas características obtuvieron puntajes de 3.43 a 4.07 (ver Tabla 3.4), lo que corresponde a una calificación de 7.74, 6.86, 8.14 y 7.8 en una escala del 1 al 10, con una calificación promedio de 7.64.

Por lo que se puede decir que estos resultados son aceptables, si se toma en cuenta que la gente evaluó la tuna como un producto procesado, por lo que probablemente la asoció con un producto en almíbar, y al no tener el grado de dulzor esperado, la evaluó con menor calificación.

Tabla 3.4. Calificaciones obtenidas en la evaluación sensorial de la tuna procesada por métodos combinados

	Sabor	Color	Olor	Textura	Global
x	3.87	3.43	4.07	3.90	3.82
σ	0.63	0.86	0.94	0.80	0.13

3.3.2 Evaluación microbiológica

La calidad microbiológica de los alimentos es fundamental debido a que pueden causar su deterioro disminuyendo su conservación y su vida útil, pero principalmente porque los microorganismos patógenos que pueden causar enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), debido a contaminación como el ambiente o por la manipulación de individuos infectados, a pesar de las medidas preventivas que se lleven a cabo.

Por ello, las normas establecen la calidad microbiológica en términos de microorganismos indicadores, los cuales advierten oportunamente un manejo inadecuado de los alimentos, o bien una contaminación que incrementa el riesgo de la presencia de microorganismos patógenos en estos. Así mismo, estos microorganismos permiten un enfoque de prevención de riesgos, ya que advierten sobre el manejo inadecuado y/o contaminación. Por estas razones, la selección de indicadores en un alimento depende de los riesgos implicados y de la información que se requiera conocer para mejorar, liberar o controlar un alimento.

Así, los principales microorganismos indicadores en alimentos, son:

- a) Cuenta de mesófilos aerobios (o cuenta total) como indicadores de condiciones de manejo o de eficiencia de proceso, específicamente del equipo.
- b) Cuenta de hongos y levaduras como indicadores de condiciones de manejo o de eficiencia de proceso, específicamente del ambiente.
- c) Cuenta de coliformes totales como indicadores de condiciones de manejo o de eficiencia de proceso, específicamente de contaminación fecal (personal).

Además, debido a que el producto desarrollado en el presente trabajo tiene como objetivo futuro su posible exportación, también se debe atender las normativas o recomendaciones internacionales que fijan límites legales obligatorios o recomendados para determinados contaminantes, como puede ser la regulación europea (Diario Oficial de la Unión Europea. Reglamento N° 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DOUE

L338/1 de 22/12/2005), la cual establece criterios de seguridad para distintos patógenos en alimentos (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Enterobacter sakasaki*, etcétera) y otros criterios microbiológicos de higiene de los procesos (*E. coli*, Enterobacterias, etcétera), que sirven de base para evaluar el grado de seguridad microbiológica de los alimentos analizados (Fontcuberta-Famadas, *et al.*, 2015).

De esta forma, los análisis microbiológicos de la tuna procesada se muestran en la Tabla 3.5, los cuales fueron excelentes, lo cual demuestra que las condiciones de la formulación utilizadas contribuyen a su adecuada conservación al mantenerse libres de patógenos, además de que las prácticas de higiene durante su proceso, tanto en su manejo, como en el equipo y en el ambiente, fueron adecuadas.

Estos resultados concuerdan con los encontrados por los diferentes autores que han trabajado con esta técnica de conservación, al tener productos con características adecuadas hasta por seis meses o más (Argaiz, 2004; Fernández y Sluka, 2005; Leistner y Gould, 2002).

Tabla 3.5. Estabilidad microbiológica de la tuna procesada por métodos combinados

Tiempo (días)	Cuenta estándar (UFC/g)	Hongos y levaduras (UFC/g)	Coliformes totales (NMP/g)
41	< 10	< 10	< 3
80	< 10	< 10	< 3
187	< 10	< 10	< 3

Cabe mencionar, que tanto esta evaluación como las siguientes, ya no se realizaron a los cuatro y cinco meses, debido a que la tuna empezó a tener cambios de color más notorios, por lo que se decidió hacerlo hasta los seis meses sólo para verificar el tiempo de vida de anaquel establecido por los diferentes autores que han estudiado esta técnica de conservación con otros productos.

3.3.3 Evaluación de la actividad de agua

Debido a que el principal factor de conservación es la disminución de la a_w , mediante la adición de sacarosa. La difusión de esta en la solución de estabilización hacia la tuna, es una medida de la eficiencia del método de conservación.

Por ello, la evaluación de la a_w se llevó a cabo tanto en tuna procesada como en la solución de equilibrio, como se muestra en las Tablas 3.6 y 3.7, respectivamente.

Se puede observar que la a_w se redujo significativamente ($p < 0.05$) con el tiempo (ver Apéndice 1.1), lo cual era de esperarse por ser este el objetivo del método; aunque en los días 67 y 97 se presentó un pequeño incremento con respecto al día 41 (1.64 y 1.53 % respectivamente), lo cual se puede atribuir a que cada pieza de tuna fresca tuvo diferente peso (55.05 ± 8.47 g) y propiedades físico-químicas (ver tiempo 0 de las tablas 3.6, 3.8 y 3.9), que afectan en el equilibrio en cada lapso de tiempo.

Un comportamiento contrario se observa en la solución estabilizadora, lo cual era de esperarse también, ya que es el objetivo de este método de conservación, es decir, deshidratar osmóticamente la fruta para reducir su a_w mediante la adición de sacarosa. Sin embargo, no existe correlación con el tiempo ni con la de la fruta.

Además se comprobó la eficiencia de las ecuaciones de Ross y Norrish para predecir la actividad de agua en equilibrio de la tuna mediante la adición de sacarosa, ya que en el día 9 se alcanzó el equilibrio ($a_{weq} = 0.919 \pm 0.022$) que es muy aproximado al esperado (0.92), mediante el uso de la solución estabilizadora ($a_{whm}^o = 0.949 \pm 0.013$) que también es muy cercano al calculado (0.95).

Por otro lado, los valores obtenidos de la a_w de la tuna fresca (0.969 ± 0.034 a 0.975 ± 0.019), concuerdan con el valor reportado por Galdino *et al.* (2016) (0.976 ± 0.001).

3.3.4 Evaluación de los grados Brix

De igual forma que en el caso de la a_w , una medida adicional para conocer el grado de difusión de la sacarosa en la solución de estabilización hacia la tuna, es a partir de la determinación de azúcares solubles mediante su medición como ° Brix, tanto en la tuna como la solución estabilizadora.

De esta forma, la ganancia de sólidos solubles en la tuna procesada se determinó a partir de la medición de los °Brix, los cuales presentaron un incremento no significativo ($p > 0.05$) (ver Apéndice 1.2) en relación con el tiempo de almacenamiento (Tabla 3.6), lo cual era de esperarse al disminuir la a_w . Además, a partir del día 9 puede observarse un comportamiento casi constante, con

lo cual se demuestra que efectivamente el equilibrio se alcanza aproximadamente a la semana. Respecto a la solución estabilizadora, se observa el proceso inverso (Tabla 3.7).

Por lo que estos datos confirman, al igual que en el caso de la a_w , la función de la sacarosa en el proceso de deshidratación osmótica de la fruta, así como el equilibrio alcanzado con la solución de estabilización después de una semana.

Así mismo, se puede ver que los resultados obtenidos de °Brix obtenidos para la tuna fresca (11.23 ± 0.247 a 13.00 ± 0.234), concuerdan con los reportados por Chaparro *et al.* (2015) (12.5 ± 0.9), Galdino *et al.* (2016) (11.07 ± 0.0 como sólidos solubles totales; y 13.03 ± 0.350 como sólidos totales); y Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán (2013) (13.5 ± 0.3).

Tabla 3.6 Efecto del almacenamiento sobre la a_w , °Brix y pH de la tuna procesada por métodos combinados

Tiempo (días)	a_w *	°Brix	pH
*0	0.975 ± 0.019	11.23 ± 0.247	5.90 ± 0.034
	0.974 ± 0.071	12.03 ± 0.138	5.38 ± 0.051
	0.969 ± 0.034	13.00 ± 0.234	6.36 ± 0.022
1	0.976 ± 0.013	12.201 ± 0.273	5.66 ± 0.068
9	0.919 ± 0.022	37.021 ± 0.884	2.51 ± 0.037
41	0.916 ± 0.011	38.632 ± 0.146	2.68 ± 0.067
67	0.931 ± 0.020	37.850 ± 0.515	2.37 ± 0.052
97	0.930 ± 0.027	38.660 ± 0.699	2.30 ± 0.044
205	0.874 ± 0.016	40.430 ± 0.331	2.29 ± 0.059

* Tuna fresca (tres muestras)

* Existe correlación con el tiempo

3.3.5 Evaluación del pH

En cuanto a la evaluación del pH para la tuna procesada, se observó una disminución con respecto al tiempo de almacenamiento como se esperaba, sin embargo no fue significativa ($p > 0.05$) (ver Apéndice 1.3), observándose (Tabla 3.6) un incremento en el día 41 en relación con la medición

anterior (día 9) y el resto de las mediciones posteriores; el cual se puede deber, de igual forma que para el caso de la a_w y los °Brix, a las propiedades de la tuna fresca.

