

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

**PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



TESIS

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PECTINESTERASA Y LOS CAMBIOS DE
LAS PROPIEDADES SENSORIALES EN EL JUGO DE MANZANA DE LA
VARIEDAD GRANNY SMITH**

POR

MARIA DE LOS ANGELES GARCIA CALVO

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre, 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PECTINESTERASA Y LOS CAMBIOS DE
LAS PROPIEDADES SENSORIALES EN EL JUGO DE MANZANA DE LA
VARIEDAD GRANNY SMITH.**

POR:

MARIA DE LOS ANGELES GARCIA CALVO

TESIS

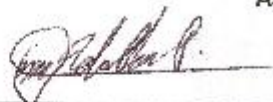
Que ha sido aprobada como requisito para obtener el título de:

INGENIERA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

El presente trabajo ha sido asesorado y aceptado de acuerdo al artículo 89 del
Reglamento de Académico para alumnos de licenciatura por el consiguiente Comité
asesor:



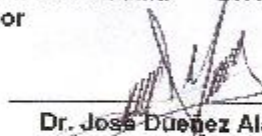
M.C. Xochitl Ruelas Chacón
Asesor principal



M.C. Oscar N. Reboloso Padilla
Asesor



Dr. Antonio F. Aguilera Carbo
Asesor



Dr. José Dúñez Alaris
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre, 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

TESIS

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PECTINESTERASA Y LOS CAMBIOS DE
LAS PROPIEDADES SENSORIALES EN EL JUGO DE MANZANA DE LA
VARIEDAD GRANNY SMITH.**

POR:

MARIA DE LOS ANGELES GARCIA CALVO

De acuerdo al artículo 90 del Reglamento para Alumnos de Licenciatura, se
somete a consideración del H. Jurado Examinador como Requisito Parcial para
obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

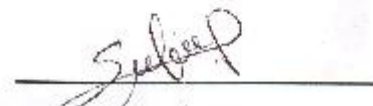
M.C. Xochitl Ruelas Chacón

Presidente



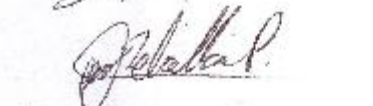
Dr. Félix de Jesús Sánchez Pérez

Vocal



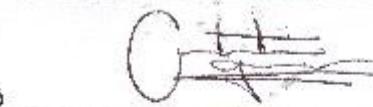
M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla

Vocal



Dr. Antonio Francisco Aguilera Carbó

Vocal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre, 2015

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios porque siempre me acompaña y protege durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida. Gracias Dios por haberme dado la fuerza, el coraje y el valor para culminar esta etapa de mi vida.

Agradezco también la confianza y el apoyo brindado por mi parte de mi madre Elida Calvo Hernández, quién me ha demostrado su amor incondicional celebrando mis triunfos y corrigiendo mis errores.

A mi padre que lo he sentido presente en mi vida y sé que está orgulloso de la persona en la cual me he convertido, que durante su estancia me enseñó a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar.

A mis hermanos por haberme apoyado una vez más, por sus consejos para afrontar los retos que se me han presentado a lo largo de mi vida.

A la MC. Xochitl Ruelas Chacón. Por haber sido mi asesora en esta investigación, por su apoyo, su enorme paciencia y dedicación para culminar este trabajo, pero sobre todo gracias por la amistad brindada en toda la carrera, demostró ser una persona comprometida con su trabajo, y un ejemplo a seguir, siga siempre adelante y nunca cambie.

A la Lic. Laura Olivia Fuentes Lara. Por todos los conocimientos impartidos en la clase, por su bondad, su amistad y la calidad humana brindada durante mi estancia en la carrera.

Dr. Antonio Francisco Aguilera Carbó. Por haber contribuido en la realización de este trabajo, por la orientación, apoyo y disponibilidad para ayudarme.

Dr. Heliodoro de la Garza Toledo. Por brindarme su apoyo en los momentos en que lo necesite, por la dedicación y empeño que pone en su labor como maestro, aprendí muchas cosas de usted que sé que me servirán de mucho.

MC. Sergio Sánchez Martínez. Que siempre estuvo dispuesto ayudarme en lo que necesitaba, gracias por su amistad y sus consejos durante nuestras conversaciones, de alguna forma también contribuyó en la elaboración del presente trabajo.

Dr. Félix de Jesús Sánchez Pérez. Por su enorme apoyo y disponibilidad para realizar el análisis estadístico para este trabajo y por transmitirme sus conocimientos y sus ideas para terminar el trabajo.

MC. Oscar Noé Reboloso Padilla. Por compartir sus conocimientos en las clases, por la amistad brindada y su apoyo en la elaboración de este trabajo.

A todos mis profesores no solo de la carrera sino de toda la vida, muchas gracias porque con sus enseñanzas, cariño y consejos de alguna manera forman parte de lo que ahora soy. A pesar de que algunos no los he vuelto a ver, aún están en mis pensamientos y los seguirán estando por siempre, porque un maestro ejemplar va dejando huella a donde quiera que vaya.

A mis amigos gracias por compartir alegrías, por apoyarme siempre que lo necesite, por aguantarme, por la confianza y por permitir que formara parte de sus vidas. A pesar de la distancia que nos separa siempre los llevare en mi corazón.

A mis tías y primos que de alguna manera sus conversaciones me ayudaron para seguir adelante y me motivaron para alcanzar mi meta.

Y gracias a todos y todas quienes de una u otra forma nos brindaron su ayuda para el término de este trabajo, agradezco de forma sincera su valiosa colaboración.

DEDICATORIAS

Primeramente a Dios por permitirme haber llegado hasta aquí, por ser mi mejor amigo y mi compañía en los momentos más difíciles por los que he pasado, ya que él nunca me abandonó.

A mis padres por estar conmigo incondicionalmente, porque sin ellos y sus enseñanzas no estaría aquí ni sería quien soy ahora.

A mi madre por ser el pilar más importante en mi familia, por ser mi confidente y mi ejemplo a seguir, siempre demostrándome fortaleza ante las adversidades y llenándome de consuelo. Y lo más importante gracias por haberme enseñado la existencia de Dios.

A mi padre por haberme enseñado que con dedicación y arduo trabajo se logran los objetivos, por su gran labor de hacer de mí y de mis hermanos personas de bien, donde quiera que estés sé que estás conmigo siempre.

A mis Hermanos, Maribel, Carmelino y Ediberto que me han apoyado desde siempre, por su amor y por las alegrías compartidas.

A mi tía Rosario por compartir los momentos más felices conmigo, así como los malos ratos y por siempre estar dispuesta a escucharme, aconsejarme y ayudarme en cualquier momento.

A mis tías y cuñada por formar parte de mi vida, por sus cariño, apoyo y comprensión.

A mis sobrinos porque al escuchar sus voz, sus risas y sus travesuras me alegraban mis días, y me contagiaban su alegría y sus ganas de vivir.

Con respeto y cariño

Ma. de los Angeles García Calvo

Ing. En Ciencia y Tecnología de Alimentos

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	III
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ÍNDICE DE CUADROS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
RESUMEN.....	VIII

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 OBJETIVOS.....	5
1.2.1 Objetivo general.....	5
1.2.2 Objetivos específicos.....	5
1.3 Justificación.....	6
CAPÍTULO II.....	7
REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
2.1 Manzana Granny Smith.....	7
2.1.1 Generalidades del fruto.....	8
2.1.2 Beneficios para la salud.....	9
2.2 Cambios durante la maduración de frutos.....	11
2.2.1 Pardeamiento enzimático.....	13
2.3 Pared celular.....	14
2.3.1 Sustancias pécticas.....	15
2.3.1.1 Generalidades de la pectina.....	16

2.3.1.2 Propiedades de sustancias pécticas	17
2.4 Enzimas pécticas	18
2.5 Pectinesterasa	19
2.5.1 Estructura tridimensional de PE.....	20
2.5.2 Mecanismo de acción	22
2.5.3 Sitio de unión enzima-sustrato.....	22
2.5.3.1 Sitio activo de la PE.....	23
2.5.4 Isoenzimas de PE	24
2.6 Tratamiento térmico	26
2.6.1 Inactivación enzimática.....	28
2.6.2 Tiempo y temperatura de inactivación	29
2.6.3 Efecto del tratamiento térmico en las enzimas	29
2.6.4 Efecto del tratamiento térmico en las propiedades sensoriales	30
2.7 Evaluación sensorial	31
2.7.1 Importancia de la evaluación sensorial.....	32
2.7.2 Propiedades sensoriales.....	33
2.7.2.1 El olor	33
2.7.2.2 El aroma	33
2.7.2.3 El gusto.....	33
2.7.2.4 El sabor	33
2.7.2.5 El color.....	34
2.7.3 Pruebas sensoriales	34
2.7.3.1 Pruebas afectivas	35
2.7.3.1.1 Pruebas de preferencia	35
2.7.3.1.2 Pruebas de grado de satisfacción	35
2.7.3.1.3 Pruebas de aceptación.....	36
CAPÍTULO III.....	37
MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
3.1 Material vegetal	37
3.2 Metodología	37
3.2.1 Obtención del jugo de manzana	37

3.2.2 Caracterización fisicoquímica	37
3.2.2.1 Determinación de pH	38
3.2.2.2 Determinación de °Brix	38
3.2.2.3 Determinación del color	38
3.2.3 Determinación de la actividad PE	38
3.2.4 Aplicación de tratamientos térmicos	39
3.2.5 Cálculo de las pruebas de Tukey ($P < 0.05$) para la actividad pectinesterasa	40
3.2.6 Determinación de la inactivación de PE	40
3.2.6.1 Cálculo del valor Z	41
3.2.6.2 Cálculo de la energía de activación (E_a)	41
3.2.7 Evaluación sensorial del jugo de manzana	41
CAPÍTULO IV	43
RESULTADOS Y DISCUSIONES	43
4.1 Diseño experimental	43
4.2 Caracterización del jugo de manzana	43
4.3 Efecto del tratamiento térmico en la actividad de PE	45
4.4 Determinación del valor D y k	47
4.5 Determinación del valor Z en el jugo	48
4.6 Determinación de la inactivación de PE en jugo de manzana	50
4.7 Resultados del análisis sensorial	51
CAPÍTULO V	54
CONCLUSIONES	54
CAPÍTULO VI	55
BIBLIOGRAFÍA	55
CAPÍTULO VII	67
ANEXOS	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química de la manzana variedad Granny Smith con piel.	10
Cuadro 2. Significado de los tratamientos térmicos aplicados	40
Cuadro 3. Codificación de las muestras de acuerdo al tratamiento térmico.....	42
Cuadro 4. Valores promedios de los análisis fisicoquímicos	43
Cuadro 5. Medias Tukey ($P < 0.05$) para cada tratamiento térmico	45
Cuadro 6. Valores D y constantes de inactivación (k) en jugo de manzana.....	48
Cuadro 7. Valor Z para la inactivación de la PE en el jugo de manzana	49
Cuadro 8. Resultados de las medias de Tukey ($P < 0.05$) para cada atributo	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Manzana de la variedad Granny Smith	8
Figura 2. Estructura esquemática de la pared celular vegetal.....	15
Figura 3. Estructura de la pectina.....	16
Figura 4. Estructura tridimensional de PE de zanahoria.	21
Figura 5. Acción de la PE sobre el ácido poligalacturónico.	22
Figura 6. Sitio de unión enzima-sustrato..	23
Figura 7. Representación del sitio activo.....	24
Figura 8. Tratamientos térmicos a diferentes temperaturas y tiempos.....	46
Figura 9. Logaritmo D contra la Temperatura.....	49
Figura 10. Dependencia de la temperatura de la constante de inactivación (k) de la PE en jugo de manzana.	51
Figura 11. Muestras tratadas térmicamente	53

RESUMEN

En los últimos años se ha observado que los consumidores tienden a otorgar mayor importancia a la calidad de los alimentos que consumen, interesándose no sólo por el valor nutritivo de los mismos sino por el grado de satisfacción y placer que los mismos le brindan. Es así que en la actualidad, la elección de los alimentos se hace en función de su calidad o “grado de excelencia”, que comprende conceptos como valor nutritivo, aspecto, textura, aroma y sabor. Es por eso que el consumidor prefiere que algunos jugos como los de manzana y pera, tengan un aspecto cristalino, para lograrlo se agregan pectinasas (pectinesterasa) al jugo para disminuir la viscosidad.

El objetivo del presente trabajo fue inactivar la pectinesterasa (PE) a través de tratamientos térmicos y evaluar los cambios sensoriales después de cada una de ellos. Los resultados se analizaron con un diseño completamente al azar y prueba de Tukey ($P \geq 0.05$) para las diferencias significativas. Para lograr el objetivo se elaboró el jugo de manzana de la variedad Granny Smith, el cual se caracterizó fisicoquímicamente. El jugo se trató con diferentes tratamientos térmicos para inactivar la PE, donde se utilizaron temperaturas de 50 °C hasta 90 °C durante 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos. Posteriormente se realizó la evaluación de la actividad pectinesterasa, tomando como referencia la actividad enzimática de la muestra control (jugo fresco sin tratamiento térmico).

Se realizó una evaluación sensorial con 21 jueces semientrenados para evaluar los cambios de las propiedades sensoriales del jugo tratado a diferentes temperaturas y tiempos. La prueba sensorial aplicada fue una hedónica utilizando una escala de nueve puntos.

La inactivación de la pectinesterasa se logró a 70 °C por 25 minutos, las constantes de velocidad de inactivación fueron 0.0066, 0.0568 y 0.1181 min^{-1} para las temperaturas de 50, 60 y 70 °C, respectivamente.

El valor Z fue de 16.02 °C y la energía de activación (E_a) fue 31.7681 Kcal/g-mol.

Los resultados de la evaluación sensorial muestran que tratamientos térmicos aplicados a las muestras de jugo evaluadas afectaron los atributos evaluados. Hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las muestras en cuanto a los atributos de color, apariencia y aceptación global. Sin embargo, no hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) para los atributos de olor y sabor.

Palabras claves: Actividad pectinesterasa, jugo de manzana, evaluación sensorial, inactivación enzimática, propiedades fisicoquímicas.

CORREO ELECTRONICO; **María de los Ángeles García Calvo,**
anghy_sunrise@hotmail.com

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La manzana es uno de los frutos más antiguos y más cultivados en el mundo, su cultivo se extendió por todo el mundo con tal rapidez debido a que se adapta con facilidad a diversos climas, llegó a España gracias a los Romanos y Árabes. Entre sus múltiples beneficios que nos brinda, está su variada textura y sabores (variedades), su precio asequible y sus diversos valores nutrimentales, por lo que es considerada como la “fruta de la salud” (Eroski Consumer, 2012).

A pesar de que su origen es incierto, se cree que es originaria de las zonas templadas de Europa, donde se le puede encontrar en estado silvestre. Cien años después de su introducción en España, su cultivo emigró de América del Norte, y después a África y Australia. Posee una gran capacidad para resistir temperaturas bajas lo que ha permitido que pueda ser cultivada en climas muy fríos (Comité Nacional Sistema Producto Manzana A.C., 2012).

Actualmente, el país que tiene la mayor superficie plantada a nivel mundial con este cultivo es China, en el 2009 ocupó un 41% de superficie plantada seguida de la Federación Rusa con 7.1%, le sigue la India 5.7%, Irán 3.6% y Polonia con 3.5% (Bravo, 2011).