Referente a la solución de estabilización se notó también una disminución del pH (tabla 3.7), lo cual en teoría no debería suceder, ya que el modelo supone un sistema estable respecto a este parámetro. Este fenómeno podría explicarse por un proceso de fermentación que se hubiera llevado a cabo, sin embargo, en los análisis microbiológicos las cuentas fueron negativas, además, a simple vista, tampoco se observó algún desarrollo microbiano. Así que se podría presumir que existe la difusión del ácido ascórbico y el cítrico hacia la solución de estabilización.

Una vez más con estos datos, se confirma el equilibrio que ocurre por el proceso de difusión del ácido cítrico entre la solución de estabilización y la fruta después de siete días, ya que a partir del día 9, se nota una disminución de aproximadamente el 50 % del pH de la tuna.

Finalmente, se puede observar que el pH obtenido en la tuna fresca (5.38 ± 0.051 a 6.36 ± 0.022), son similares a los reportados por Askar y El-Samahy (1981), Piga (2004) y Sawaya *et al.* (1983) (5.3 a 7.1); Gurrieri *et al.* (2000) (6.4 a 6.5); Chaparro *et al.* (2015) (5.34 ± 0.07); Galdino *et al.* (2016) (5.59 ± 0.010); y Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán (2013) (5.37 ± 0.0).

Tabla 3.7. Efecto del almacenamiento sobre la a_w , °Brix y pH de la solución estabilizadora de la tuna procesada por métodos combinados

Tiempo (días)	a_w	° Brix	pH
0	0.949 ± 0.013	48.567 ± 0.152	2.92 ± 0.021
1	0.908 ± 0.015	48.565 ± 0.128	2.87 ± 0.024
9	0.916 ± 0.026	40.589 ± 0.117	2.60 ± 0.025
41	0.918 ± 0.019	42.311 ± 0.356	2.99 ± 0.029
67	0.934 ± 0.016	36.600 ± 0.237	2.32 ± 0.027
97	0.928 ± 0.021	38.860 ± 0.177	2.28 ± 0.026
205	0.865 ± 0.024	38.431 ± 0.297	2.17 ± 0.029

3.3.6 Evaluación del color

El color como parámetro de vida de anaquel, es fundamental, ya que la apariencia es el primer factor en que se fija el consumidor, por lo que un alimento con un color diferente al esperado, provocará un rechazo de este. Una forma de determinarlo, es por medio de la espectrofotometría de reflectancia, debido a que tiene una estrecha correlación con la percepción visual humana. Así el sistema de color universal denominado CIE-LAB, fue establecido por el Comité Internacional de la Iluminación (CIE), el cual se lleva a cabo bajo condiciones controladas, y se basa en la teoría de la percepción tricromática de Young (coordenadas X, Y y Z) y en la teoría de los colores opuestos. Su espacio de color es cromático, con coordenadas cilíndricas [claridad (L^*), croma o saturación (C^*) y tonalidad (H^*)] y coordenadas rectangulares adimensionales (L^* , a^* y b^*).

L^* se conoce con el nombre de luminosidad o claridad, y sus valores van de 0 (para el negro) a 100 (para el blanco). Mientras que a^* define la desviación del punto acromático hacia el rojo (cuando es positiva), y hacia el verde (cuando es negativa). Y b^* define la desviación hacia el amarillo (cuando es positiva), o hacia el azul (cuando es negativa).

La escala de colores Hunter L, a, b es más utilizada que la escala de color CIE, debido a que es visualmente más uniforme. Se basa en el espacio de color que está organizado en un cubo, donde el eje L, tiene una máxima valoración de 100, en la cual se produce una perfecta difusión del reflejo de luz (se obtiene un color blanco total); y una mínima valoración de 0, que representa el color negro. Los ejes a y b no tienen límites numéricos específicos solo tienen valores positivos, negativos y 0. En el caso de a, los valores positivos representan a los tonos rojos, mientras que los negativos a los verdes. Respecto a los de b, los valores positivos son amarillos, mientras que los negativos son azules. En ambos casos un valor de 0 es neutro, es decir, representa al color gris.

Se puede calcular el valor delta de cada uno de estos parámetros (ΔL , Δa y Δb), los cuales indican cuánto un estándar y una muestra difieren uno del otro en los valores L, a y b (Hunter Associates Laboratory, Inc., 2008).

Así, los datos de los parámetros de color (L , a , b) de la tuna procesada se presentan en la Tabla 3.8, mientras que el cambio neto de color (ΔE) en la Figura 3.4.

Se puede observar que la luminosidad (L) disminuye con el tiempo, lo que significa que tiende a oscurecerse. Lo mismo sucedió con el parámetro a , es decir, que tendió a incrementarse la intensidad del color verde. En cambio b , tiene un comportamiento contrario, lo que significa un incremento de la intensidad del color amarillo. Estos datos concuerdan con el cambio de color al final del periodo que se percibió a simple vista, el cual fue ligeramente como un verde oliva. En

todos los casos, la disminución o incremento respectivos no fueron significativos ($p > 0.05$) (ver Apéndice 1.4), pero en el ajuste o lineal todas las correlaciones fueron mayores a 0.833 (Figura 3.3).

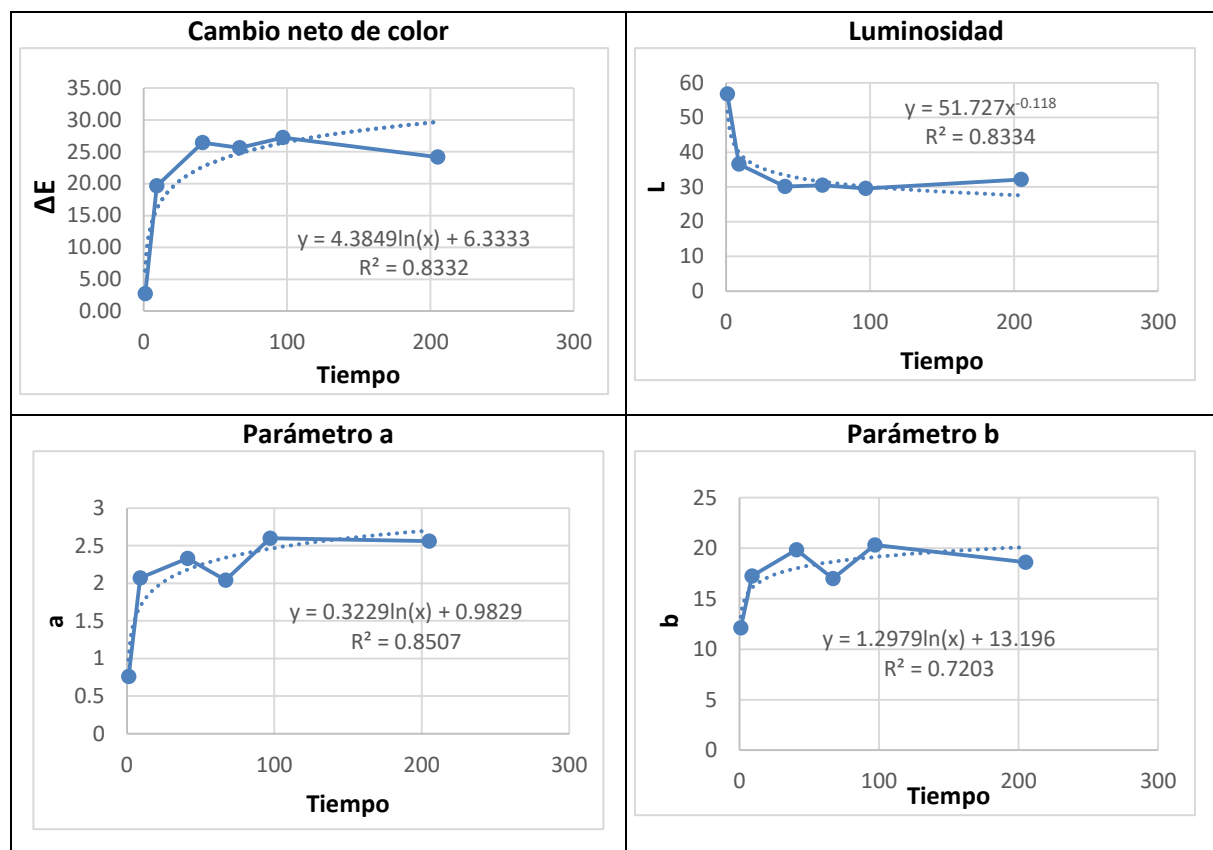


Figura 3.3 Comportamiento del color con respecto al tiempo de tuna procesada

Los resultados de los parámetros a y b concuerdan con obtenidos por Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán (2013), quienes reportan el cambio de color a un verde más oscuro y a un verde amarillento en tunas frescas almacenadas a diferentes temperaturas (28.9 y 4 °C). Sin embargo para el parámetro L tienden hacia lo opuesto respecto a los reportados por estos autores.