La producción mundial la sigue ocupando China, quién en el 2010 obtuvo una producción de 43%, el segundo lugar lo ocupa Estados Unidos con una producción de 7% lo que representa 27 toneladas por hectárea para el mismo año, le siguen países como: Polonia, Francia, Italia y Turquía. Cabe mencionar que Francia e Italia mantienen una producción estable, ya que son considerados como países con el más alto rendimiento en campo. En el año 2010 China incrementó su producción de manera relevante al pasar de 4.3

millones a 27 millones de toneladas (Comité Nacional Sistema Producto Manzana A.C., 2012).

Los principales países exportadores de este fruto en el año 2005 y que además representan dos tercios de las exportaciones mundiales son: China, Chile, Francia, Italia, Estados Unidos y Polonia (FAO, 2011).

Sin embargo, pese a la producción, solo el 10.8% de producción mundial de manzanas llega al mercado, ya que los mayores productores como China, India e Irán abastecen la demanda interna de sus países (Bravo, 2011).

La producción a nivel nacional está conformada principalmente por los estados del Norte; Chihuahua, Coahuila y Durango, aportando una producción nacional de 82%. Sin embargo el primer lugar tanto en rendimiento como en producción, lo ocupa Chihuahua, ya que aporta más de dos tercios de la producción nacional. En segundo lugar se encuentran Coahuila seguido de Durango (Comité Nacional Sistema Producto Manzana A.C., 2012).

En Coahuila, la producción en el 2010 fue de 1.8 millones de cajas, que fueron recolectadas en más de 7 mil hectáreas establecidas (Agencias, 2010). En este estado la producción está referida básicamente al municipio de Arteaga con una superficie de 7,015 hectáreas y una producción de 36,984 toneladas en el 2011, seguida por el municipio de General Cepeda con 3 hectáreas, cabe mencionar también la participación de ejidos tales como: El tunal, La Carbonera, Huachichil, Mesa de las Tablas y San Antonio de las Alazanas (Noriega, 2012).

Es un fruto que se utiliza para consumo en fresco (71%), alrededor del 20% se destina para la elaboración de productos derivados, de los cuales el 65% se utiliza para elaborar concentrado de jugo de manzana y la cantidad restante para jugo, sidra de manzana, vino, purés de manzana, mermeladas, entre otros (Rachana y Gupta, 2010).

Para extraer el jugo y pulpa de las frutas se realiza de diversas formas y el método varía de acuerdo al tipo de fruta, algunas se necesitan precocer con el fin de ablandarlas y facilitar la molienda, otras como los cítricos, son cortadas a la mitad y exprimidas mecánicamente o bien se realiza un proceso de extracción que consiste en introducir en el interior del fruto un tubo con orificios, que al aplicar una fuerza externa a la fruta exprimiéndola, se provoca que el jugo fluya por dichos orificios, sin remover la cutícula (Barreiro y Sandoval, 2006).

El jugo de fruta es extraído de la partes comestibles, generalmente son turbios por la presencia de residuos sólidos de los tejidos, suspensiones coloidales de los componentes celulares, de tal forma que el jugo contiene de 5 a 20% de materia sólida en relación al peso del fruto. Por lo que se aplican enzimas como la llamada pectinesterasa (PE), poligalacturonasa (PLG) y pectinliasa (PL) que son capaces de hidrolizar las sustancias pécticas, reduciendo así la viscosidad (clarificación), eliminando la turbidez, aumentando al mismo tiempo el rendimiento del jugo, y mejorando el color, para desarrollar mejores productos procesados de frutas (López y Modrego, 1994).

Sin embargo la clarificación por vía enzimática está asociado con la pérdida de calidad de algunos jugos ricos en PE, como los cítricos y tomate de mesa (*Solanum lycopersicum*), ya que esta enzima está relacionada con la separación de fases, pérdida de turbidez, modificación de la textura, reducción en la viscosidad, pérdida de color y poca retención del sabor (Maca *et al.*, 2013).

Una enzima es un catalizador biológico que realiza una serie de reacciones bioquímicas a velocidades muy altas con un alto grado de especificidad, lo que hace que su estudio sea de gran importancia, ya que muchas veces son las responsables de los cambios químicos que se dan en los alimentos como por ejemplo la oxidación, oscurecimiento enzimático o bien pueden ser benéficas para la maduración de las frutas, la conservación de los

alimentos, conservación de nutrientes y mejorar las propiedades sensoriales del mismo (textura, color, sabor, etc.). Como ya se sabe, la velocidad de la reacciones aumenta con el incremento de la temperatura (aumenta la energía cinética de moléculas), pero solo si la enzima se encuentra en su temperatura óptima, ya que si el incremento es muy elevado, trae como consecuencia la desnaturalización de la enzima y por lo tanto, pierde su actividad enzimática. Cada enzima tiene su temperatura óptima para realizar al máximo su actividad, para la mayoría la temperatura óptima se sitúa alrededor de 30 y 45 °C, mientras que a 60 °C son inactivadas, a esta temperatura, en el sistema se introduce energía que sobrepasa la energía que mantiene activa la estructura de la enzima (Badui, 2006).

De acuerdo a investigaciones realizadas, la inactivación de la PE se puede llevar a cabo mediante la pasteurización, el cual es un procedimiento relativamente suave, además, este proceso contribuye al aumento de la vida útil del alimento, siempre y cuando se mantenga en refrigeración posteriormente o se combine con otros métodos de conservación. Actualmente, los consumidores buscan alimentos con larga vida útil, de alta calidad, con las mínimas pérdidas de nutrientes y cualidades sensoriales, para satisfacer dichas demandas, los fabricantes de alimentos están utilizando la pasteurización a altas temperaturas y tiempos cortos (HTST), pasteurización a ultra alta temperatura (UHT) y el envasado aséptico para mejorar sus procesos de conservación (Maca *et al.*, 2013).

En el presente trabajo se busca encontrar las condiciones adecuadas en cuanto a temperatura y tiempo para la inactivación completa de la pectinesterasa en el jugo de manzana, así como evaluar los cambios en la calidad de las propiedades sensoriales del jugo después del tratamiento térmico a través de la evaluación sensorial de un panel de jueces semientrenados.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

Optimizar el proceso de pasteurización en base a la dependencia en la temperatura de la inactivación enzimática y el tiempo.

1.2.2 Objetivos específicos

- ❖ Obtener y caracterizar el jugo de manzana.

- ❖ Evaluar la actividad enzimática de la PE a 30 °C.

- ❖ Inactivar la enzima pectinesterasa aplicando la pasteurización a diferentes tiempos y temperaturas.

- ❖ Evaluar los cambios de las propiedades sensoriales de los jugos de manzana después de los tratamientos térmicos aplicados.

1.3 JUSTIFICACIÓN

Son muchas las investigaciones que se han hecho acerca del estudio de la actividad enzimática de la pectinesterasa, así como el estudio de su inactivación a diferentes temperaturas para distintos frutos tales como, la maracuyá, tamarindo, carambola, fresa y guayaba, entre otros.

Sin embargo, no hay estudios que reporten las condiciones de operación para evaluar la actividad de la pectinesterasa y las condiciones adecuadas para el tratamiento térmico que tiene como fin la inactivación de pectinesterasa en manzanas de la variedad Granny Smith. Cabe mencionar que en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Saltillo, Coahuila, aún no se han realizado investigaciones de este tipo.

Por todo lo expuesto anteriormente, existe la necesidad de investigar cuales son los mejores parámetros en cuánto a tiempo y temperatura para lograr la inactivación completa de la pectinesterasa en jugo de manzana, ya que Saltillo, Coahuila ocupa el segundo lugar en producción de manzana a nivel nacional, razón por la que se obtienen grandes volúmenes de producción los cuales podrían procesarse para elaborar jugos, purés, néctares, etc.

Sin embargo, los productores desconocen las condiciones óptimas para llevar a cabo un proceso de inactivación de esta enzima para obtener productos de calidad, ya que como bien se sabe si la enzima después de realizar la clarificación sigue trabajando y afecta las características sensoriales de los productos. Además, al someter al jugo de manzana a procesos de pasteurización, éste se ve afectado en características sensoriales que pueden no ser agradables al consumidor.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Manzana Granny Smith

El origen de esta variedad se debe a la familia Smith, quiénes fueron los que la produjeron por primera vez. Según las investigaciones, María Ann Smith nació en Inglaterra en el año 1800, posteriormente emigró junto a su esposo a Australia en 1838 y se establecieron en Sydney. En el mercado de Sydney le dieron unas semillas de manzanas francesas llamadas cangrejo, éstas eran de naturaleza silvestre, la Sra. Smith las sembró para su propio uso, más tarde el Sr. Smith realizó injertos con esta manzana y fue así como surgió la nueva variedad (Warner, 2011).

Las grandes plantaciones de esta manzana empezaron a partir de 1920, y fue hasta en la década de 1980 que llegó a ocupar el 40% de la producción en Australia y Nueva Zelanda. Dos de los pioneros de esta nueva variedad fueron Grady Auvil y Dan Gebbers quiénes la produjeron en el estado de Washington en la década de 1970, de ahí que Washington produzca la mayor parte de manzana Granny Smith en los Estados Unidos (Warner, 2011).

Esta variedad es conocida mundialmente, al principio en su desarrollo vegetativo presenta ramas largas y flexibles con tendencia a perder hojas en la zona basal y fructificaciones en las puntas, con lo que provocan el arqueado de las ramas y el revestimiento de la parte basal. Su período de producción es rápida y su nivel de producción es alta (Grupo Fomesa, 2015b).

El fruto es de color verde, con lenticelas blancas que aparecen dependiendo del clima y de la insolación de los frutos, como se observa en la figura 1. Estos puntos blanquecinos es lo que hace que se pueda diferenciar de las demás variedades, los frutos más expuestos a la luz pueden adquirir una tonalidad rosada. Su forma es redondeada, muy regular y homogénea, tiene un pedúnculo corto y delgado.

Su textura es consistente, firme y crujiente y la pulpa es de color blanco-verde, jugosa y de gusto marcadamente ácido, en el momento de la recolección (Grupo Fomesa, 2015b).



Figura 1. Manzana de la variedad Granny Smith (Eroski Consumer, 2012)

2.1.1 Generalidades del fruto

El manzano puede alcanzar una estatura máxima de 10 metros, su tronco es derecho, la cubierta que se encuentra entre los ramos es lisa y de un color verde cenizo, mientras que en los tallos viejos, la cubierta es escamosa y de un color gris pardo, el árbol tiene vida promedio de 60 y 80 años (Comité Nacional Sistema Producto Manzana A.C., 2012).

No necesita de luz y calor para llevar a cabo su maduración, razón por la cual se considera que es más resistente que el peral al frío. Sufre más con los excesos de calor que con los de frío, por eso prefiere climas húmedos que a secos. Incluso puede soportar temperaturas inferiores a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, aunque a temperatura de $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ puede perder algunas yemas florales. Otra diferencia en comparación con el peral, es que es menos exigente con respecto al tipo de suelo, debido a que se adapta a la mayoría, aunque prefiere el silíceo-arcillosos (Comité Nacional Sistema Producto Manzana A.C., 2012).

Las distintas variedades del manzano se diferencian por los colores que tienen, encontrándose cuatro grupos: verdes, rojas, amarillas y bicolors.

Son muchas las variedades de manzanas las que existen, pero dentro de las más relevantes se encuentran: Golden Delicious, Rome Beauty, Top Red, Red Delicious, Starking, Royal Gala, Granny Smith, Golden Supreme, Reineta Gris y McIntosh (Comité Nacional Sistema Producto Manzana A.C., 2012).

Las manzanas y tomates son considerados frutos climatéricos, ya que pueden separarse de la planta antes de estar maduros, ya que una vez cortados pueden finalizar su maduración, incluso en ocasiones, la maduración se adelanta como consecuencia de la separación. Sin embargo la manzana Granny Smith se comporta de diferente manera, ya que la producción de etileno en ésta se inicia hasta que han pasado varios días de la recolección, por lo que presenta niveles bajos de etileno en comparación con otras variedades (Soria, 1998).

En manzanas la producción de etileno durante el desarrollo del fruto es baja (0.04 ppm), sin embargo, en el inicio del climaterio suele aumentar de 0.5 a 1.0 ppm, para pasar a 100 ppm como valor máximo en poscosecha. Manzanas como Gala y Delicious muestran un elevado nivel de producción de etileno durante la cosecha y por lo contrario, las variedades Fuji y Granny Smith presentan niveles muchos más bajos y no aumenta el nivel de una manera significativa durante la cosecha, por lo cual su conservación es más fácil en relación a otras manzanas, siendo este factor determinante de su éxito en los mercados de exportación (Pomáceas, 2007).

2.1.2 Beneficios para la salud

La manzana es un fruto de alto valor nutritivo, hidrata y refresca, ya que contiene el 85% de agua, el azúcar que se encuentra en mayor proporción es la fructosa seguida por glucosa y sacarosa, contiene vitamina E y C. Es rica en

fibra por lo que ayuda al tránsito intestinal, contiene potasio uno de los minerales que contribuyen al buen funcionamiento el cuerpo, por su participación en la generación y transmisión del impulso nervioso y actividad muscular, mantiene el equilibrio del agua dentro y fuera de la célula. Entre muchos de sus beneficios están sus propiedades dietéticas que se debe a los flavonoides que contiene y a la quercetina (Comité Nacional Sistema Producto Manzana A.C., 2012).

Granny Smith es baja en calorías y alta en fibra dietética y potasio (Cuadro 1), proporcionando un mínimo de 80 calorías para una mitad de manzana, su fibra soluble se encuentra en la parte blanda interna de la manzana. Este fruto ayuda a estabilizar los niveles de azúcar en la sangre, lo cual es importante en las personas que padecen diabetes, ya que su fibra soluble retrasa la absorción de azúcar en el intestino delgado (Paredes, 2012).

Cuadro 1. Composición química de la manzana variedad Granny Smith con piel (Base de datos de nutrientes de USDA, 2012).

Valor nutricional por cada 100 g (3.5 oz)			
COMPONENTE	g/100 g*	COMPONENTE	mg/100 g*
Agua	85.46	Tiamina (vitamina B1)	0.019
		Riboflavina (vitamina B2)	0.025
Energía	58 Kcal	Niacina (vitamina B3)	0.126
		Ácido Pantoténico (vitamina B5)	0.056
Proteína	0.44	Vitamina B6	0.037
		Folato (vitamina B9)	3 µg
Grasas	0.19	Vitamina E	0.18
		Calcio	5
Carbohidratos	13.61	Hierro	0.15
		Magnesio	5
Azúcares totales	9.59	Fósforo	12
		Potasio	120
Fibra dietética	2.8	Sodio	1
		Zinc	0.04

*Contenido / 100 g de parte comestible (corteza y pulpa)

Esta variedad es uno de varios cultivares de manzano que tiene alto contenido de antioxidantes y cuenta con una alta concentración de fenoles al

igual que la variedad Galaxy entre las distintas variedades de manzanas (Palomo *et al.*, 2010).

En general, el consumo de manzanas puede prevenir la aparición de diversas enfermedades. Uno de los flavonoides presentes en manzanas es la quercetina, el cual se encuentra presente en la piel de la fruta, cuando se combina con la vitamina C aumenta las defensas del organismo.

De acuerdo a estudios realizados en la clínica de Mayo, la quercetina previene el cáncer de próstata, otro investigación realizada por la universidad de Cornell para estudiar la relación entre el consumo de manzanas y el cáncer de seno, encontró que, los tumores cancerosos de senos en ratas disminuyeron en 44% cuando fueron alimentadas de 1 a 6 manzanas diarias para el consumo humano en un periodo de 24 semanas (Troxler, 2015).

Otro de los beneficios del quercetina, es que protege al cerebro de enfermedades degenerativas, como lo es el Alzheimer y el Parkinson. Dos estudios más realizados en Inglaterra, demuestran que el consumo de dicho flavonoide disminuye en un 46% la probabilidad de sufrir cáncer de pulmón, es por eso que comer cinco manzanas semanales ayuda a mejorar el funcionamiento de los pulmones y disminuye las enfermedades respiratorias (Troxler, 2015).

2.2 Cambios durante la maduración de frutos

Cuando las frutas inician su proceso de maduración, sus componentes sufren una serie de transformaciones, tanto físicas como químicas, los fenómenos más destacados que ocurren son el ablandamiento, el endulzamiento y los cambios en el aroma, en la astringencia y el cambio de coloración. Esto se debe a que a pesar de que cuando se cosechan y son retiradas de las planta madre y de su fuente de nutrientes, éstas siguen estando vivas y respirando, por lo tanto, siguen realizando sus actividades metabólicas,

obteniendo energía a partir de la oxidación de azúcares, ácidos orgánicos y otros sustratos produciendo CO₂ y agua (Ansorena *et al.*, 1999). Todas estas transformaciones que se dan influyen durante el almacenamiento, transporte y comercialización, afectando también su valor nutrimental (Bohn, 2008).

Una de los índices de madurez de fácil y rápida medición es la firmeza de la pulpa, y ésta va cambiando conforme la maduración de la fruta (Hernández *et al.*, 2010).

Dependiendo de cómo se lleve a cabo la maduración de los frutos, se clasifican en climatéricos y no climatéricos.

Cuando los climatéricos se retiran de la planta, se activa la producción de etileno para iniciar la maduración, la cual es una hormona vegetal que se encuentran en forma natural en las plantas, participa en el crecimiento, desarrollo, maduración y envejecimiento de las plantas. Y por el contrario las frutas no climatéricas para que puedan completar su maduración, necesitan permanecer unidas a la planta, si lo hacen antes de tiempo no alcanzan a madurar (Bohn, 2008).

La intensidad de respiración de un fruto, depende del grado de desarrollo en el que se encuentre y se define como la cantidad de CO₂ en miligramos que desprende 1 Kg fruta en una hora. Al inicio del crecimiento del fruto se presenta un incremento en la respiración que disminuye a medida que la fruta madura. (Ansorena *et al.*, 1999).

En la maduración de manzanas ocurren cambios importantes en la composición bioquímica del fruto, como la producción de etileno y la intervención de fitohormonas, durante este proceso, se disminuye el almidón y el ácido málico, lo que le da el dulzor característico a los frutos, y se incrementa la cantidad de azúcares como la fructuosa y algunas veces la sacarosa. También se presentan variaciones en los aminoácidos, compuestos fenólicos y formación de compuestos volátiles (Mangas *et al.*, 2010). Las sustancias pécticas, la hemicelulosa y celulosa son despolimerizadas, provocando cambios

en la textura y ablandamiento del fruto. Estos procesos producen cambios en la pared celular que en conjunto con la acción de las enzimas pécticas provocan la hidrólisis de la pectina, trayendo como consecuencia el ablandamiento del fruto (Mangas *et al.*, 2010).

2.2.1 Pardeamiento enzimático

Los pigmentos que se observan en las frutas y hortalizas frescas mínimamente procesadas son producidos por el pardeamiento enzimático, lo que provoca el oscurecimiento, así como los cambios de firmeza y textura en las mismas. Este deterioro es de suma importancia, ya que afecta la aceptación sensorial, calidad comercial y reduce el valor nutritivo de frutas y hortalizas.

Además de provocar un cambio de color, la reacción de la polifenoloxidasa (PFO), provoca el deterioro en la zona donde se lleva a cabo la reacción (Flores *et al.*, 2010). Además es un problema que enfrenta la industria alimentaria al momento de procesar algunas frutas como la manzana, plátanos, aguacate, papas, etc.

El oscurecimiento se efectúa de una manera muy rápida en los frutos que tiene abundantes compuestos fenólicos, ésta ocurre cuando el vegetal sufre daños en la pared celular debido a golpes o daños durante el proceso de pelado, corte, triturado, en la elaboración de jugos, en la congelación y deshidratación. En estos procesos los tejidos quedan expuestos lo que provoca que las enzimas endógenas entren en contacto con el oxígeno y lleven a cabo la reacción (Cheftel, 1998).

El pardeamiento enzimático es llevada a cabo por la enzima polifenoloxidasa (PFO), cuando está en contacto con el oxígeno, ya que oxida a los fenoles presentes en los vegetales para formar quinonas, posteriormente las quinonas reaccionan para producir las melaninas que son los pigmentos pardos responsables del oscurecimiento del fruto (Parzanese, 2015).

2.3 Pared celular

En las células vegetales se encuentra la pared celular, que es la estructura que le da forma y rigidez a la planta, protege el contenido celular, ayuda a transportar el agua, minerales, moléculas pequeñas y también contiene moléculas específicas para el crecimiento y proteger de enfermedades a la planta. Está formada por polisacáridos como la celulosa, hemicelulosa, lignina, ácidos fenólicos, proteínas, iones y agua.

Como se puede observar en la fig. 2 la pared celular se divide en tres zonas, la lámina media o también llamada sustancia intercelular, la pared primaria y la pared secundaria. La lámina media es amorfa, e inicia como una placa celular cuando se realiza la división celular, está compuesta por compuestos pécticos.

La pared primaria por su parte se forma después de la división celular que se encuentra asociada a protoplastos vivos, haciéndola reversible a los cambios. La pared secundaria se forma cuando la célula ha finalizado su crecimiento y se sitúa entre la pared primaria y la membrana plasmática y está formada por celulosa. Los polímeros que están unidos entre sí mediante enlaces hidrogeno, forman microfibrillas fuertes que le dan fuerza y rigidez a la pared celular de las plantas (Valenciaga y Chongo, 2004).

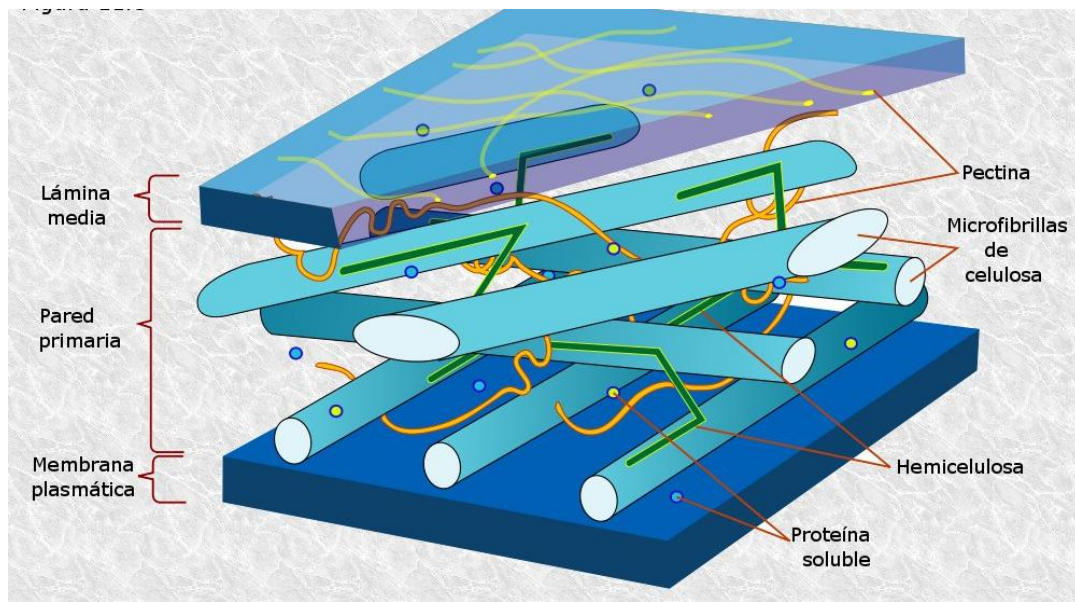


Figura 2. Estructura esquemática de la pared celular vegetal (Porto, 2015).

2.3.1 Sustancias pécticas

Las sustancias pécticas son las encargadas de proveer soporte y forma a los tejidos y frutos por encontrarse en la lámina media de la pared celular primaria. Las cuales sufren cambios en su contenido y estructura cuando se lleva a cabo el desarrollo fisiológico de los vegetales, procesos de transformación, lo que se relaciona con los cambios en la textura de los alimentos (Stückrath *et al.*, 1995). Están formadas por moléculas de ácido D galacturónico unidos mediante enlaces glucosídicos alfa 1-4, con metilos esterificados en el grupo carboxilo.

Se dividen en dos grupos: ácidos pectínicos que están formados por cadenas pequeñas de ácido galacturónico con grupos metilo esterificados y los que no presentan esterificación con los grupos metilo en la cadena de ácido poligalacturónico, que son llamados ácidos pécticos (Badui, 2006).

Otro tipo de sustancias pécticas que se encuentran en los tejidos inmaduros de los vegetales y se encargan de brindarle una textura rígida al fruto son las protopectinas, que son insolubles al agua y altamente esterificadas

con metanol, sin embargo, la actividad de las enzimas pécticas provoca que las pectinas se vuelvan solubles o se transformen en ácidos pectínicos durante el proceso de maduración (Badui, 2006).

Las pectinas son las que tienen mayor importancia que las otras sustancias pécticas, debido a que se encuentran en mayor cantidad en los frutos inmaduros, en frutos como manzana, peras y cáscaras de algunos cítricos: naranja, lima, toronja, limón, etc. Su distribución dentro del fruto varía, las pectinas más esterificadas están en la parte más interna, mientras que las menos esterificadas se encuentran en la periferia. Sus propiedades funcionales dependen de factores internos como en peso molecular y el grado de esterificación y de factores externos que incluyen el pH, sales disueltas y azúcares (Badui, 2006).

2.3.1.1 Generalidades de la pectina

La pectina está formada por cadenas de ácido galacturónico unidos mediante enlaces alfa 1-4, con esterificaciones en los grupos metilo, como se observa en la fig. 3. También son llamadas ácidos pectínicos y pueden tener de 200 a 1000 moléculas de ácido galacturónico en su estructura (Badui, 2006).

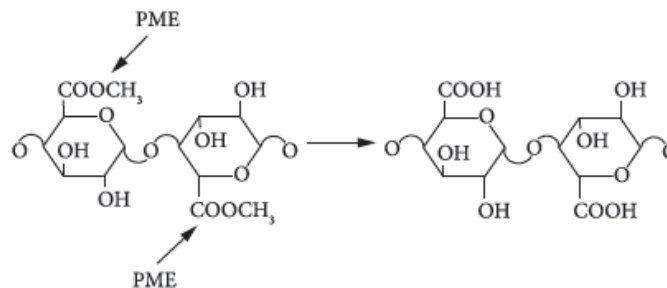


Figura 3. Estructura de la pectina (Lemke and Deliberali, 2011)

Las pectinas pueden extraerse de manera industrial a partir de las cáscaras de cítricos mencionados anteriormente y de manzanas, estas sustancias se clasifican de acuerdo a su grado de esterificación en pectinas de bajo metoxilo y pectinas de alto metoxilo. Las de bajo metoxilo al agregarles iones de calcio en un medio a pH de 2.8 a 6.5, lo que provoca que los grupos carboxilo se ionicen para establecer uniones iónicas con otras moléculas de pectina mediante el Ca^{+2} , mientras que los grupos hidroxilo de los residuos del ácido galacturónico retienen el agua cuando forman puentes de hidrógeno, creando de este modo, una estructura en forma de red, lo que le da la textura característica al gel, razón por la cual la pectina de bajo metoxilo se utiliza para elaborar postres, gelatinas y otros productos con consistencia de gel. Por el contrario las pectinas de alto metoxilo requieren de pH menores (2.0 a 3.5) para formar geles junto con la adición de azúcares. Una forma de hacer más resistentes a los frutos a las temperaturas altas al aplicarles tratamientos térmicos o ante la actividad de enzimas, puede ser mediante la adición de sales de calcio para formar pectatos de calcio lo que dará una mayor rigidez a la pared celular del fruto (Badui, 2006).

2.3.1.2 Propiedades de sustancias pécticas

Las sustancias pécticas son totalmente o parcialmente solubles en el agua. La solubilidad depende del grado de esterificación, la distribución de los grupos metilo en la cadena del ácido galacturónico, de la masa molecular y del número de cadenas secundarias. Una forma de transformar un ácido poligalacturónico insoluble a soluble, es mediante la neutralización de sus funciones carboxílicas, lo que explica que la hidrosolubilidad de las sustancias pécticas crezca con el grado de metilación. Estas sustancias son insolubles en la mayoría de disolventes orgánicos, pero solubles en formamida, dimetilformamida y dimetilsulfóxido.

Las sustancias pécticas se comportan como coloides reversibles, y existen en forma de polvos blanquecinos, por lo que si los precipitados de las disoluciones acuosas son secados, pueden volverse polvo otra vez sin sufrir modificaciones en sus propiedades físicas. Para obtener sus precipitados se aplican acetona, etanol e isopropanol, detergentes cuaternarios, poliamidas, entre otros.

Para la gelificación de las pectinas existe un pH límite de 3 a 4, esta relación se establece porque se produce una desprotonación de los carboxilos, mientras que las sustancias pécticas con alto grado de metilación, gelifican a pH menores (2.5 a 3) con adición de azúcar, esto se puede explicar porque la sacarosa tiene como función disminuir la hidratación de estas pectinas, con lo que se logra la fijación del agua y la destrucción de la envoltura hidratada de las pectinas (Navarro y Navarro, 1985).

2.4 Enzimas pécticas

Estas enzimas tienen como sustrato a las moléculas de pectina, pueden ser extraídas de distintas fuentes, por ejemplo, plantas, bacterias *Bacillus* y *Clostridium*, levaduras de *Saccharomyces* y *Rhodoturulla* y hongos como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Verticillium* (Lozano y López, 2011). Dentro de ellas Badui (2006) menciona que las más importantes en alimentos son las pectinesterasas (PE), que se encargan de hidrolizar a la pectina rompiendo los enlaces éster metílico de su conformación, otro grupo es el de poligalacturonasa (PGL), que rompe el enlace glucosídico α (1→4) del ácido galacturónico y el tercer grupo es el de las pectinoliasas o pectinliasa (PL) que rompe los enlaces β de ácido galacturónico, lo que ocasiona ligaduras dobles en los carbono 4 y 5 (Badui, 2006).

La PGL al romper los enlaces glucosídicos disminuye la viscosidad, se pueden encontrar en las plantas, tracto digestivo de algunos parásitos e insectos que descomponen la pectina de la madera (Lozano y López, 2011).