Estos cambios se pueden deber a la acción del oxígeno y de la polifenoloxidasas sobre los compuestos fenólicos de la tuna, lo que causa su oxidación y por lo tanto su oscurecimiento (Balois *et al.*, 2007; Aguilar *et al.*, 2007; García *et al.*, 2006).

En lo que respecta a la tuna fresca, se puede observar que los datos concuerdan con los obtenidos por Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán (2013) para L y b : aproximadamente 55 y 15 antes de los tratamientos, sin embargo para a no es así, ya que ellos reportan un valor de -4 , lo cual se puede deber al estado de madurez de las tunas, ya que entre más inmaduras son menos verdes.

Tabla 3.8. Efecto del almacenamiento sobre el color de la tuna procesada por métodos combinados

Tiempo (días)	L	A	b
⁺ 0	53.3 ± 0.06	- 0.62 ± 0.02	15.69 ± 0.09
	56.12 ± 0.02	- 0.62 ± 0.02	13.68 ± 0.02
	58.41 ± 0.15	- 0.34 ± 0.05	14.83 ± 0.11
1	56.78 ± 0.07	- 0.76 ± 0.03	12.12 ± 0.0 8
9	36.54 ± 0.03	- 2.07 ± 0.09	17.24 ± 0.02
41	30.09 ± 0.02	- 2.33 ± 0.04	19.86 ± 0.023
67	30.48 ± 0.13	- 2.04 ± 0.09	17.00 ± 0.21
97	29.52 ± 0.03	- 2.60 ± 0.07	20.31 ± 0.27
205	32.18 ± 0.04	- 2.56 ± 0.10	18.62 ± 0.10

⁺ Tuna fresca (tres muestras)

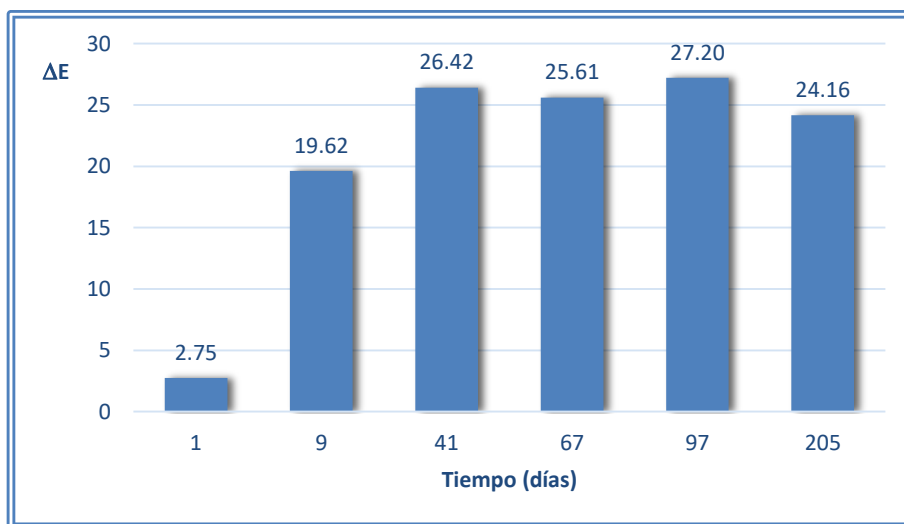


Figura 3.4 Cambio neto de color de la tuna conservada por métodos combinados durante su almacenamiento

3.3.7 Evaluación del contenido de ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico se muestra en la Tabla 3.9, donde se observa una disminución significativa ($p < 0.5$) con respecto al tiempo (Apéndice 1.5). Cabe mencionar que se realizó la determinación de ácido ascórbico también a los 122 días debido a que en el día 91 se obtuvo un valor muy bajo, obteniendo un valor de cero.

Este comportamiento era de esperarse, ya que ha sido ampliamente estudiado que este compuesto se degrada durante el procesamiento y almacenamiento debido a su facilidad para oxidarse e hidratarse (Gutiérrez *et al.*, 2007). Además de la influencia que producen las lesiones mecánicas en los tejidos vegetales (Reyes *et al.*, 2007), como es en este caso la eliminación de la cascara de la tuna.

Pérdidas similares se han observado en otros estudios, como por ejemplo en el jugo de maracuyá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) natural y pasteurizado almacenados a 25 °C, en el cual el ácido ascórbico se estima que se degradará totalmente a los 90 y a los 100 días, respectivamente (Páez *et al.*, 2008), los cuales tenían un contenido inicial de 11.23 mg/100 ml en ambos casos. Así mismo, en tomate cuando se procesa a altas temperaturas, como es por trituración en caliente (hot-break) y por evaporación al vacío, se tuvieron pérdidas de ácido ascórbico del 38 y 16 %, respectivamente (Abushita *et al.*, 2000).

Tabla 3.9. Efecto del almacenamiento sobre el color de la tuna procesada por métodos combinados

Tiempo (días)	Ac. Ascórbico* (mg/100 g)	Fenoles * (mg GAE/100 g)	**CA* (μmol Trolox/g)	**CA* (% Inhibición)
⁺ 0	32.62 ± 1.070 30.70 ± 1.157	94.05 ± 5.13 91.79 ± 3.84	3.115 ± 0.68 3.246 ± 1.04	56.37 ± 0.13 58.81 ± 0.19
1	30.64 ± 1.705	89.08 ± 6.64	3.171 ± 1.41	57.55 ± 0.26
7	29.50 ± 1.514	94.93 ± 5.96	3.176 ± 1.36	57.50 ± 0.25
32	23.89 ± 1.932	85.14 ± 7.30	3.228 ± 1.04	58.47 ± 0.19
63	10.78 ± 0.755	68.76 ± 9.39	3.033 ± 3.11	54.85 ± 0.58
91	0.36 ± 0.106	44.00 ± 7.90	2.800 ± 3.74	50.53 ± 0.70
183	0	31.24 ± 4.73	2.649 ± 1.71	47.71 ± 0.32

⁺ Tuna fresca (dos muestras); ** CA (Capacidad Antioxidante)

* Existe correlación con el tiempo

Además, en tuna fresca, se ha determinado que este compuesto disminuye con la madurez y con el almacenamiento, sobre todo a elevadas temperaturas, aunque varía también con la variedad, ya que las menos pigmentadas tienen mayores contenidos (Ramírez-Ramos, *et al.* 2015), aunque en las más pigmentadas se mantiene en mayor proporción su contenido (Lee y Kader, 2000).

Respecto al contenido de esta vitamina en la tuna fresca, los valores concuerdan con los reportados en mg/ 100 g por varios autores: 31-38 (Gurrieri *et al.*, 2000), 34.36 ± 13.0 (Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán, 2013), 31.7 (Lakshminarayana, 1980; citado en Esquivel, 2004), 40 (Corral-Aguayo *et al.*, 2008), y 45.8 (Kuti, 2004).

3.3.8 Evaluación del contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles en la tuna fresca y procesada se determinaron en base a la curva estándar (Figura 3.5) para este fin, cuyos valores se muestran en la Tabla 3.9, donde se observa que en la tuna procesada existe una disminución significativa ($p < 0.05$) con el tiempo (ver Apéndice 1.6). Sin embargo, esto no se esperaba, ya que en varios estudios con frutas y vegetales, se ha determinado que estos tienden a incrementarse durante el procesamiento debido a la activación de la enzima fenilalanina-amonioliasa producida por daños mecánicos en el producto (Pirovani *et al.*, 2009; de Ancos *et al.*, (2009), y también se acelera el rompimiento celular, con lo que se favorece la desnaturalización de enzimas oxidativas e hidrolíticas que degradar los compuestos fenólicos que se encuentran en las vacuolas (Rolle y Chism, 1987). Por lo que se asume que al tener las piezas enteras de tuna, no se favoreció dichos procesos, por lo que se comportó más como un producto fresco. Así lo demuestran los resultados determinados por diferentes autores en estudios de tuna fresca almacenada por diferentes tiempos y temperaturas. Por ejemplo, Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán (2013) encontraron una disminución de los compuestos fenólicos con el paso del tiempo de almacenamiento a 28°C y después de 21 días, mientras que Ramírez-Ramos *et al.* (2015) durante diez días de almacenamiento a temperatura ambiente, disminuyó su contenido en algunas variedades que estudiaron.