Son usadas en la industria de alimentos, por ejemplo en jugos para disminuir la viscosidad, que se logra con la hidrólisis de la pectina, contribuyendo así a facilitar la clarificación, filtración y concentración de jugos de frutas y vegetales. Razón por la cual se producen de manera industrial, extrayéndolas de fuentes vegetales o fuentes de microorganismos como *Aspergillus*, utilizando fermentación sólida o líquida para su producción (Lozano y López, 2011).

2.5 Pectinesterasa

La PE es una enzima que se encuentra en la pared celular vegetal de forma natural y es liberada cuando se realiza la extracción del zumo (Maca *et al.*, 2013). Participa en el metabolismo de las plantas y está relacionada con el proceso de crecimiento y maduración del fruto (Díaz y Trujillo, 1998).

Además las PE vegetales están involucradas en un número de procesos reproductivos y vegetativos tales como microsporogénesis y el crecimiento del tubo polínico, germinación de semillas, desarrollo de las raíces, crecimiento de las hojas, elongación del hipocótilo y maduración de la fruta. Recientemente también se ha encontrado que juegan un papel fundamental en la respuesta de la planta a un número de patógenos, tales como nemátodos, virus, hongos y bacterias (Reca *et al.*, 2012).

De acuerdo a su origen tienen un peso molecular alrededor de 25 a 54 kDa, su punto isoeléctrico varía, para PE fúngica tiene un punto isoeléctrico de 3.1 y para PE vegetal en este caso en el tomate, tiene un punto isoeléctrico de hasta 11.0, su termoestabilidad se encuentre entre un rango de temperaturas que van de 40 a 70 °C, las PE de origen vegetal son las más termoestables y menos termoestables para las de origen microbiano.

El pH óptimo se encuentra entre 6.0 y 8.0 (Aponte y Guadarrama, 2003). El conocimiento de su actividad a través de su dependencia a parámetros como

temperatura, pH y fuerza iónica es importante, para proteger, mejorar la textura, firmeza de frutos y vegetales procesados, para mantener la estabilidad de productos procesados así como su calidad (Díaz y Trujillo, 1998).

Para su estudio han sido extraídas a partir de varias plantas y algunos frutos como son: tomates, naranjas, lechosas, manzana y toronja de pulpa blanca, éstas difieren en lo que respecta a peso molecular, actividad, etc., dependiendo de la fuente de origen, incluso diferentes variedades de un fruto tienen PE con diferentes propiedades (Aponte y Guadarrama, 2003).

Existen otras investigaciones que también reportan el aislamiento y caracterización de PE extraídas de distintas fuentes, las cuales difieren en cuanto a propiedades cinéticas entre especies, han sido encontradas en naranja navel, manzana, kiwi, uva blanca, durazno y mandarina (Díaz y Trujillo, 1998).

Una de las características de la PE es que no desesterifica por completo a la pectina, su acción termina cuando se ha alcanzado un porcentaje de metoxilo de 0.7 a 1.6% y cuando desmetila al ácido galacturónico lo hace al azar (Lozano y López, 2011), atacando solo a los grupos éster que se encuentran unidos a grupos carboxilos libres a lo largo de toda la cadena, por lo que su actividad disminuye con los grupos ácidos formados. A pH de 7.5 se considera que presenta su actividad óptima. Los cationes metálicos, mono y divalentes si se encuentran en bajas concentraciones actúan como activadores de la enzima, por el contrario, si están en altas concentraciones inhiben la actividad (Navarro y Navarro, 1985).

2.5.1 Estructura tridimensional de PE

Hasta el día de hoy sólo se ha descrito la estructura tridimensional de la PE proveniente de la bacteria *Erwinia chrysantemi*, la de zanahoria y la de

tomate. Estas tres enzimas tienen una similitud en el plegamiento global de la estructura (Jolie *et al.*, 2010).

La estructura de la PE de zanahoria está formada por una estructura β hélice que está conformada por tres láminas β paralelas organizadas en forma de prisma. La lámina PB1 está en color café, la PB2 en verde y la PB3 en amarillo, como se puede observar en la fig. 4A. Las fibrillas enumeradas de BA1 a Bk1 corresponden a la lámina PB1, las enumeradas de β B2 a β J2 forman parte de la lámina PB2 y para la lámina PB3 por β B3 a β I3. Las espirales que están de color rojo forman parte de la hendidura de unión de la pectina, las que no participan en las láminas β se marcan con el color blanco. En la fig. 4B se observa la estructura de la PE con una rotación de 90° en el eje de las x, al igual que en la figura anterior, las láminas PB1, PB2 y PB3 se encuentran entre las fibrillas T1, T2 y T3 (Johansson *et al.*, 2002).

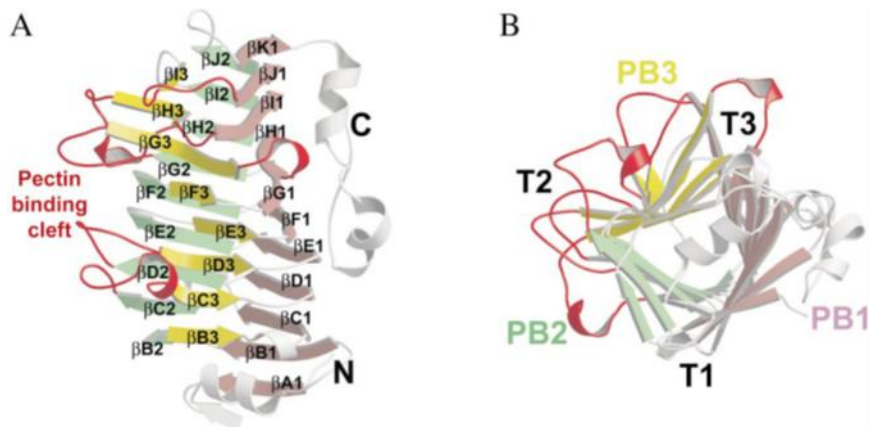


Figura 4. Estructura tridimensional de PE de zanahoria (Johanson *et al.*, 2002).

2.5.2 Mecanismo de acción

La PE desmetila a los grupos carboxilos libres que se encuentran en la cadena del ácido galacturónico unidos mediante enlaces alfa 1-4, las flechas blancas que se observan en la fig. 5 representa la acción de la PE sobre la pectina, la desmetilación provoca la liberación de metanol en el jugo (Camperi *et al.*, 1996), y la conversión de pectina a pectato que provoca la disminución del pH del jugo por la liberación de iones H_3O^+ , por cada μmol hidrolizado del grupo éster se libera un μmol de H_3O^+ , lo que propicia que la reacción pueda ser evaluada mediante un sistema potenciométrico calibrado (Lemke *et al.*, 2011).

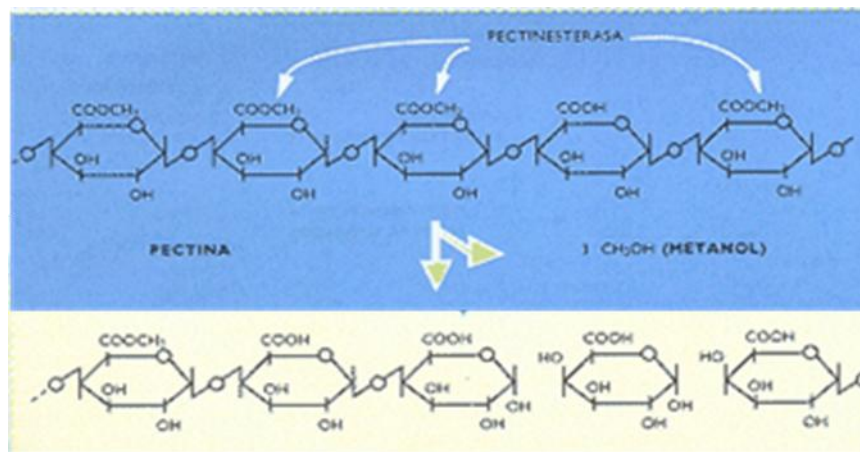


Figura 5. Acción de la PE sobre el ácido poligalacturónico (Camperi *et al.*, 1996).

2.5.3 Sitio de unión enzima-sustrato

En la fig. 6 se observa a la PE que se representa con el color azul, la hendidura que se puede ver en su superficie es poco profunda, sin embargo cuenta con todas las propiedades que se requieren para el sitio de unión de la pectina. La parte coloreada de naranja representa a los residuos aromáticos

característicos para la unión de carbohidratos, entre los residuos aromáticos presentes están: Fenilalanina 84 (Phe), Tirosina 139 (Tyr), Phe 160, Tyr 222, Triptófano 227 (Tpr), Phe 250 y Tpr 252. Este modelo es una pectina con una configuración aproximada de 21 hélices (con grupos carboximetilos apuntando en diferentes direcciones en residuos de carbohidratos sucesivos) que se encuentran acomodadas en la hendidura (Johanson *et al.*, 2002).

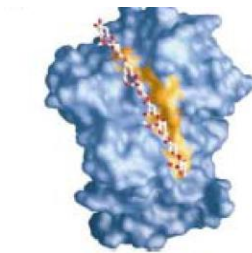


Figura 6. Sitio de unión enzima-sustrato (Johanson *et al.*, 2002).

2.5.3.1 Sitio activo de la PE

De acuerdo con Badui (2006), las enzimas que actúan como catalizadoras en una reacción, son proteínas globulares con una superficie irregular ya que presentan protuberancias y cavidades. Los aminoácidos polares dependiendo de cómo sea el plegamiento de la proteína, están presentes en la estructura globular de la superficie de la proteína y otros quedan ocultos dentro de ella, es por eso que la interacción con el sustrato se lleva a cabo en la superficie, y a esta zona se le llama sitio activo (Fig. 7).

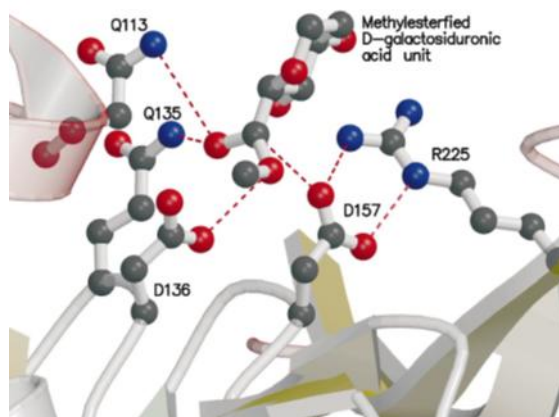


Figura 7. Representación del sitio activo (Johanson *et al.*, 2002)

En la fig. 7 se observa el sitio activo de la PE de zanahoria, la cual tiene como sustrato una unidad de ácido galacturónico metilesterificado. En él se observa que la Arginina 225 (Arg) está unida al ácido aspártico 157 (Asp) mediante enlaces de hidrogeno, que se mantiene posicionada para el ataque nucleofílico sobre el carboximetil, mientras que el Asp 136 durante la catálisis actúa como ácido/base, los residuos de Glutamina 113 y 135 (Gln) tienen la posibilidad de formar un agujero de aniones para la estabilización del intermedio tetraédrico cargado negativamente (Johansson *et al.*, 2002).

2.5.4 Isoenzimas de PE

Existen diversos estudios que demuestran la presencia de diferentes isoenzimas o isoformas de la PE en frutos y en otros tejidos vegetales. De acuerdo con De Sio *et al.* (1994), se han encontrado múltiples formas de PE en varios frutos como kiwis, manzanas, mandarina y naranja.

Al igual que las PE de distintas fuentes, las isoenzimas presentan diferentes pesos moleculares, pH, punto isoeléctrico, etc. Un ejemplo de ello son el rango de peso molecular las de origen vegetal (frutas) que oscila entre 10 a 57 kDa (Alonso, 2011).

En el tomate han sido identificadas ocho isoenzimas de PE, dos de ellas denominadas PME-1, se expresan específicamente en las frutas, y la segunda llamada PMEU1 expresión ubicua (Q43143) se encuentra en la fruta verde. Las isoenzimas pertenecen a miembros de la familia de proteínas multigénica, y afectan la actividad de las PE de plantas. Otra isoenzima encontrada posteriormente en el tomate es la codificada como SolyPMEI y está relacionada como un inhibidor en el kiwi, donde su objetivo es la inhibición de la actividad de la PE en fruta madura. Tanto la PE como la isoenzima SolyPMEI se expresan durante la maduración del fruto, la SolyPMEI además de inhibir la actividad de la PE, también se encarga de distribuir la pectina esterificada dentro del fruto (Reca *et al.*, 2012).

La forma en la que las isoenzimas inhiben a la PE vegetales es mediante la formación de un complejo estequiométrico con relación 1:1, la isoenzima se une al sitio activo propio de la enzima. Para demostrar la eficiencia de las isoenzimas sobre el control que tiene sobre la actividad de la PE, se hizo *in vivo* una exposición de los inhibidores AtPMEI y AtPMEI-2 (proteínas de la pared celular) en *Arabidopsis*. Los inhibidores actuaron con isoenzimas de PE endógenas y en tejidos transgénicos, los cuales mostraron una reducción significativa de la actividad PE y al mismo tiempo se presentó un mayor nivel de desesterificación de la pectina. Las plantas que fueron expuestas a AtPMEI también mostraron una reducción significativa en los síntomas causados por *Botrytis cinerea*.

Las especies de gramíneas que son dicotiledóneas contienen un bajo nivel de pectina en su pared celular, sin embargo, la presencia de un gran número de genes que codifican para PE y PMEI en las especies *Oryza sativa* (35 PE y 25 isoenzimas) y *Brachypodium distachyon* (29 PE y 38 isoenzimas) sugiere que la metil esterificación de la pectina podría desempeñar un papel fundamental en el desarrollo de la planta y como defensa en especies de gramíneas. Esto es respaldado por las investigaciones recientes que demuestran que la isoenzima encontrada en kiwi y en el trigo causó una

reducción significativa en la actividad PE endógena, aumento el nivel de la metil desesterificación de la pectina de la pared celular y mostró una resistencia mejorada a patógenos fúngicos (Rocchi *et al.*, 2011).

2.6 Tratamiento térmico

El tratamiento térmico se define como el proceso de optimización para el calentamiento de un alimento, donde se establecen las condiciones específicas para ajustar la relación entre el tiempo y temperatura para obtener productos seguros para el consumo (Talamás *et al.*, 2010). El tratamiento térmico se lleva a cabo mediante la transferencia de calor, y existen tres mecanismos para dicha transferencia los cuales son: conducción, convección y radiación, los cuales son observados cuando se aplica un tratamiento térmico a algunos alimentos.

La conducción se define como la transferencia de energía de una región de alta temperatura a una de baja temperatura, por ejemplo, cuando se asa carne en una plancha, la plancha (zona de alta temperatura) transfiere energía en forma de calor a la carne (zona de baja temperatura). La convección por su parte, es la transferencia de calor entre partes frías y calientes de un fluido (mezclándose), se puede observar cuando el agua hierve, el fluido de la superficie baja y el fluido del fondo sube, provocando el movimiento del líquido para mezclarse. Y por último la radiación es la transferencia de energía radiante de una fuente dadora a una fuente receptora, esta energía es absorbida por un receptor, aumentando de esta manera la temperatura del mismo, como cuando se calienta un alimento en el microondas (Pérez y Sosa, 2013).

Lo que se pretende con el tratamiento térmico es la conservación de los alimentos y de sus nutrientes, aumentando su vida útil, lo cual se logra al destruir los microorganismos que alteran el alimento, la inactivación de enzimas, reduciendo lo más posible la destrucción de nutrientes termolábiles y la aceleración de reacciones químicas. Se tienen dos tipos de tratamiento

térmico dependiendo de la relación entre la temperatura y el tiempo de aplicación: la pasteurización y la esterilización.

En la pasteurización debido a que se aplican temperaturas relativamente suaves (inferiores a 100 °C) generalmente de 65 a 70 °C, se aplica a alimentos de baja acidez ($\text{pH} > 4.5$) como la leche y el huevo líquido para eliminar microorganismos patógenos, disminuir la cantidad de microorganismos viables e inactivar enzimas y a alimentos ácidos ($\text{pH} < 4.5$), para destruir a todos los microorganismos que causan alteración y la inactivación de enzimas. La intensidad del tratamiento térmico y el grado de la prolongación de la vida útil está determinado en parte al pH del alimento.

En la esterilización las temperaturas de aplicación son superiores a 100 °C, con el fin de destruir totalmente toda la actividad microbiana y enzimática.

Los productos esterilizados a diferencia de los pasteurizados, tienen un tiempo de conservación mayor, alrededor de más de 6 meses y no requieren de la combinación de algún otro método de conservación, mientras que, los productos pasteurizados requieren de la aplicación de otro método de conservación como la refrigeración, cabe mencionar que éstos últimos no presentan cambios significativos en las propiedades sensoriales y nutrimentales, debido a las bajas temperaturas de exposición (Hernández y Sastre, 1999).

El tratamiento térmico más utilizado para estabilizar los productos es la pasteurización, que es un tratamiento suave que permite que el alimento aumente su vida útil a través de la destrucción de microorganismos patógenos e inactivación de enzimas, sin embargo, hay que establecer la relación entre tiempo y temperatura que ayude a lo anterior pero que al mismo tiempo se conserven las propiedades sensoriales y nutrimentales (Villarreal *et al.*, 2013). En los jugos comerciales el proceso que se utiliza para prolongar la vida útil es la pasteurización. No obstante, los jugos cítricos tienen grandes cantidades de ácido ascórbico, ácidos orgánicos y sales que durante el proceso y

almacenamiento provocan la degradación de azúcares, aminoácidos y fenoles (Acevedo *et al.*, 2002).

2.6.1 Inactivación enzimática

La velocidad de las reacciones químicas aumenta conforme aumenta la temperatura, al igual sucede con las reacciones enzimáticas. Sin embargo en las reacciones enzimáticas la velocidad aumenta cuando haya alcanzado una determinada temperatura, y cuando se llega a la temperatura óptima, la velocidad disminuye, por lo que el incremento de la temperatura favorece tanto el aumento de la velocidad como la inactivación de la enzima. Si la temperatura es inferior a la temperatura óptima, la velocidad de reacción es más alta, mientras que si la temperatura es superior a la óptima, ocurre la desnaturalización de la enzima.

La desnaturalización de la enzima se presenta debido a la naturaleza proteica de la enzima y a la estructura terciaria que presenta enlaces no covalentes débiles, y que al absorber la enzima demasiada energía provoca que los enlaces se rompan modificando la estructura e inactivando a la enzima (Arriaga *et al.*, 1979).

De acuerdo con Primo (1995), existen enzimas que son termorresistentes a una temperatura de alrededor de 100 °C. Esta capacidad se debe a que el hábitat térmico de algunas especies de enzimas se relaciona con su temperatura óptima de la misma. Así se tienen enzimas termorresistentes de bacterias termofilas que provienen de hábitat con temperaturas altas, contando con la ventaja de sus aplicaciones industriales por su resistencia a procesos de altas temperaturas.

Por otro lado, el pH también influye en la actividad enzimática, al igual que la temperatura existe un pH óptimo, lo que está relacionado con los cambios de carga eléctrica en función del pH. Para la acción catalítica el pH

debe ser el óptimo para tener las cargas equilibradas y necesarias para la afinidad con el sustrato, ya que si el pH es alto o bajo, puede darse que aumentan las cargas positivas o negativas lo que conduce a la destrucción de la estructura y se pierde la actividad por la desnaturalización. De ahí la importancia de que el medio para los ensayos de actividad debe estar a un pH óptimo (Primo, 1995).

2.6.2 Tiempo y temperatura de inactivación

Cuando se estudia la actividad de una enzima en relación al tiempo de calentamiento, se obtiene una serie de gráficas de cada una de ellas se puede calcular el valor D. el cual se define como el tiempo necesario para reducir un 90% la actividad de una enzima a una temperatura determinada.

Debido a que en un tratamiento térmico se utilizan diferentes valores de temperatura y tiempo, una enzima puede presentar distintos valores para D, su valor se obtiene de la inversa de la pendiente de graficar el log de la actividad enzimática contra la temperatura.

A partir de los valores D se pueden obtener el valor Z, que se define como aumento de la temperatura necesaria en °C para reducir el valor D en un 90% (UPNA, 2003).

2.6.3 Efecto del tratamiento térmico en las enzimas

La desnaturalización de las enzimas se traduce en la pérdida de su actividad, cualquier método que se utilice para dicho fin, con lleva a la destrucción de la proteína, debido a que la estructura es la que determina la actividad enzimática, cualquier cosa que altere esta estructura puede llevar a la pérdida de actividad. Como se sabe la estructura terciaria de las enzimas puesto que es proteína, mantiene sus estabilidad a través de la intervención de

múltiples enlaces no-covalentes de baja energía, al aplicar altas temperaturas (tratamientos térmicos) se afecta la estabilidad de estas interacciones no-covalentes de la estructura tridimensional, ya que eleva la entalpía de la molécula y se rompen dichos enlaces que mantienen el equilibrio, el calor aumenta la energía cinética lo que facilita el desplegamiento. Cabe mencionar que las proteínas con altos contenidos de aminoácidos hidrofóbicos como valina, leucina, isoleucina y fenilalanina generalmente son más estables (Badui, 2006).

2.6.4 Efecto del tratamiento térmico en las propiedades sensoriales

Como menciona Rodríguez *et al.*, (2010), la calidad de un producto está determinado por un conjunto de características relacionadas a la aceptabilidad del mismo. Este conjunto forma parte de la presentación, composición, pureza, tratamiento tecnológico y la conservación del producto y son los mismos los que hacen que sea o no apetecible para el consumidor.

Últimamente los consumidores prefieren alimentos de larga vida útil, que sean de alta calidad pero que presenten las mínimas pérdidas de nutrientes y propiedades sensoriales (Maca *et al.*, 2013), los productos de fruta mínimamente procesados como los jugos de fruta, jugos de fruta mezclada con leche, purés y batidos, para su mayor conservación son procesados con tecnologías térmicas convencionales, lo cual significa que se usan altas temperaturas en combinación con tiempos largos de proceso, lo que provoca el desarrollo de sabores desagradables como el de cocido, alteración del color y la pérdida de compuestos termolábiles, lo que se traduce en una menor calidad, de acuerdo con las investigaciones, los tratamientos térmicos están relacionados con la disociación de compuestos fenólicos, ácido gálico, ácido ferúlico y ácido cumárico (Benlloch *et al.*, 2013).

Una de las vitaminas más abundantes en vegetales y frutas es el ácido ascórbico, no obstante es un nutriente muy termolábil por lo que

frecuentemente se usa como un indicador de la calidad de los alimentos procesados térmicamente (Bayindirli, 2010). Por lo anterior es preciso optimizar las técnicas de procesamiento convencional (térmica) para evitar los cambios indeseables en la calidad sensorial y nutrimental, como cambios en la textura, sabor, color, vitaminas y así asegurar una buena calidad de los alimentos y la seguridad alimentaria (Fayyaz *et al.*, 1994).

2.7 Evaluación sensorial

El análisis sensorial es una disciplina científica que se encarga de medir, analizar e interpretar los juicios que se hacen en base a reacciones ante las características de los alimentos que se perciben a través de los sentidos: vista, olfato, gusto, tacto y oído. Por lo que se considera una ciencia que abarca una relación con la psicología, química, fisiología y la estadística. Dichas reacciones son producto de las señales que todos los órganos de los sentidos transmiten al cerebro, por medio de sensores localizados en la piel, nariz, lengua, músculos, ojos y oídos (Restrepo *et al.*, 2008).

Es una disciplina que nos permite calificar la calidad de un producto en base a la percepción de sus atributos, ya que mide y cuantifica las características de los alimentos, así la calidad puede estar considerada por los atributos de apariencia, olor, gusto y textura, los cuales fueron estudiados por primera vez en Francia en 1979 (Montenegro, 2008).

No obstante al realizar estas evaluaciones se puede enfrentar ante las inferencias debido a factores ambientales, prácticos y humanos, para evitarlo hay que tomar en cuenta la cantidad de muestra, la hora, orden de presentación, temperatura, información que se le da al juez, etc., (Restrepo *et al.*, 2008).

2.7.1 Importancia de la evaluación sensorial

La necesidad de adaptarse a los gustos del consumidor obliga a que, de una forma u otra, se intente conocer cuál será el juicio crítico del consumidor en la valoración sensorial que realizará del producto alimentario, ya que estos juicios tienen un comienzo en el lugar de venta de los alimentos, los cuales se seleccionan por los sentidos de la vista, olfato, gusto y tacto. Para conocer entonces los gustos, preferencias y requisitos para la aceptabilidad de un producto se hace uso del análisis sensorial. La medición de las propiedades sensoriales se emplea para el desarrollo de nuevos productos, reformulación de productos ya existentes, cambios ocasionados durante el procesamiento, almacenamiento, uso de nuevos ingredientes y mantenimiento de las normas de control de calidad (Watts *et al.*, 1995). Cada sentido proporciona una información valiosa y específica acerca de los productos, información relacionada como puede ser la apariencia, el olor, el aroma, el gusto y las propiedades quínicas o texturales (Anzaldúa Morales, 1994).

El análisis sensorial comprende un conjunto de técnicas de medición que son aplicables en institutos de investigación y en industrias alimentarias.

La aceptabilidad de un producto lo que pretende es medir el grado de gusto o disgusto de un producto y usualmente se implementa para evaluar un producto nuevo, donde la aceptabilidad se mide a través de escalas propias del análisis sensorial (Cutullé *et al.*, 2012).

De ahí la importancia del análisis sensorial de los alimentos, el cual es aplicable en muchos sectores, ya que no existe ningún instrumento que pueda reemplazar o producir el juicio humano acerca de la calidad de los productos y por ende su aceptación (Restrepo *et al.*, 2008).

2.7.2 Propiedades sensoriales

Las propiedades sensoriales son los atributos de los alimentos que son detectados a través de los cinco sentidos: olfato, gusto, tacto, vista y oído.

De las propiedades sensoriales de los alimentos podemos describir algunas como se hace a continuación:

2.7.2.1 El olor

Se refiere a la percepción de sustancias volátiles a través de la nariz, las sustancias atraviesan la mucosa pituitaria y después con las terminales nerviosas de los sensores del olor, se distingue por sus tres características que son: intensidad, persistencia y saturación, es considerado como el segundo filtro en la aceptación de un producto (CSIC, 2011).

2.7.2.2 El aroma

Es la percepción de las sustancias olorosas o aromáticas de un alimento después de haberse puesto éste en la boca. Dichas sustancias se disuelven en la mucosa del paladar y la faringe, y llegan a través de la trompa de Eustaquio a los centros sensores del olfato. El aroma es el principal componente del sabor de los alimentos, por lo que no se le puede evaluar si no es introducido en la boca (Anzaldúa Morales, 1994).

2.7.2.3 El gusto

El gusto de un alimento puede ser ácido (agrio), dulce, salado o amargo o puede haber una combinación de dos o más de estos cuatro. Dicha propiedad es detectada a través de las papilas que se encuentran en la lengua, y para su correcta determinación a veces en productos procesados necesitan de enmascaramiento de color y apariencia (CSIC, 2011).

2.7.2.4 El sabor

Esta propiedad sensorial de los alimentos es muy compleja, ya que es la combinación de gusto y aroma, por lo que si la nariz se encuentra tapada y sin

aire en la vía retronasal, el sabor no puede percibirse y tampoco el gusto o sabores básicos. Debido a que es una combinación, puede dividirse en sus componentes y notas, para evaluarlos de forma individual (CSIC, 2011).

2.7.2.5 El color

Esta propiedad se percibe a través del sentido de la vista y se considera como el primer filtro para la aceptación de un alimento, ya que su apreciación puede revelar información de dicho alimento como es la apariencia (forma, superficie, rugosidad, tamaño), normalidad o anormalidad (CSIC, 2011). El color de un objeto está determinado por tres características: tono, intensidad y brillo.

El tono está determinado por el valor de la longitud de onda de la luz reflejada, si se tiene de diferencia unos cuantos nanómetros se supone una mezcla con otro color, lo que forma un tono diferente. La intensidad por su parte depende de la concentración de las sustancias colorantes dentro del alimento u objeto. Y el brillo depende de la cantidad de luz que se refleja en el alimento.

Muchas veces el color puede condicionar o inferir en la respuesta de los jueces de los demás atributos sensoriales, por lo tanto, para evitar esta influencia se utiliza el enmascaramiento del color, lo cual se puede lograr uniformizando el color de todas las muestras usando colorantes artificiales o cambiando el color de la luz donde se efectúe el análisis.

Esto sucede cuando por ejemplo, se realizan pruebas de sabor o textura y se presenta un color desagradable, los jueces inconscientemente asocian el color desagradable que perciben con una textura o sabor desagradable, alterando así las respuestas de dichos atributos (Anzaldúa Morales, 1994).

2.7.3 Pruebas sensoriales

En el análisis sensorial existen tres tipos de pruebas; las pruebas afectivas, las discriminativas y las descriptivas.

2.7.3.1 Pruebas afectivas

Son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o disgusta, si lo acepta o lo rechaza, si prefiere uno u otro. Normalmente se emplean al menos 30 jueces y la realizan los propios consumidores, por lo que son apreciaciones personales. Las pruebas afectivas pueden clasificarse en tres tipos: pruebas de preferencia, pruebas de grado de satisfacción y pruebas de aceptación (CSIC, 2011).

2.7.3.1.1 Pruebas de preferencia

En esta se le presentan al juez dos muestras para que el de acuerdo a su juicio determine la preferencia de una a la otra y en la hoja de evaluación se le pone al juez un apartado de observaciones para explique el motivo de su preferencia (CSIC, 2011).

2.7.3.1.2 Pruebas de grado de satisfacción

Se aplica cuando se desea obtener más información del producto y cuando se tienen más de dos muestras, de esta forma se maneja de manera más objetiva datos tan subjetivos. Para llevar a cabo estas pruebas se utilizan las “escalas hedónicas”. La palabra “hedónico” proviene del griego ‘εδον, que significa placer. Por lo tanto, las escalas hedónicas son instrumentos de medición de las sensaciones placenteras o desagradables que produce un alimento a quiénes lo aprueban. Para tal propósito se utilizan escalas hedónicas verbales o gráficas (Anzaldúa Morales, 1994).

- Escalas hedónica verbales.

En esta los jueces hacen una descripción verbal de la sensación que les produce una determinada muestra entre las escalas que se les presentan. En el formato de evaluación, siempre se debe de tener un número impar (non) de puntos, lo cual indicará el punto central “ni me gusta ni me disgusta”. A este punto se le asigna generalmente una calificación de cero, mientras que los puntos que están por encima de este valor se les da una calificación positiva y

los que están por debajo, una calificación negativa, correspondiendo a calificaciones de disgusto (Anzaldúa Morales, 1994). La más empleada es la escala hedónica de nueve puntos (CSIC, 2011).