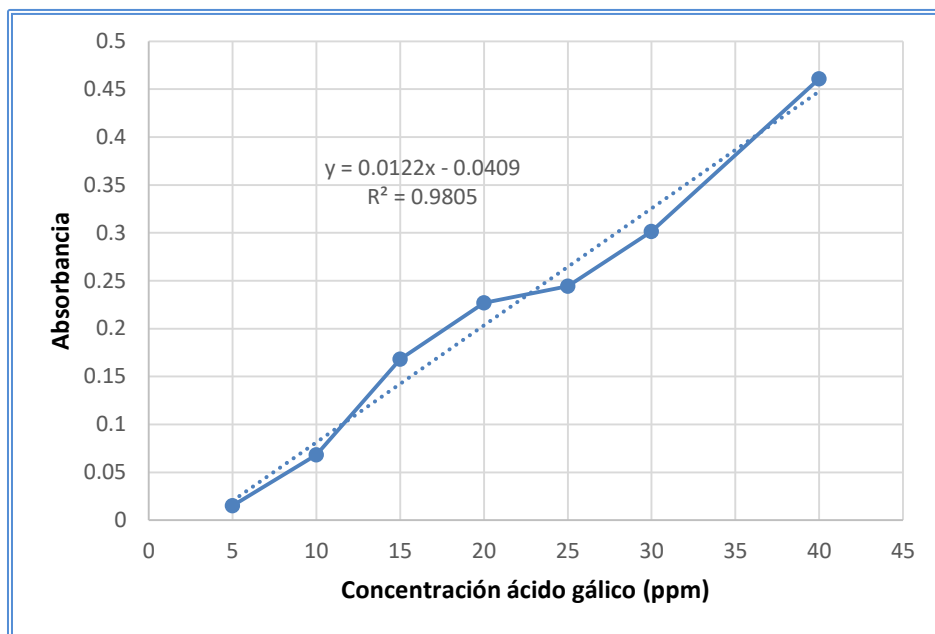


Figura 3.5. Curva estándar de ácido gálico para determinar los fenoles totales

En lo que concierne al contenido de fenoles en tuna fresca, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ramírez-Ramos *et al.* (2015), quienes estudiaron su contenido en pulpa de tuna fresca de diferentes variedades con diferentes grados de maduración almacenadas durante diez días a temperatura ambiente, obteniendo valores entre 98.93 y 153.18 mg EAG /100 g (en peso fresco) en madurez hortícola, y de 153.1 a 165.5 mg EAG/ 100 g en la etapa de inmadurez hortícola. Sin embargo, están por arriba de los obtenidos por Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán (2013) (39.8 + 0.5 mg EAG /100 mL) en tuna variedad Villanueva; así como por Stintzing *et al.* (2005) en diversas variedades de tuna (blanca, naranja, roja y púrpura), siendo los menores de 24.2±13.4 mg ácido gálico/100 mL de jugo para la primera, y los mayores (66 ± 35.8 mg ácido gálico/100 mL de jugo) para última; mientras que Carrasco y Encina (2008) encontraron en promedio un 52 mg de AG/100 g de muestra. Las variaciones reportadas entre diversos autores se deben probablemente a la variedad de tuna y a la técnica utilizada.

3.3.9 Evaluación de la capacidad antioxidante

Los valores de capacidad antioxidante de tuna fresca y procesada se determinaron con base a la curva estándar para este fin ($y = 9.2876x - 1.4884$; $R^2 = 0.9983$) los cuales se muestran en la Tabla 3.9, donde se observa que en la tuna procesada existe una disminución significativa ($p < 0.05$) con

el tiempo (Apéndice 1.7), lo cual era de esperarse ya que los fenoles, betalaínas y flavonoides, contribuyen con el 85 % de la capacidad antioxidante total de la tuna, mientras que el restante, lo aporta el ácido ascórbico (Galati *et al.*, 2003). Esto se corroboró con la fuerte correlación determinada entre la capacidad antioxidante en la tuna procesada durante el tiempo de almacenamiento con su contenido de fenoles (Apéndice 1.8) y de ácido ascórbico (Apéndice 1.9), lo cual concuerda con los datos obtenidos por Sumaya-Martínez *et al.* (2011) en tuna roja.

Por otro lado, los datos obtenidos en tuna fresca concuerdan con los determinados por Stintzing *et al.* (2005) al estudiar este parámetro para el jugo y la pulpa de tuna blanca (3.31 ± 0.13 y 2.24 ± 0.09 μmol equivalentes de Trolox/mL y g, respectivamente). Así como con los obtenidos por Carrasco y Encina (2008) en tuna roja, anaranjada y blanca, determinando su capacidad antioxidante mediante el método de DPPH, encontrando porcentajes de inhibición de 77.65, 41.65 y 34.20 %, respectivamente. Sin embargo, Butera *et al.* (2002) en tuna amarilla, roja y blanca, obtuvo valores mayores (5.31 ± 0.49 , 4.20 ± 0.51 y 4.36 ± 0.41 μmol equivalentes de Trolox/g de pulpa, respectivamente); mientras que los de Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán (2013) fueron menores en tuna Villanueva ($0.76\text{-}0.94$ μmol equivalentes de Trolox/g de jugo). Estas variaciones, se pueden deber a la variedad de la tuna, por la disminución de estos compuestos durante la maduración de la tuna (Fennema, 2000); y tercero, por las condiciones ambientales, prácticas agronómicas, y el manejo pre y postcosecha de la tuna (Hagen *et al.*, 2007; Tsao, 2007).

3.3.10 Evaluación de la vida de anaquel de la tuna procesada por métodos combinados

De acuerdo con los resultados mostrados en la evaluación microbiológica (apartado 3.2.2), la vida útil del producto puede llegar a ser al menos de 205 días, ya que fue la última vez que se evaluó este parámetro. Sin embargo, su vida de anaquel podría verse relativamente afectada por los resultados obtenidos en el efecto de los factores de estabilidad que modifican su apariencia y sabor. Ya que se observa (Figura 3.6) que al alcanzar el equilibrio (día 9), el color (ΔE) [apariciencia] se incrementó un 713.5 %. Mientras que el pH (sabor: acidez) presentó una disminución de 225.4 %. Así mismo, la a_w y los ° Brix [sabor: dulzor] tuvieron una disminución y un incremento de 106.2 y 303.4%, respectivamente.