- Escalas hedónicas gráficas

En este tipo de evaluación se utiliza la descripción verbal a través de caritas o fotografías con puntuaciones equivalentes a la de la escala verbal, generalmente este tipo va dirigido a personas mayores o niños (CSIC, 2011).

2.7.3.1.3 Pruebas de aceptación

Se encarga de medir el deseo que siente la persona por adquirir el producto, su preferencia de él y su grado con el cual lo acepta. El formato de evaluación es muy complejo por contener pregunta de carácter socioeconómico y la pregunta de la disposición de adquirir el producto (CSIC, 2011).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Se utilizaron manzanas de la variedad Granny Smith, en estado de madurez fisiológica, procedentes del mercado de la Central de Abastos localizado en Saltillo, Coahuila (101°59 '17" longitud oeste y 25°23 '59" latitud norte). Se realizó una selección visual por color uniforme, tamaño mediano y sin evidencia de enfermedades (sanas).

3.2 Metodología

3.2.1 Obtención del jugo de manzana

Las manzanas se desinfectaron con cloro (0.1%) durante 15 minutos, después fueron lavadas con agua y secadas. Para eliminar la parte central donde se encuentran las semillas, se utilizó un sacabocados, posteriormente, se cortaron en pequeños trozos para pasarlos a un extractor y así obtener el jugo, el cual se filtró con la ayuda de una manta de cielo con el fin de eliminar residuos sólidos. Para realizar los análisis fisicoquímicos, el jugo se colocó en un recipiente hermético y se almacenó a una temperatura de 4 °C.

3.2.2 Caracterización fisicoquímica

Para la caracterización del jugo se analizó el pH, color y °Brix realizando tres réplicas de cada uno de ellos.

3.2.2.1 Determinación de pH

El pH se determinó con la ayuda de un potenciómetro de la marca Hanna combo HI 98129, donde el electrodo se sumergió en la muestra y se anotó la lectura.

3.2.2.2 Determinación de °Brix

Para determinar los sólidos solubles (expresados como grados °Brix), se utilizó un refractómetro de la marca ATAGO, se colocó una gota de jugo sobre el instrumento y se procedió a registrar la lectura.

3.2.2.3 Determinación del color

Para la medición del color se utilizó un colorímetro de la marca Konica Minolta CR-400. Con coordenadas L, a* y b*. Y se registró la lectura.

Dónde:

L= corresponde a la luminosidad de 0 (negro) a 100 (blanca)

a= valores negativos indican verde mientras valores positivos indican rojo

b= valores negativos indican azul y valores positivos indican amarillo

3.2.3 Determinación de la actividad PE

La actividad de la PE se determinó siguiendo el método del pH estático reportado por Coronel (2003) con algunas modificaciones. Se utilizó una alícuota de 20 mL de una solución de pectina al 1% de NaCl, ajustando el jugo previamente a un pH de 7.5, posteriormente se mezcló con 2 mL de extracto enzimático y se dejó en agitación por 30 minutos. Al cabo de ese tiempo se midió el pH y se tituló con una solución de NaOH 0.001N hasta alcanzar el pH de 7.5 nuevamente.

Los resultados se expresaron como unidades de pectinesterasa UPE/mL (meq/minmL) donde la actividad de la enzima se expresa como microequivalentes de éster hidrolizados durante el tiempo de tratamiento por gramo de jugo. La actividad de la enzima pectinesterasa se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{UPE} = \left(\frac{v \frac{N}{1000}}{t * a} \right) * 10^6$$

Dónde:

v = volumen de la solución de NaOH usado para titular

N = normalidad de la solución de NaOH usado para titular

t = tiempo de agitación

a = alícuota

3.2.4 Aplicación de tratamientos térmicos

Se realizaron de acuerdo a la técnica reportada por Bigelow y Esty (1920). Se colocaron 10 mL de jugo en tubos de vidrio Pyrex (13.5 x 160 mm) y se colocaron en un baño termostado (Novatech). Se les aplicaron tratamientos térmicos en un rango de temperaturas entre 50 y 90°C por siete periodos de tiempos distintos (0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 min). Una vez terminado el tratamiento se enfriaron los tubos inmediatamente en agua helada (aproximadamente 4°C).

Para monitorear la temperatura del jugo durante el tratamiento térmico, se colocó un termopar tipo T en el centro de uno de los tubos (Coronel, 2003).

Al completarse el tiempo para cada tratamiento térmico, se procedió a determinar la actividad pectinesterasa haciendo 3 réplicas para cada uno de los diferentes tiempos.

3.2.5 Cálculo de las pruebas de Tukey ($P < 0.05$) para la actividad pectinesterasa

Para determinar si los tratamientos térmicos tendrían diferencia significativa en relación a la actividad de la pectinesterasa, se realizaron pruebas de Tukey para cada uno de ellos. En el cuadro 2 se especifica la simbología utilizada para nombrar a los tratamientos térmicos y el significado de cada uno.

Cuadro 2. Significado de los tratamientos térmicos aplicados

TRATAMIENTO	TIEMPO Y TEMPERATURA
T1C50	5 minutos a 50 °C
T2C50	10 minutos a 50 °C
T3C50	15 minutos a 50 °C
T4C50	20 minutos a 50 °C
T1C60	5 minutos a 60 °C
T2C60	10 minutos a 60 °C
T3C60	15 minutos a 60 °C
T4C60	20 minutos a 60 °C
T1C70	5 minutos a 70 °C
T2C70	10 minutos a 70 °C
T3C70	15 minutos a 70 °C
T4C70	20 minutos a 70 °C

3.2.6 Determinación de la inactivación de PE

Con los datos obtenidos de la actividad de pectinesterasa, se graficó el logaritmo natural de la actividad enzimática en función del tiempo. A partir de esta grafica se obtuvo la pendiente, la cual está relacionada directamente con

las constantes de velocidad (k) y por medio de la ecuación $D = 2.303/k$, se despejó la fórmula para obtener los valores de k.

3.2.6.1 Cálculo del valor Z

El parámetro Z se define como los °C necesarios para incrementar o disminuir el valor de D a una décima parte.

Para obtener el valor Z se graficó el log D contra la temperatura, calculando a Z como el inverso negativo de la pendiente de la gráfica resultante (UPNA, 2003).

3.2.6.2 Cálculo de la energía de activación (Ea)

Para el cálculo de la energía de activación (Ea) en el jugo, se emplearon los valores D convertidos a valores de k.

Las constantes de velocidad de inactivación (k) se emplearon para obtener la energía de activación mediante la siguiente ecuación:

$$Ea = m \cdot R$$

Dónde:

m= pendiente obtenida de graficar el logaritmo natural de k contra del inverso de la temperatura absoluta (ln k vs 1/T).

R= es la constante de los gases (1.987 cal/g-mol K).

3.2.7 Evaluación sensorial del jugo de manzana

El objetivo de la evaluación sensorial fue determinar diferencias entre el nivel de agrado de los atributos de color, sabor, olor, apariencia y aceptación global de las distintas muestras sometidas a tratamiento térmico. Se trabajó con

21 panelistas semientrenados y los cuales evaluaron el nivel de agrado de las muestras utilizando una escala hedónica de nueve puntos. La escala se estableció de un criterio del 1 al 9 donde el 9 indica que la muestra es extremadamente agradable y el 1 indica extremadamente desagradable.

El jugo se preparó y se aplicaron los tratamientos correspondientes, las muestras se sirvieron en vasos transparentes de plástico con aproximadamente 10 mL de jugo y se presentaron a los panelistas, codificados con números de tres dígitos tal y como se observa en el cuadro 3. Además se les anexó un cuestionario de evaluación sensorial.

Cuadro 3. Codificación de las muestras de acuerdo al tratamiento térmico

Codificación de la muestra	Tratamiento térmico
450	Control (jugo fresco)
208	50 °C por 30 minutos
173	60 °C por 20 minutos
614	70 °C por 25 minutos

Para analizar los resultados del análisis sensorial, se evaluaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) para cada atributo evaluado, a un nivel de confianza de 5%. Las muestras que presentaron diferencia significativa se analizaron con la prueba de Tukey ($P \geq 0.05$).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar y el análisis de los resultados obtenidos se evaluaron por medio de un análisis de varianza (ANOVA) con el paquete de Microsoft Office Excel 2007 y el programa R. Y al encontrar diferencias significativas se realizó un estudio de medias mediante la prueba de Tukey. Para el análisis estadístico se utilizó una $P = 0.05$ como nivel significativo y para cada tratamiento se evaluaron tres repeticiones.

4.2 Caracterización del jugo de manzana

Los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico del jugo de manzana Granny Smith se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Valores promedios de los análisis fisicoquímicos

Determinaciones fisicoquímicas	Valor promedio
pH	3.58
Contenido en sólidos solubles (°Brix)	11.5
Color	
L	49.76
A	4.21
B	22.55
UPE/mL	0.030

Un factor característico de las manzanas Granny Smith es su alto contenido de acidez, encontrando un pH de 3.58, que de acuerdo con Pacheco (2009), las manzanas poseen un pH de alrededor de 2.8 a 3.3, sin embargo este puede diferir en relación a las condiciones del cultivo. El valor correspondiente a los °Brix fue de 11.5, lo que significa que las manzanas utilizadas para los ensayos se encontraba en su punto óptimo de madurez, ya que las manzanas Granny Smith se recolectan cuando tienen de 11 a 12 °Brix (Grupo Fomesa, 2015a).

Con respecto al color, el jugo recién preparado tenía un color verde claro y a los 3 minutos se fue tornando café, además cabe mencionar que el jugo fue almacenado a 4 °C para posteriormente realizar las determinaciones de la actividad de la pectinesterasa para cada tratamiento térmico, lo que permitió que el jugo se oscureciera. Fennema (2015) menciona que las frutas al sufrir la disrupción de sus tejidos durante el procesamiento provoca que la PFO se active ocasionando el oscurecimiento de jugos, nectáres, jaleas y productos derivados.

Para determinar el color nos basamos en el valor del parámetro L junto con los valores de cromaticidad a y b positivos (Mendez *et al.*, 2006), lo que nos dio como resultado el color café del jugo.

La actividad de la PE encontrada en este estudio a una temperatura de 30 °C fue de 0.030 UPE/mL, la enzima realizó a un pH de 7.5, valor reportado como un pH óptimo para pectinesterasas en vegetales, este valor es menor en comparación a los valores citados por Moreno (2003) de 0.045 UPE/mL para néctar mango-piña y 4.59 para néctar de guanaba (Flores, 2004). Sin embargo es un valor superior al reportado por Ramírez (2002) de 0.001117 UPE/mL en néctar mango. Esta diferencia puede deberse a la variedad de la fruta, como bien menciona Fayyaz *et al.*, (1994) las enzimas de distintas variedades difieren en sus propiedades en relación a pH, temperatura, NaCl para poder expresar su actividad óptima y como señala Badui (2006), mientras más pura sea la enzima,

expresará una mayor actividad por miligramo de proteína o bien por los diferentes métodos utilizados al momento de medir la actividad.

4.3 Efecto del tratamiento térmico en la actividad de PE

El jugo de manzana con PE fue expuesto a tres temperaturas (50, 60 y 70 °C) con siete tiempos (0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 min), con 3 réplicas para cada prueba. En el Anexo 1, se observan los resultados de la actividad enzimática de la PE, en los cuales se indica que hubo diferencia significativa ($P < 0.05$), lo que significa que los tratamientos térmicos influyen estadísticamente los resultados de la actividad de la PE en el jugo de manzana.

A continuación en el cuadro 5, se muestran los resultados de las medias de Tukey ($P < 0.05$) de la actividad de la pectinesterasa para cada tratamiento térmico del jugo de manzana de la variedad Granny Smith.

Cuadro 5. Medias Tukey ($P < 0.05$) para cada tratamiento térmico

Tratamiento	Medias Tukey ($P \geq 0.05$)	Tratamiento	Medias Tukey ($P \geq 0.05$)
T2C50	0.5317a	T2C70	0.2605abcd
T3C50	0.4060ab	T1C70	0.2332abcd
T1C60	0.3742abc	T4C60	0.1514bcd
T4C50	0.3166abcd	T2C60	0.1166bcd
T1C50	0.3151abcd	T3C70	0.103bcd
T6C50	0.2954abcd	T3C60	0.1029bcd
T5C50	0.2939abcd	T4C70	0.0227cd
T7C50	0.2711abcd	T5C70	0.0105d

*Medias con la misma letra no presentan diferencia significativa

De acuerdo a los resultados anteriores, los tratamientos más recomendables para estudiar la actividad de la pectinesterasa serían a partir de

la temperatura de 50 °C por 5 minutos, 50 °C por 10 minutos, 60 °C por 0 minutos y 50 °C por 0 minutos y 15 minutos respectivamente. Ya que después de estos tratamientos, la actividad de la pectinesterasa comienza a bajar de manera inmediata. Valores similares se han encontrado en cuanto a temperaturas para medir la actividad de PE, así se tiene un valor de 55 °C para PE de papas y 65 °C para PE de papaya (Carabali *et al.*, (2009).

Para comprender mejor la actividad enzimática de la PE, se muestra la fig. 8. Donde se observa en el eje de las “x” los tratamientos térmicos aplicados (temperatura y tiempo) y en el eje de las “y” la actividad enzimática de la pectinesterasa.

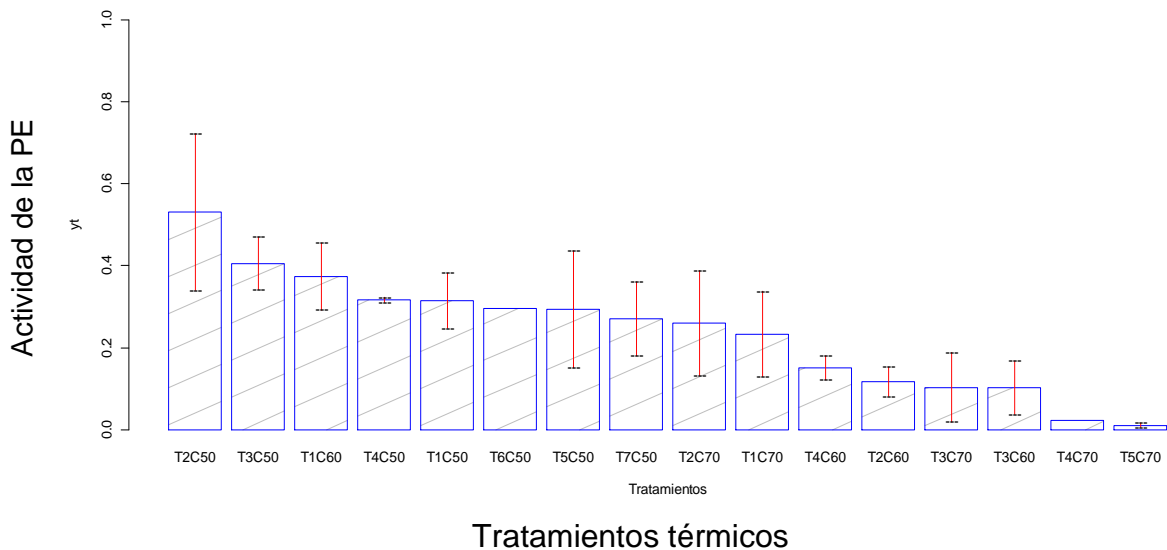


Figura 8. Tratamientos térmicos a diferentes temperaturas y tiempos

En la fig. 8 se observa como la actividad de PE desciende a medida que se aumenta la temperatura. Encontrando que una temperatura de 50 °C por 5 minutos (T2C50) presenta una mayor actividad a simple vista, sin embargo, tiene la desviación más grande con respecto a los demás tratamientos, por lo

que el tratamiento que presenta menos variación es el de 50 °C por 15 minutos (T4C50) tomándolo como referencia de actividad máxima.