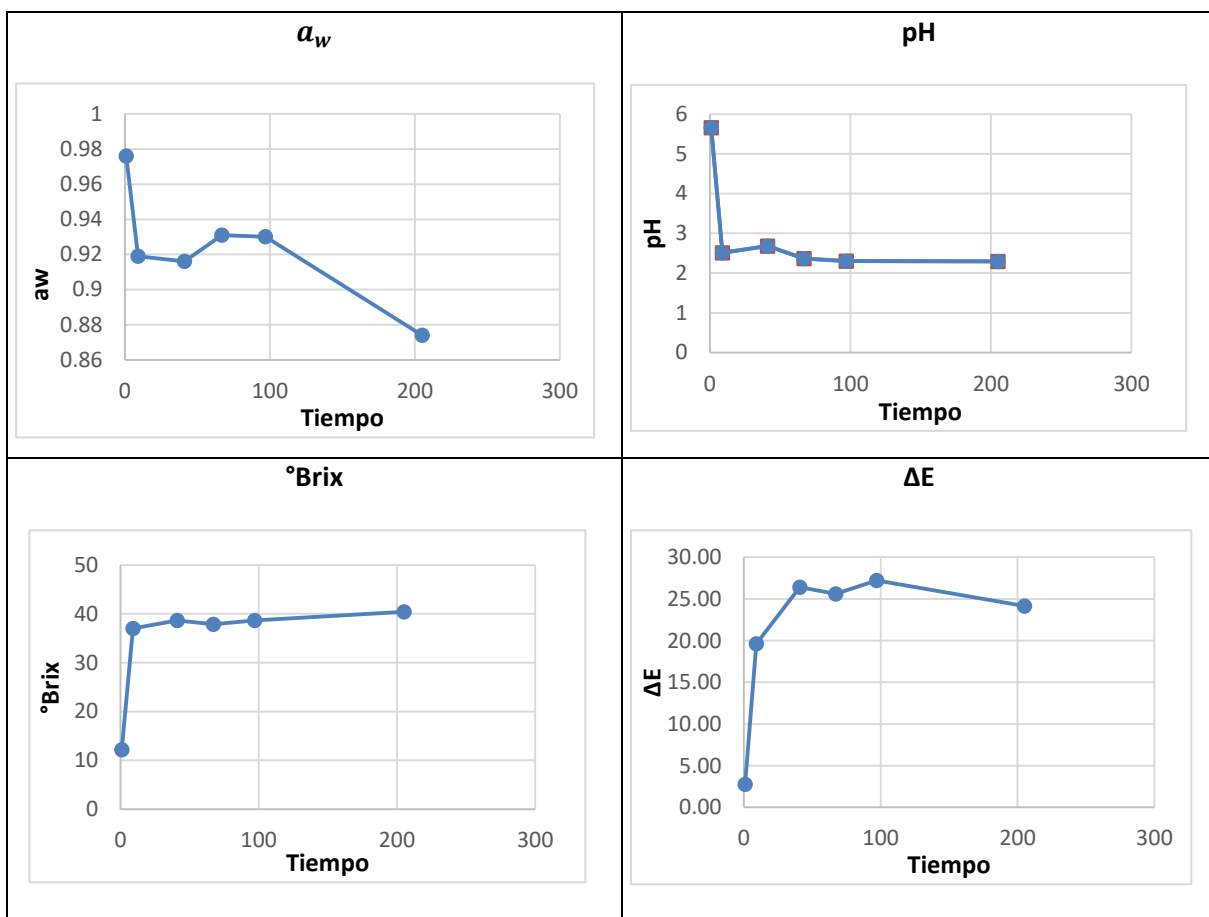


Figura 3.6 Efecto de los parámetros de equilibrio en la vida de anaquel de tuna procesada

Además, ninguno de estos factores para estabilizar la tuna (a_w , pH, y °Brix) presentó efecto significativo ($p > 0.05$) sobre el contenido de ácido ascórbico, fenoles y la capacidad antioxidante, durante el almacenamiento, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Sepúlveda Rincón *et al.* (2016) con hojas de achiote (*Bixa orellana L.*) al someterlas a pH de 3 a 8 y de 8 a 20 °Brix.

No obstante, estos cambios no afectaron en gran medida su calidad organoléptica, ya que de acuerdo con los resultados de la evaluación sensorial, obtuvo una aceptación adecuada al lograr una calificación general de 7.64. Por lo que se presume que esta aceptación se podrá lograr a lo largo de su vida útil, ya que después de equilibrio, estos cambios se mantuvieron de manera casi constantes.

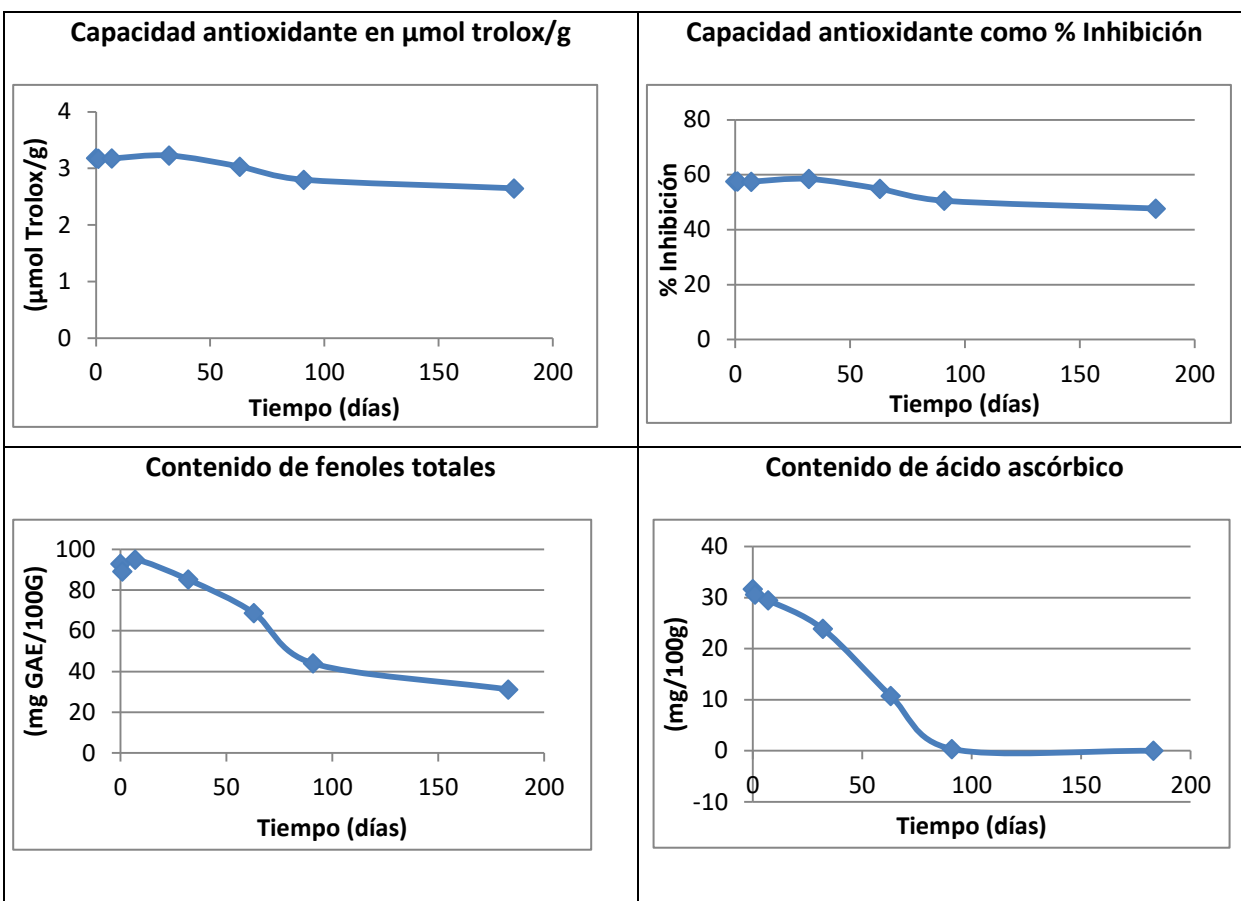


Figura 3.7 Comportamiento de los parámetros de capacidad antioxidante en la vida de anaquel de tuna procesada

En los parámetros relacionados con la capacidad antioxidante (Figura 3.7), se observa que al alcanzar el equilibrio, el cambio fue mucho menor, ya que disminuyeron en menor proporción al alcanzar el equilibrio (107.3 % el ácido ascórbico, 97.8 % los fenoles, y 100.1 % la capacidad antioxidante). Notándose una caída más drástica durante los siguientes 91 días (879.4, 211.1, y 113.8%, respectivamente). Por ello, se puede decir que este método es viable para prolongar la vida de anaquel de la tuna a temperatura ambiente, sobre todo si se considera que la tuna fresca se puede llegar a mantener sólo por seis semanas a 6°C, según Piga *et al.* (1996) o hasta por 75 días a 16 - 17°C (Barrios *et al.*, 2003) o menos. Además, si se compara con las pérdidas que tiene la tuna fresca durante su almacenamiento, tanto a temperatura ambiente, como a bajas temperaturas, como se expuso en los apartados 3.2.7 a 3.2.9, estas pérdidas no son tan grandes. Esto se constata al estimar su degradación total a los 147.75 días para el ácido ascórbico, 250.96 los fenoles, y 976.27 para la

capacidad antioxidante, de acuerdo a la extrapolación realizada mediante las ecuaciones correspondientes (ver figura 3.8); lo que corresponde a una vida media para el factor más importante (capacidad antioxidante) de 488.1 días.

CONCLUSIONES

Durante la elaboración del presente trabajo, se aplicaron los parámetros de conservación (formulaciones) utilizados en tres frutas (piña, el durazno y la guayaba) por otros autores, con los que se obtuvieron resultados favorables, ya que se logró conservarlas por más de seis meses con propiedades similares a las naturales; las cuales además se consideraron por tener propiedades físico-químicas similares a la tuna. De esta manera se logró establecer las condiciones adecuadas de la solución de estabilización para conservar tuna con propiedades similares a la fresca, con los siguientes parámetros: a_w de 0.949 ± 0.013 , pH de 2.92 ± 0.021 y 48.567 ± 0.152 °Brix, correspondientes a la Formulación 2. Con lo cual se demuestra que la aplicación de parámetros de conservación por métodos combinados en frutas con propiedades físico-químicas similares a la tuna, son factibles para predecir dichas condiciones de conservación.

Con esta formulación, se logró tener un producto sensorial, microbiológica y nutricionalmente adecuado por aproximadamente tres meses (97 días) como se pudo demostrar en las evaluaciones correspondientes. Este tiempo es relativamente largo si se compara con el que tiene la tuna fresca, el cual a temperatura ambiente, es de aproximadamente tres semanas, mientras que a temperaturas de refrigeración, puede llegar a ser de seis semanas a 6°C (Piga *et al.*, 1996) o hasta por 75 días a 16 - 17°C (Barrios *et al.*, 2003) o menos.

Con base a los resultados obtenidos en las determinaciones microbiológicas llevadas a cabo en los diferentes tiempos hasta los 205 días, se concluye que la tuna conservada con la Formulación 2 es óptima para mantener la vida útil de esta, ya que todos fueron menores a las tres unidades formadoras de colonias. Por lo que el nivel de la a_w y del pH utilizados, cumplieron su función de inhibir el desarrollo de los microorganismos indicadores (mesófilos aerobios, coliformes totales, y hongos y levaduras) establecidos por las normas para determinar la calidad microbiológica, que advierten oportunamente un manejo inadecuado de los alimentos, o bien para determinar alguna contaminación que incremente el riesgo de la presencia de microorganismos patógenos en estos, y de esta forma poder mejorar, liberar o controlar un alimento.

Al evaluar las propiedades sensoriales de la tuna conservada mediante la Formulación 2, se determinó que resultó ser un producto aceptable organolépticamente para el consumidor, ya que obtuvo una calificación global de 7.64, en la cual contribuyó el sabor con una calificación de 8 por el 60% de los jueces no entrenados, lo cual es muy satisfactorio dado que este factor es uno de los

más importantes en todo producto alimenticio. Así mismo, se puede asumir que dichas propiedades se puede mantener hasta por aproximadamente tres meses (97 días), debido a que fue el tiempo que se observó a simple vista que se mantenía su apariencia inicial.

Lo anterior se relaciona con los resultados obtenidos en la evaluación físico- química, ya que los valores de a_w , pH, °Brix y color, se mantuvieron casi constantes durante dicho periodo después de alcanzar el equilibrio (día 9). Estos parámetros se relacionan con su apariencia determinada principalmente por el color (ΔE), y por su sabor, determinado por su acidez (pH) y dulzor (a_w y ° Brix).

Después de evaluar las propiedades funcionales de la tuna conservada con la Formulación 2, se puede concluir que se logró mantener su vida de anaquel por el tiempo mencionado (97 días). Sin embargo, si se considera su vida media, se puede ver que su capacidad antioxidante (57.6 % de inhibición y 3.2 $\mu\text{mol Trolox/g}$) puede llegar a ser hasta por 488 días, aunque se pierde todo el ácido ascórbico a los 147 días. Se concluye que la tuna así conservada es una alternativa como alimento funcional antioxidante debido principalmente a su contenido de polifenoles y ácido ascórbico, para contribuir a que la población pueda tener una vida más saludable, principalmente para evitar el cáncer que es una de las enfermedades con mayor crecimiento mundialmente.

Por lo que se concluye que la conservación de tuna por métodos combinados utilizando una solución de estabilización con a_w de 0.95, pH de 2.9 y 48.5 °Brix, preparada con porcentajes del 55.87, 41.95, 2.00, 0.16, y 0.16 de agua, sacarosa, ácido cítrico, sorbato de potasio y metabisulfito de sodio, respectivamente, es adecuada como contribución a la solución de los problemas de pérdidas (debidas al exceso de producción por su estacionalidad, la falta de calidad demandada por los mercados, y los problemas agroecológicos) a las que se enfrentan los productores de tuna en la localidad de Villanueva (Acatingo-Puebla) y de todo el país, ya que se puede mantener su vida de anaquel a temperatura ambiente, al menos por tres meses.

BIBLIOGRAFÍA

- Abushita, A. A.; Hebshi, E. A.; Daoood, H. G. y Biacs, P. A. (1997). Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. *Food Chem.*, 60(2):207-212.
- Alzamora, S.M., Guerrero, S.N., Nieto, A.B. & Vidales, S.L. (2004). Conservación de Frutas y Hortalizas mediante tecnologías combinadas. FAO. Recuperado el 12 junio de 2017, de: <http://www.fao.org/3/a-y5771s.pdf>
- Alzamora, S.M., Tapia, M.S., Argaiz, A. & Welte, J. (1993). Application of combined method technology in minimally processed fruits. *Food Research International* 26: 125-130.
- Araya, H. & Lutz, M. (2003). Alimentos funcionales y saludables. *Revista chilena de nutrición*, 41,1: 2-10.
- Argaiz, A. (2004). Frutas tropicales, alternativas para su procesamiento o transformación. En conservación de productos de frutas. Sociedad solidaridad social Yancuitzin Tonatzin. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla, México. 120 p.
- Argaiz, A., Vergara, F., Welte, J. & López-Malo, A. (1993). Durazno conservado por factores combinados. Programa CYTED-D. *Boletín Internacional de Divulgación*, 1:22-30.
- Avendaño, R., Schwentesius, D., & Lugo M. (2007). La inocuidad alimentaria en la exportación de hortalizas mexicanas a Estados Unidos. *Comercio Exterior* 57: Pág.: 6-18.
- Avila, J. (2007). Respuesta a diferentes condiciones de conservación y películas plásticas de tuna mínimamente procesadas. *Tesis de licenciatura*. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Barbosa-Cánovas, G., Fernández-Molina, J., Alzamora, S., Tapia, M.S., López-Malo, A. & Welte, J. (2003). Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. Technical Manual *FAO Agricultural Services Bulletin N° 149*. Rome.
- Bolumen, S. (2005). Vida de los alimentos envasados. Instituto de investigaciones para la industria alimenticia. Colombia. Pp.20-25.
- Cantwell. (1995). Comportamiento poscosecha de cultivares de tuna por efecto del manejo del huerto y temperatura de frigoconservación. Unidad Académica de Agronomía, Universidad Autónoma de Zacatecas.
- Cerezal, P., & Duarte, G. (2005). Algunas características de tunas (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) cosechadas en el antiplano andino de la 2da Región de Chile. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 7, 34-60.
- Chaparro, Sandra P., Márquez, Ruby A., Sánchez, Jenny P., Vargas, Mónica L., & Gil, Jesús H. (2015). Extracción de pectina del fruto del higo (*Opuntia ficus indica*) y su aplicación en un dulce de piña. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, Volumen 18(2), Pág.: 435-443. Recuperado en 13 de enero de 2018, de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262015000200017&lng=en&tlng=es.
- Corrales, G.J., (2014). Descripción y análisis de la cosecha y del manejo en fresco de nopalito y tuna. CIESTAAM. Universidad Autónoma Chapingo. 10 p.
- FAO. (2006). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Utilización agroindustrial del nopal. *Boletín de servicios agrícolas de la FAO* 162. Pag: 1 – 97.
- Fernández, E., & Sluka, E. (2005). Tecnologías de conservación por métodos combinados en pimiento, chaucha y berenjena; 18, 2:73-81.