Este valor difiere en lo reportado por Carabali *et al.*, (2009) donde la temperatura óptima para chayote es de 60 °C y 55 °C para papa, lo que puede deberse al tipo de fruto.

En los tratamientos con temperatura de 50 °C la actividad permanece constante y a partir de 60 °C comienza a descender. El comportamiento descendente de la actividad se debe a que a medida que la temperatura aumenta, la actividad también aumenta, sin embargo, llega un momento en el que la elevada temperatura provoca la desnaturalización de la enzima (Seymour *et al.*, 1991).

Cabe mencionar que al realizar los tratamientos térmicos se encontró que la enzima PE presente en el jugo de manzana de la variedad Granny Smith es reversible ya que en el tratamiento de 60°C por 20 minutos parece inactivarse, sin embargo a los 70 °C vuelve a retomar su actividad.

De acuerdo con Badui (2006) la actividad enzimática disminuye de manera irreversible, a valores de pH extremos por la desnaturalización proteica, sin embargo, existe un valor de pH donde la inactivación es reversible, ocasionado por la ionización reversible de grupos funcionales en el centro activo o en zonas que controlan la conformación enzimática.

4.4 Determinación del valor D y

Los valores D tienden a disminuir a medida que la temperatura se incrementa, mientras que los valores de la velocidad de inactivación tienen una relación proporcional a medida que la temperatura aumenta lo cual se puede apreciar en el cuadro 6.

Cuadro 6. Valores D y constantes de inactivación (*k*) en jugo de manzana.

Temperatura (°C)	D (min)	K (min^{-1})
50	166.66	0.006678
60	40.48	0.056884
70	13.35	0.118143

Los valores para la constante de inactivación difieren mucho de los resultados reportados por Argai y López-Malo (1995) en puré de papaya de 0.063 a 0.318 min^{-1} para un rango de temperaturas de 75 a 85 °C y 0.0648 a 0.2988 min^{-1} para néctar de papaya con las mismas temperaturas. Esta disparidad se puede deber a la presencia de isoenzimas en el jugo, ya que de acuerdo a Cameron, *et al.*, (1998) éstas se encuentran en los diferentes tejidos de las frutas, y presentan distintas propiedades cinéticas, se ha reportado la existencia de isoenzimas en la piel de naranja. Y pudiere ser también al amplio rango de temperaturas y tiempo aplicados.

Los valores D son superiores a los encontrados por Ramírez (2002) para néctar de guanábana con un valor D a 75 °C de 5.14 min, sin embargo, es inferior al reportado por Assis *et al.*, (2000) en acerola donde se encontró un valor D a 98 °C de 100 min. Dichas diferencias pueden ser explicadas debido al pH, a la presencia de solutos, y a la fuente de PE, ya que los PE extraídas de crudo son más termorresistentes que las PE purificadas o comerciales (Raviyan *et al.*, 2005) o bien, como menciona UPNA (2003), el tiempo de termodestrucción, es decir, el valor D, varía de acuerdo a cada temperatura, distintos organismos, entornos y condiciones fisiológicas.

4.5 Determinación del valor Z en el jugo

El valor Z se obtuvo de graficar el logaritmo de D contra la temperatura, obteniendo Z como el inverso negativo de la pendiente ilustrada en la fig. 9.

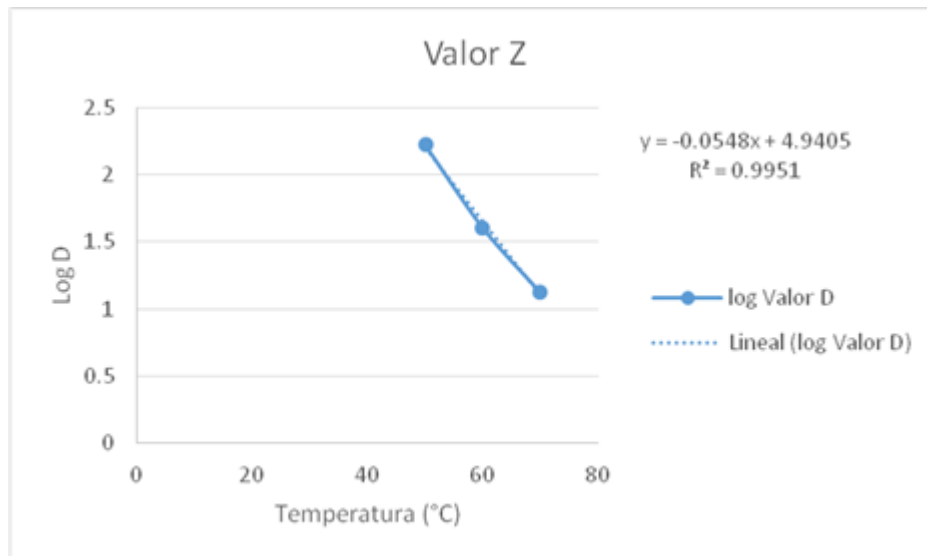


Figura 9. Logaritmo D contra la Temperatura

En el cuadro 7, se muestra el valor Z (temperatura necesaria para reducir un ciclo logarítmico el valor D) con un valor de 16.02.

Cuadro 7. Valor Z para la inactivación de la PE en el jugo de manzana

Temperatura (°C)	D (min)	Z (°C)
50	344.82	
60	40.48	16.02
70	19.49	

El valor Z es mayor en comparación con el valor Z encontrado que reporta Argáiz y López-malo (1995) para papaya que fue de 14.2. Sin embargo el valor es inferior al valor Z reportado por Stückerath *et al.*, (1998) en frambuesa de la variedad Meeker que fue de 35.1 °C y el reportado por Laratta *et al.*, (1995) para el jugo de tomate fue de 13 °C para temperaturas inferiores a 78 °C

y 29 °C para temperaturas superiores a 78 °C. Esto significa que el valor calculado está dentro de los valores reportados. No obstante es un valor alto lo cual quiere decir que la PE en la manzana Granny Smith junto con la de acerola y jugo de tomate son muy termorresistentes o quizá estos valores sean resultado del grado de maduración del fruto, la variedad, técnica de calentamiento y medición de la temperatura, así como el método de ensayo y la preparación enzimática (Raviyan *et al.*, 2005).

4.6 Determinación de la inactivación de PE en jugo de manzana

Para calcular la energía de activación (E_a) necesaria para lograr la inactivación de la PE en jugo de manzana Granny Smith se hizo a partir de los valores D y Z del cuadro 7.

La energía de activación para el jugo de manzana obtenida de la gráfica de Arrhenius (Fig. 10) fue de 31.7681 Kcal/g-mol, la cual es mayor a la E_a reportada para néctar de mango-piña de 14.571 Kcal/g-mol (Moreno, 2003), sin embargo es inferior en comparación con el valor para néctar de papaya que fue de 40 Kcal/g-mol (Argaiz, 1994).

Un valor alto para la energía de activación significa que la velocidad de reacción aumenta rápidamente con el aumento de la temperatura (Lemke *et al.*, 2011).

Muchas pueden ser la causa de tales diferencias, ya sea por la utilización de extracto crudo, presencia de isoenzimas o agregados proteicos, lo que provoca variaciones en la estabilidad térmica (Vivar *et al.*, 2007), por ejemplo como menciona Nunes *et al.*, (2006) pueden hallarse dos o más isoenzimas en un mismo fruto que difieren en cuanto propiedades cinéticas, peso molecular y punto isoeléctrico.

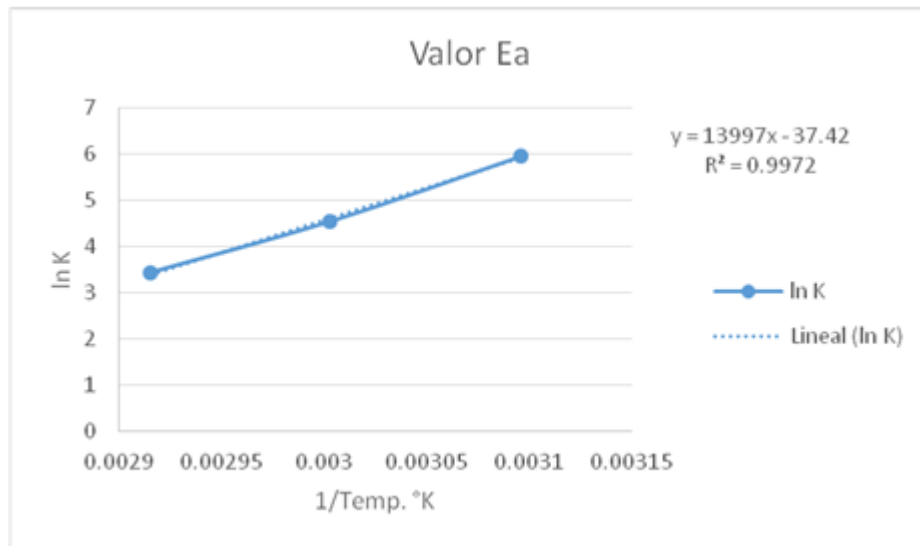


Figura 10. Dependencia de la temperatura de la constante de inactivación (k) de la PE en jugo de manzana.

Las diferencias en los valores de la Ea para distintos frutos pueden ser por la presencia de isoenzimas de PE en frutas, las isoformas presentan afinidades con el sustrato, velocidad de reacción y resistencia a la temperatura (Sadler, 1992). La cantidad de PE termoestable puede variar por la localización geográfica, época de cosecha y el manejo poscosecha y el tipo de fruto (Snir *et al.*, 1996), la estructura de los tejidos de la fruta y las diferencias experimentales en cada determinación de PE (Van Den Broeck *et al.*, 2000).

4.7 Resultados del análisis sensorial

La evaluación sensorial fue realizada por 21 jueces semientrenados, se aplicó una prueba hedónica para conocer si hay o no diferencia en el grado de satisfacción que presenta el jugo de manzana tratado térmicamente en comparación con el jugo fresco. La escala hedónica utilizada fue de 9 puntos (donde 1= extremadamente desagradable y 9= extremadamente agradable).

Los resultados del análisis sensorial de la prueba hedónica se muestran en el cuadro 8.

Cuadro 8. Resultados de las medias de Tukey ($P < 0.05$) para cada atributo

Muestras	Apariencia	Color	Olor	Sabor	Aceptación global
Control	7.66 a	7.71 a	6.80 a	6.57 a	7.33 a
T1C70	5.66 b	5.95 b	6.04 a	6.23 a	5.80 b
T2C50	4.85 bc	5.04 b	6.00 a	6.14 a	5.00 b
T3C60	4.14 c	3.90 c	5.85 a	5.52 a	4.61 b

*Medias con la misma letra no presentan diferencia significativa

Como se puede observar hay diferencia significativa ($P < 0.05$) con respecto a la apariencia, el color y la aceptación global, entre la muestra control y las 3 muestras tratadas térmicamente. Sin embargo, la muestra T1C70 y T2C50 no presentan diferencia significativa ($P < 0.05$) entre ellas, pero son diferentes a la T3C60 en cuanto a apariencia y color, en aceptación global las muestras T1C70, T2C50 y T3C60 no presentan diferencia significativa ($P < 0.05$). Cabe mencionar también que aunque el jugo de manzana sea sometido a los 3 tratamientos térmicos (T1C70, T2C50 y T3C60) los jueces detectaron que las muestras son iguales en cuanto a los atributos de olor y color comparadas con el jugo recién hecho (muestra control).

Lo resultados anteriores del análisis sensorial puede deberse a que durante los procesos de pasteurización se afecta la calidad final del producto, provocando cambios en el color, la pérdida de sabores y aromas característicos (Silva y Silva, 1999).

En el anexo 2 se muestra el ANOVA para cada uno de los atributos evaluados en el jugo de manzana como son: apariencia, color, olor, sabor y aceptación global.

Los jueces encontraron diferencia significativa ($P < 0.05$) en cada una de las muestras con respecto a la apariencia y el color. El cambio de color es una

herramienta que permite evaluar la calidad de los alimentos tratados térmicamente (Ahmed y Shivare, 2001).

De acuerdo a los resultados obtenidos del ANOVA (anexo 2), los jueces no encontraron diferencia significativa ($P < 0.05$) en cuanto a olor y sabor, lo cual quiere decir que todas las muestras presentaban igual o similar olor y sabor a la muestra control.

Con respecto a la aceptación global, se vio afectada por los tratamientos encontrándose diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las muestras evaluadas. De acuerdo a los comentarios de los jueces, las diferencias entre la muestra fresca y las procesadas con calor eran debido a la pérdida de la intensidad del color principalmente (Fig. 11).

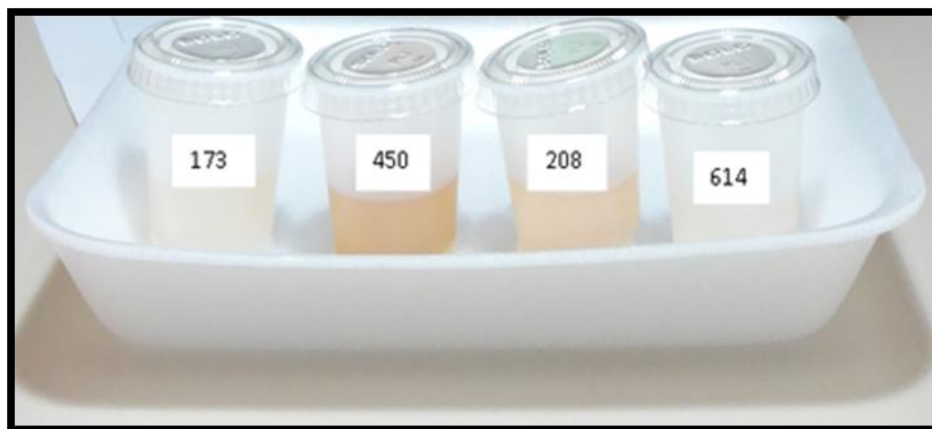


Figura 11. Muestras tratadas térmicamente

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

El jugo de manzana de la variedad Granny Smith tuvo un pH de 3.58 con 11.5 °Brix, valor correspondiente a frutas cosechadas en invierno. Y de acuerdo a los parámetros L, a y b el color del jugo se encuentra en la zona de tonalidades café.

La actividad pectinesterasa encontrada fue de 0.030 UPE/mL.

La enzima pectinesterasa de este estudio es reversible y es inactivada completamente a 70°C por 25 minutos. La inactivación de la enzima pectinesterasa presentó un valor Z de 16.02 °C. La energía de activación para la cinética de inactivación térmica de la pectinesterasa en el jugo de manzana de la variedad Granny Smith fue de 31.7681 Kcal/g-mol.