- Fernández, R.E., & Sluka, E. E. (2005). Conservation technologies applying combined methods in pepper, bean and eggplant. *Revista. FCA UNCuyo. Tomo XXXVII. N°2*,: Pág.: 73-81.
- Ferreira M.F. & Garcia A.J. 2014. La producción y comercialización de nopal verdura (*Opuntia spp.*) una opción para el valle de Mexicali, B.C. Departamento de Economía Agrícola. UACH. Chapingo, Estado de México. Tesis. 75p.
- Figueroa-Cares, Inés, Martínez-Damián, María T., Rodríguez-Pérez, Enrique, Colinas-León, María T., Valle-Guadarrama, Salvador, Ramírez-Ramírez, Sweetia, & Gallegos-Vázquez, Clemente. (2010). Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna (*Opuntia spp.*) de México. *Agrociencia*, 44(7), 763-771. Recuperado en 1 de abril de 2018, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952010000700003&lng=es&tlng=es.
- Flores V., C.A. & Gallegos V., C. 2016. Situación y perspectivas de la producción de tuna en la región Centro-Norte de México. CIESTAAM-CRUCEN-UACH. Chapingo, Edo. de México. 44 p.
- Flores, A. (2000). Manejo postcosecha de frutas y hortalizas en Venezuela. Experiencias y Recomendaciones. Editorial Unellez, San Carlos, Cojedes. 320 p.
- Flores, V.C.A. & Gallegos, V.C. (1993). Situación y perspectivas de la producción de tuna en la región Centro-Norte de México. CIESTAAM. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. de México.
- Frenk Mora, J., Tapia Conye, R., Uribe Zúñiga, P. & Quintanilla Rodríguez, M. L. (2003). El Ácido Fólico y la prevención de defectos al nacimiento. Secretaría de Salud Dirección Adjunta de Salud Materna y Perinatal.
- Gentile, C., Tesoriere, L., Allegra, M., Livrea, M., & D'Alessio, P. (2004). Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. *Ann. NY Acad. Sci.* 1028: 481-486.
- Granato, D., Branco, N. & Cruz. (2010). Alimentos funcionales y desarrollo de alimentos probióticos no lácteos: tendencias, conceptos y productos; 9, 3: 292-302. Recuperado el 10 junio de 2017, de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2010.00110.x/full>.
- Gurrieri, S., Miceli, L., Lanza, C. M., Tomaselli, F., Bonomo, R. P., & Rizzarelli, E. (2000). Chemical characterization of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) and perspectives for the storage of its juice. *J Agric Food Chem*, 48(11); Pág.:5424-5431.
- Gutiérrez Zavala, A., Ledesma Rivero, L., García García, I., & Grajales Castillejos, O. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana de Salud Pública*, 33(1). Recuperado en 05 de enero de 2018, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662007000100008&lng=es&tlng=es.
- IMCE (2015). Instituto Mexicano de Comercio Exterior. Aspectos técnicos sobre nopal y tuna. México, D.F. 91p.
- INEGI. (2015). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. “*Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer (4 de febrero)* “. Recuperado el 15 de Agosto de 2017, de: http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/cancer2017_Nal.pdf.
- INTA. (2017). Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Base de datos de antioxidantes. Recuperado en de 21 diciembre de 2017, de <http://www.portalantioxidantes.com/base-de-datos-de-antioxidantes/>.
- Leistner, L. & Gould, G. W. (2002). Hurdle Technologies: *Combination Treatments for Food Stability, Safety and Quality*. Plenum Publishers, 208p.
- Leistner, L., & Gould, G.(2002). Hurdle Technologies: *Combination Treatments for Food Stability, Safety and Quality*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, Nueva York, EE.UU.194 P.

- Mercado-Mercado, G., De la Rosa Carrillo, L., Wall-Medrano, A., López Díaz, J.A. & Álvarez-Parrilla, E. (2013). Revisión Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutr Hosp.*, 28(1), 36-46. Recuperado en 11 de enero de 2018, de: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/6298.pdf>.
- Mondragón-Jacobo, C. y Pimienta-Barrios E. (1995). Propagation. pp. 64-70. In: Agro-ecology cultivation and uses of cactus pear. *FAO Plant Production and Protection Paper* 132, Rome.
- Morales M., J. 2016. La comercialización del nopal en el mercado internacional. Tesis. Universidad Autónoma de las Américas. Cholula, Puebla.
- Moreno, E., Ortiz, B.L., & Restrepo, L.P. (2014). Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. *Rev. Colomb. Quim.*, 43 (3), 41-48
- Muñoz Jáuregui, A. M., Alvarado-Ortiz Ureta C., & Encina Zelada C. (2011). Fitoesteroides y fitoestanoles: Propiedades saludables. *Revista Horizonte Médico*. 11,2.
- Ochoa, J. (2003). Principales características de las distintas variedades de tuna (*Opuntia* spp.) de la República Argentina In: Inglese, P. y Nefzaoui, A. eds. *Cactusnet Newsletter. FAO International Technical Cooperation Network on Cactus pear*. Número especial. Roma.
- Ochoa-Velasco, C., & Guerrero-Beltrán, J. (2013). Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre las características de calidad de tuna blanca Villanueva (*Opuntia albicarpa*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14 (2), 149-161. Recuperado en 05 de enero de 2018, de <http://www.redalyc.org/html/813/81329290008/>.
- Organización Mundial de la salud (OMS). (2018) "Datos estadísticos sobre el cáncer". Recuperado el 15 de enero del 2018, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>.
- Páez, G., Freay, J., Moreno, M., Mármol, Z., Araujo, K., & Rincón, M. (2008). Cinética de la degradación del ácido ascórbico en jugo de parchita. *AFINIDAD LXV*, 533, 1: 51-55.
- Piga, A. (2004). Cactus Pear: A fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 6: 9-20.
- Pinzón, (2007). Determinación de los estados de madurez de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims). Universidad Nacional de Colombia.
- Ramírez, A. O., Figuero, H. E. & Espinosa, T. L. (2015). Viabilidad económica y financiera de nopal tuna (*Opuntia ficus-indica*) en Nopaltepec. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 8, núm. 6, agosto-septiembre, 2017, pp. 1371-1382. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Estado de México, México.
- Ramírez-Ramos, M, García-Mateos, Ma., Corrales-García, J., Barra-Moncada, C., & Castillo-González, A. (2015). Compuestos antioxidantes en variedades pigmentadas de tuna (*Opuntia* sp.). *Revista fitotecnia mexicana*, 38(4), 349-357. Recuperado en 12 de febrero de 2018, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802015000400002&lng=es&tlng=es.
- Roberfroid, M.B. (2001). Prebiotics: preferential substrates for specific germs. *Am J Clin Nutr* 73: 406-440.
- Rolle, R. S. y Chism, G. (1987). Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Quality*. 10(3):157-177.
- Rosillo- Zevallos, C.K. (2016). Estudio de los principios bioactivos y obtención de colorantes naturales de la cáscara de *Opuntia ficus - indica* (L.) Miller "tuna". Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Tesis de Licenciatura de Químico Farmacéutica. Recuperado en 06 de enero de 2018, de: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/5031/Rosillo_zc.pdf;jsessionid=C9AFECF5A85EB1BDFC338DFF34E917F9?sequence=1.
- SAGARPA, (2014). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Producción de nopal y tuna. Acatzingo, comunidad de San Sebastián Villanueva. Recuperado el

- 22 de noviembre de 2017, de: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/puebla/boletines/2014/septiembre/Documents/B1109R14.pdf>
- SAGARPA, (2015). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Estudio de factibilidad para el establecimiento de cultivo de nopal (*Opuntia Spp.*) en tierras ociosas en los estados de Aguascalientes, San Luis Potosí, Guanajuato y Zacatecas con fines alimenticios, energéticos y ambientales. Universidad Autónoma de Zacatecas.
- Sarbojeet, J. (2012). Nutraceutical and functional properties of cactus pear (*Opuntia spp.*) and its utilization for food applications. *Journal of Engineering Research and Studies. Volumen; 3(2): Pag: 60-66.*
- Sepúlveda Rincón, C.T., Ciro Gómez, G.L. & Zapata Montoya, J. E. (2016). Extraction of phenolic compounds and antioxidant activity from leaves of *Bixa orellana* L. (achiote). *Revista Cubana de Plantas Medicinales; 21(2):133-144*
- Stingzing, F., Schieber, A., & Carle, R. (2001). Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur Food Res Technol*, 396-407. Recuperado el 22 de julio de 2017, de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s002170000219>.
- Sudzuki, F. (1999). Anatomía y morfología. pp. 29-36. In: Barbera, G., Inglese, P. y Pimienta, E., eds. Agroecológica, cultivo y usos del nopal. *Estudio FAO Producción y Protección Vegetal*, 132. Roma.
- Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A., Allegra, M., & Livrea, M. (2004). Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: A comparative study with vitamin C. *Am. J. Clin. Nutr.* 80(2): Pag: 391-395.
- Torres, R. (2009). Conservación de los Alimentos. La Habana.
- Valenzuela, B. R, Tapia, O. G., González, E. M, & Valenzuela, B.A. (2014). Ácidos grasos omega-3 (epa y dha) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. Escuela de Nutrición y Dietética. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago, Chile. *Rev Chil Nutr*; 38,3. Recuperado el 7 de junio de 2017, de: <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v38n3/art11.pdf>.
- Zapata, M. J.L. (1992). Comportamiento productivo de dos sistemas de plantación de nopal forrajero *Opuntia rastrera* Weber y *Opuntia lindheimeri* var. *lindheimeri* Engelmann. *Tesis de Licenciatura*. UAAAN. Buenavista, Saltillo Coahuila.
- Pinzón, (2007). Determinación de los estados de madurez de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims). Universidad Nacional de Colombia.
- Bolumen, S. (2005). Vida de los alimentos envasados. Instituto de investigaciones para la industria alimenticia. Colombia. Pp.20-25.

APÉNDICES

APÉNDICE 1.1

CORRELACIÓN DE ACTIVIDAD DE AGUA CONTRA TIEMPO

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.81095879
Coeficiente de determinación R ²	0.65765416
R ² ajustado	0.58918499
Error típico	47.1623728
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	21364.553	21364.553	9.60511383	0.02687718
Residuos	5	11121.447	2224.28941		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	1641.59801	510.633892	3.21482384	0.02360142	328.971802	2954.22422	328.971802	2954.22422
Variable X 1	-1698.29515	547.97647	-3.09921181	0.02687718	-3106.91351	-289.676786	-3106.91351	-289.676786

APÉNDICE 1.2
CORRELACIÓN DE °BRIX CONTRA TIEMPO

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.61237774
Coeficiente de determinación R^2	0.3750065
R^2 ajustado	0.25000779
Error típico	63.7236832
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	12182.461	12182.461	3.00008315	0.14380636
Residuos	5	20303.539	4060.7078		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	-48.13186	66.9140704	-0.71930851	0.50415692	-220.139954	123.876234	-220.139954	123.876234
Variable X 1	3.4900545	2.01495598	1.73207481	0.14380636	-1.68955475	8.66966375	-1.68955475	8.66966375

APÉNDICE 1.3
CORRELACIÓN DE pH CONTRA TIEMPO

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.59780618
Coeficiente de determinación R ²	0.35737223
R ² ajustado	0.22884667
Error típico	64.6164156
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	11609.5942	11609.5942	2.78055387	0.15629
Residuos	5	20876.4058	4175.28116		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	150.964239	59.7688222	2.52580248	0.05279954	-2.67640959	304.604888	-2.67640959	304.604888
Variable X 1	-26.8784159	16.118997	-1.66749929	0.15629	-68.3136167	14.5567849	-68.3136167	14.5567849

APÉNDICE 1.4

CORRELACIONES DE COLOR CON RESPECTO AL TIEMPO

Parámetro L

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.58716927
Coeficiente de determinación R ²	0.34476775
R ² ajustado	0.2137213
Error típico	65.2470302
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	11200.1252	11200.1252	2.63088207	0.16573028
Residuos	5	21285.8748	4257.17495		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	197.052672	88.0213824	2.23869095	0.07533833	-29.213495	423.318838	-29.213495	423.318838
Variable X 1	-3.53319597	2.17829671	-1.6219994	0.16573028	-9.13268594	2.06629399	-9.13268594	2.06629399

Parámetro a

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.68175599
Coeficiente de determinación R ²	0.46479123
R ² ajustado	0.35774947
Error típico	58.9691312
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	15099.2078	15099.2078	4.34214881	0.09162056
Residuos	5	17386.7922	3477.35844		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	-48.848154	56.7921663	-0.86012134	0.42902615	-194.837065	97.1407571	-194.837065	97.1407571
Variable X 1	59.1244725	28.3736318	2.08378233	0.09162056	-13.8122699	132.061215	-13.8122699	132.061215

Parámetro b

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.55719738
Coeficiente de determinación R ²	0.31046892
R ² ajustado	0.17256271
Error típico	66.9329614
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	10085.8934	10085.8934	2.25130478	0.19379541
Residuos	5	22400.1066	4480.02132		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	-181.608214	163.000619	-1.11415659	0.31588299	-600.614646	237.398217	-600.614646	237.398217
Variable X 1	14.1079204	9.40255441	1.50043486	0.19379541	-10.0621151	38.277956	-10.0621151	38.277956

Parámetro ΔE

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.58938624
Coeficiente de determinación R^2	0.34737614
R^2 ajustado	0.21685136
Error típico	65.1170313
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	11284.8612	11284.8612	2.6613809	0.16374005
Residuos	5	21201.1388	4240.22776		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	-7.03591229	47.8985786	-0.14689188	0.88895651	-130.163128	116.091304	-130.163128	116.091304
Variable X 1	3.73141799	2.28728553	1.63137393	0.16374005	-2.14823665	9.61107262	-2.14823665	9.61107262

APÉNDICE 1.5

CORRELACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO CONTRA TIEMPO

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.89303693
Coeficiente de determinación R ²	0.79751496
R ² ajustado	0.75701795
Error típico	36.2710053
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	25908.0709	25908.0709	19.6931818	0.00677934
Residuos	5	6577.92914	1315.58583		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	144.170356	23.4028243	6.16038277	0.00164005	84.0114807	204.329231	84.0114807	204.329231
Variable X 1	-4.64552937	1.04683266	-4.43770005	0.00677934	-7.33649841	-1.95456034	-7.33649841	-1.95456034

APÉNDICE 1.6

CORRELACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES CONTRA TIEMPO

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.94830838
Coeficiente de determinación R ²	0.89928879
R ² ajustado	0.87914655
Error típico	25.5800876
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	29214.2956	29214.2956	44.6469057	0.00113467
Residuos	5	3271.7044	654.340881		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	258.299707	31.2126181	8.27548994	0.00042042	178.065118	338.534296	178.065118	338.534296
Variable X 1	-2.74289713	0.41050064	-6.68183401	0.00113467	-3.79812261	-1.68767164	-3.79812261	-1.68767164

APÉNDICE 1.7

CORRELACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE CONTRA TIEMPO

Resumen (Tiempo - % Inhibición)

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.93381123
Coeficiente de determinación R ²	0.87200342
R ² ajustado	0.8464041
Error típico	28.8378121
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	28327.903	28327.903	34.0635426	0.00208852
Residuos	5	4158.09702	831.619404		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	989.27642	159.593516	6.19872564	0.00159487	579.028227	1399.52461	579.028227	1399.52461
Variable X 1	-306.244289	52.4714532	-5.83639808	0.00208852	-441.126454	-171.362124	-441.126454	-171.362124

Resumen (Tiempo - μmol trolox/ g)

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.93476283
Coeficiente de determinación R ²	0.87378156
R ² ajustado	0.84853787
Error típico	28.6368027
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	28385.6677	28385.6677	34.613862	0.00201531
Residuos	5	4100.33235	820.06647		
Total	6	32486			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	964.338736	154.092017	6.25820049	0.00152766	568.232596	1360.44488	568.232596	1360.44488
Variable X 1	-16.4767599	2.80057227	-5.88335466	0.00201531	-23.6758601	-9.2776597	-23.6758601	-9.2776597

APÉNDICE 1.8

CORRELACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE CONTRA CONTENIDO DE FENOLES

Resumen ($\mu\text{mol trolox/ g}$ - mg GAE/100 g)

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.97905676
Coeficiente de determinación R^2	0.95855214
R^2 ajustado	0.95026256
Error típico	0.05003862
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	0.2895304	0.2895304	115.63348	0.00012055
Residuos	5	0.01251932	0.00250386		
Total	6	0.30204971			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	2.41016003	0.06105672	39.4741169	1.9668E-07	2.25320874	2.56711132	2.25320874	2.56711132
Variable X 1	0.00863493	0.000803	10.7533009	0.00012055	0.00657075	0.01069912	0.00657075	0.01069912

Resumen (% Inhibición - mg GAE/100 g)

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.97880523
Coeficiente de determinación R^2	0.95805968
R^2 ajustado	0.94967162
Error típico	0.93650177
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	100.172394	100.172394	114.217024	0.00012419
Residuos	5	4.38517787	0.87703557		
Total	6	104.557571			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	43.2739453	1.14271197	37.8695125	2.4189E-07	40.3365106	46.2113799	40.3365106	46.2113799
Variable X 1	0.1606149	0.01502867	10.6872365	0.00012419	0.12198249	0.19924732	0.12198249	0.19924732

APÉNDICE 1.9

CORRELACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE CONTRA CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Resumen ($\mu\text{mol trolox/g}$ - mg AA/100 g)

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.92592923
Coeficiente de determinación R^2	0.85734495
R^2 ajustado	0.82881393
Error típico	1.72717492
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	89.6419054	89.6419054	30.0495817	0.00275497
Residuos	5	14.9156661	2.98313322		
Total	6	104.557571			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	49.934666	1.11441001	44.8081637	1.0452E-07	47.0699839	52.7993481	47.0699839	52.7993481
Variable X 1	0.27325821	0.04984872	5.48174988	0.00275497	0.145118	0.40139842	0.145118	0.40139842

Resumen (% Inhibición - mg AA/100 g)

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.92535447
Coeficiente de determinación R ²	0.8562809
R ² ajustado	0.82753708
Error típico	0.09317759
Observaciones	7

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	0.2586394	0.2586394	29.7900873	0.00280784
Residuos	5	0.04341031	0.00868206		
Total	6	0.30204971			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	2.76848532	0.06012016	46.0492001	9.1201E-08	2.61394153	2.92302912	2.61394153	2.92302912
Variable X 1	0.01467794	0.00268924	5.45802961	0.00280784	0.00776503	0.02159084	0.00776503	0.02159084