En la evaluación sensorial los jueces encontraron diferencias significativas en el color, apariencia y aceptación global, pero no se encontraron diferencias significativas en el olor y sabor. Lo cual significa que la aplicación de tratamientos térmicos repercuten en la apariencia del jugo de manzana Granny Smith así como su aceptación global por el aspecto visual que se percibe, sin embargo, no se perciben pérdida de olor y sabor en las muestras tratadas.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

Acevedo, Belén – Montiel y Mabel - Avanza, Jorge. 2002. Efecto del tratamiento térmico en la capacidad antioxidante total de jugos de pomelo, naranja y mandarina. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Argentina. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/08-Exactas/E-013.pdf>

Agencias. 2010. Coahuila entre los primeros lugares en producción agrícola y ganadera. Periódico Zócalo Saltillo, Saltillo, Coahuila. Disponible en: <http://www.zocalo.com.mx/seccion/articulo/coahuila-entre-primeros-lugares-en-produccion-agricola-y-ganadera>

Ahmed, J. and Shivare, U. 2001. Thermal kinetics of color change, rheology, and storage characteristics of garlic puree-paste. *J. Food Science*. Vol. 66(5): 754-757 págs.

Alonso G., M.A. 2011. Caracterización sensorial y fisicoquímica de manzanas Reineta y pera Conferencia, figuras de calidad en Castilla y León. Tesis Doctoral. Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. España.

Ansorena A., D.; Aquerreta A., Y.; Astiasarán A., I.; Bello G., J.; Candela D., M; Cid C., M.C.; Cuervo Z., M; Gimeno H., O; Ibáñez A., C; Martínez H., J.A.; Muñoz H., M.; Pascual O., L.; Peña F., M.P.; Santiago N., S.; Yoldi B., G.; Zapelena I., M.J.; Zazpe G., I. y Zulet A, M.A. 1999. Alimentos. Composición y propiedades. Ed. McGraw- Hill. Interamericana. Madrid, España. Págs.196-198.

Anzaldúa Morales, A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Ed. Acribia, S.A. España. Págs. 11-71

Aponte, L. y Guadarrama, A. 2003. Actividad de las enzimas pectinmetilesterasa, poligalacturonasa y celulasa durante la maduración de frutos de parchita maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener). *Rev. Facultad de Agronomía*. Volumen (29): 145-160 Págs.

Argaiz, A. 1994. Thermal inactivation kinetics of pectinesterase in acidified papaya nectar and purees. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Vol. 34(3): 301-309 págs.

Argaiz, A. y López-Malo, A. 1995. Cinéticas de primer cambio en sabor, desarrollo de sabor a cocido e inactivación de pectinesterasa en néctares y purés de mango y papaya. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Vol. 35(1): 92-100 págs.

Arriaga, M.D.; Soler, J.; Busto, F.; y Cadenas, E. 1979. Cinética enzimática. Universidad de Oviedo. Disponible en: https://books.google.com.mx/books?id=id8WZFV_NSIC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Assis, S.A.; Lima, D.C; and De Faira Oliveira, O.M.M. 2000. Acerola's pectin methylesterase: studies of heat inactivation. *J. Food Chemistry*. Volumen 71: 465-467 págs.

Badui D., S. 2006. Química de los Alimentos. Cuarta edición. Ed. Pearson Educación. México. Págs. 301-333.

Barreiro M., J. A.; y Sandoval B., A. J. 2006. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Ed. Equinoccio, Venezuela, pág. 113.

Bayindirli, Alev. 2010. Enzymes in Fruit and Vegetable Processing. Chemistry and Engineering Applications. Ed. CRC Press, U.S.A. Disponible en: <http://es.slideshare.net/didididi2/enzymes-in-fruit-and-vegetable-processing-book>

Benlloch T., M.; Igual, M.; Dolores, R.; and Nuria M., N. 2013. Comparison of microwaves and conventional thermal treatment on enzymes activity and antioxidant capacity of kiwifruit puree. *J. Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Volumen 19: 166-172 págs.

Bigelow, W.D.; and Esty, J.R. 1920. Thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms. *J. Infected Diseases*. Vol. (27): 602-617 págs.

Bohn. 2008. Las frutas y su proceso de maduración. Boletín de Ingeniería de Aplicación. México, D.F. Disponible en: http://www.bohn.com.mx/BOHN-2007/boletines2008/BOLETIN_33_NOV-DIC_2008.pdf

Bravo M., J. (2011). Mercado de la Manzana. ODEPA. Santiago, Chile. Disponible en: <http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/doc/4096.pdf>

Cameron G., R.; Baker A., R.; and Grohmann, K. 1998. Multiple forms of Pectinmethylesterase from citrus Peel and Their Effects on Juice Cloud Stability. *J. Food of Science*. Vol. 63(2).

Camperi, S. A.; Hours, R.A.; Auday, R.M.; Miranda, M.; y Cascone, O. 1996. Jugos de Fruta sin Metanol. *Rev. de Divulgación Científica y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy*. Volumen 6(33): s/pág. Disponible en: <http://www.cienciahoy.org.ar/ch/hoy33/jugos01.htm>

Carabali M., I.L.; Narvaez C., C.E.; y Restrepo S., L.P. 2009. Extracción y medida de actividad de pectinmetilestearasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*), enzima relacionada con el ablandamiento. *Rev. Acta Biológica Colombiana*. Vol. 14(2): 73-82 págs.

Cheftel, Jean. 1998. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de Alimentos. Zaragoza. Ed. Acribia. Pág. 664.

Comité Nacional Sistema Producto Manzana A.C. 2012. Plan Rector Sistema Nacional Manzana. Campus Tecnológico Monterrey, Puebla. Disponible en: http://dev.pue.itesm.mx/sagarpa/nacionales/EXP_CNSP_MANZANA/PLAN%20RECTOR%20QUE%20CONTIENE%20PROGRAMA%20DE%20TRABAJO%202012/PR_MANZANA_NACIONAL_2012.pdf

Coronel A., C.P. 2003. Cinética de inactivación enzimática y degradación de sabor en función de la temperatura en jugo de piña. Tesis de Licenciatura. Escuela de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas Puebla. Cholula Puebla.

CSIC. 2011. Curso de Análisis Sensorial de Alimentos. Instituto Mixto CSIC-UAM.

Cutullé, B.; Berruti, V.; Campagna, F.; Colombaroni, M.B.; Robidarte, M.S.; Wiedemann, A.; y Vázquez, M. 2012. Desarrollo y evaluación sensorial de galletitas de jengibre con sustitución parcial de harina de trigo por harina de arroz y lenteja (Gallentinas). *Rev. Diaeta*. Vol. 30(138).

De Sio, F.; Dipollina, G.; Villari, G.; Loiudice, R.; Laratta, B.; and Castaldo, D. 1994. Thermal resistance of pectinmethylesterase in tomato juice. *J. Food Chemistry*. Vol. 52. 135-138 págs.

Díaz D., R.S.; y Trujillo, L. 1998. Purificación y caracterización de Pectinesterasa extraída de frambuesa de la variedad Meeker. Información Tecnológica. Universidad de los Lagos. Osorno, Chile. Vol. 9(5). 45-48 pág. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=cVoQPdZ4Ra4C&pg=PA46&dq=pectinesterasa&hl=es&sa=X&ei=5NWeUumZMqG62AXzoYHIAQ&ved=0CC4Q6wEwAA#v=onepage&q=pectinesterasa&f=false>

Eroski Consumer. 2012. La manzana: fruto de la salud. Disponible en: <http://revista.consumer.es/web/es/20121101/pdf/alimentacion-3.pdf>

FAO. 2011. Chile fue el segundo mayor exportador mundial de manzanas. Chile. Disponible en: http://www.fao.org/agronoticias/agronoticias/detalle/fr/?dyna_fef%5Bbackuri%5D=%2Fagronoticias%2Fagronoticias%2Ffr%2F%3Fpage%3D6%26ipp%3D5%26L%3D1%26L%3D1&dyna_fef%5Buid%5D=95192

Fayyaz, A.; Asbi, B. A.; Ghazoli, Y.; Che Man, B.; and Jinap, S. 1994. Stability studies of papaya pectinesterase. *J. Food Chemistry*. Volumen (53): 391-396 págs.

Fennema, O.R. 2015. Introducción a la Ciencia de los Alimentos. Ed. Reverté, Barcelona, España. Págs. 529-588.

Flores A., E. 2004. Desarrollo de una bebida funcional de Maracuyá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*). Tesis de Maestría. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas Puebla. Cholula, Puebla.

Flores L., O.J.; Alvarado G., E.; Aguilera O., M.; Reza V., M.C.; Ramírez B., P.; y Candelas C., M.G. 2010. Inhibición del oscurecimiento enzimático y cambios texturales en manzana red delicious tratada con jugo de naranja acida (*Citrus aurantium* L), empacada para almacenamiento en congelación. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango, México.

Grupo Fomesa. 2015a. Indices de maduración para manzanas sólidos solubles. Valencia, España. Disponible en: http://www.fomesa.net/Calidad/Factores/F_03_10_2.htm

Grupo Fomesa. 2015b. Manzana-factores de calidad grupo Granny Smith. Valencia, España. Disponible en: <http://www.fomesa.net/Calidad/Calidad2.htm>

Hernández R., M.; y Sastre G., A. 1999. Tratado de Nutrición. Ed. Díaz de Santos. Madrid, España. Págs. 459-460.

Hernández, O.; Fuentes, M.; Sepúlveda, A.; Torres, C.; y Yuri, J. A. Pomáceas. 2010. Boletín Técnico. Universidad de Talca. Talca, Chile. Vol. 10(6). ISSN 0717-6910. Disponible en: <http://pomaceas.otalca.cl/html/Docs/pdf/BoletinNoviembre2010.pdf>

Johansson, K.; El-Ahmad, M.; Friemann, R.; Jörnvall, H.; Markovic, O; and Eklund, H. 2002. Crystal structure of plant pectin methylesterase. *J. FEBS Letters*. Vol. 514, 243-249 págs

Jolie, P.R.; Duvetter, T.; Van L., A.M.; and Hendrickx, M.E. 2010. Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review. *J. Carbohydrate Research*. Vol. 345: 2583-2595 págs.

Laratta, B.; Loiudice, R.; Giovane, A.; Quagliuolo, L.; Servillo, L.; and Castaldo, D. 1995. Thermostability of three pectinesterase isoenzymes in tomato fruit. *J. Food Chemistry*. Vol. 52: 415-418 págs.

Lemke G., L.S.; Aparecida L., R.C.; Borba C., E.B.; Mendes A., M.; and Deliberali, R. 2011. Pectin Methylesterase Activity determined by different methods and thermal inactivation of exogenous PE in mango juice. *J. Cienc. Agrotec. Lavras*. Volumen 35(5): 987-994 págs.

Lemke G., S.; and Deliberali R., N. 2011. Determination of pectin methylesterase in commercial pectinases and study of inactivation kinetics through two potentiometric procedures. *J. Cienc. Tecnol. Aliment*. Vol. 31(2): 412-417 págs.

López, C.J.; y Modrego, A. 1994. La Biotecnología y su aplicación industrial en España. Ed. CSIC-CSIC Press. España. Diponible en: https://books.google.com.mx/books?id=uwo0_FYSy9YC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Lozano, A.; y López, E. 2011. Endopoligalacturonasa y Pectinesterasa de *Aspergillus Niger*. *Rev. Colombiana de Biotecnología*. Vol. 3(2). 85-91 págs. Disponible en: <http://www.serida.org/pdfs/740.pdf>

Maca, M.P.; Osorio, O.; y Mejía E., D.F. 2013. Inactivación Térmica de Pectinmetilesterasa en Tomate de Árbol (*Solanum betaceum*). *J. Food Technology*. Volumen 24(3): 41-50 págs.

Mangas A., J.J.; Dapena de la Fuente, E.; Suárez R., M.; Moreno F., J.; Blanco G., D.; y Gutiérrez A., Ma. D. 2010. Evolución del contenido de pectina a lo largo de: la maduración y desarrollo de la manzana. Consecuencias prácticas para la recolección y posterior elaboración de sidra y otros derivados de la manzana. Información Técnica. Gobierno del Principado de Asturias. Consejería de Agricultura y Pesca. Asturias, España. Disponible en: <http://www.serida.org/pdfs/740.pdf>

Mendez A., O.; Evangelista L., S.; Arenas C., M.; Bermúdez T., K.; Villar M., A.; y Jiménez A., A. 2006. Cambios en la actividad de α -amilasa, pectinmetilesterasa y poligalacturonasa durante la maduración del maracuyá amarillo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa degener*). *J. Interciencia*. Vol. 31(10). 728-733 págs.

Montenegro, G.; Gómez, M.; Pizarro, R.; Casaubon, G.; y Peña, R.C. 2008. Implementación de un panel sensorial para mieles chilenas. *Rev. Cienc. Inv. Agr.* Vol. 35(1).

Moreno, L. 2003. Dependencia en la temperatura de cambios en atributos sensoriales, inactivación enzimática y microbiana, y degradación de ácido ascórbico durante tratamientos de pasterización en purés y néctares de mango-piña. Tesis de maestría. Universidad de las Américas-Puebla

Navarro G., G.; y Navarro G., S. 1985. Sustancias Pecticas: Química y Aplicaciones. Editum, Madrid, España. 5-17 págs.

Noriega Sofía. 2012. Crece 25% producción de manzana. El Diario de Coahuila. Julio. Locales. Disponible en: <http://www.eldiariodecoahuila.com.mx/notas/2012/7/31/crece-produccion-manzana-308210.asp>

Nunes S., C.; Castro M., S.; Saraiva A., J.; Coimbra A., M.; Hendrikx E., M.; and Van L., A.M. 2006. Thermal and high pressure stability of purified pectin methylesterase from plums (*prunus domestica*). *J. Food Biochemistry*. Vol. 30: 138-154 págs.

Pacheco E., L.A. 2009. Determinación de nutrientes en manzanas de las variedades fuji royal, granny smith y fuji en frutos libres y afectados por bitter pit. Tesis de Licenciatura. Departamento de Química Orgánica y Analítica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Chile. Santiago, Chile.

Palomo G., I.; Yuri, S.J.A.; Moore-Carrasco, R.; Quilodrán P., A.; y Neira E., Amalia. 2010. El consumo de manzanas contribuye a prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cáncer: antecedentes epidemiológicos y mecanismos de acción. *Rev. Chilena de Nutrición*. Vol. 37(3). 377-385 págs.

Paredes, E.T. 2012. Estudio del proceso de horneado con microondas y su efecto sobre la textura instrumental del fruto de cuatro variedades de manzana (*Pyrus malus* L.). Tesis de Licenciatura. Escuela Politécnica Nacional. Quito

Parzanese, Magali. 2015. Tecnologías para la Industria Alimentaria. Vegetales mínimamente procesados. Argentina. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_11_Vegetales.pdf

Pérez R., M.E.; y Sosa M., M.E. 2013. Mecanismos de transferencia de calor que ocurren en los tratamientos térmicos de alimentos. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. San Andrés Cholula, Puebla. Vol. 7(1). 37-47 págs.

Pomáceas. 2007. Boletín Técnico. Universidad de Talca. Talca, Chile. Vol. 7(1).
ISSN 0717-6910. Disponible en:
http://pomaceas.otalca.cl/html/Docs/pdf/2007_07_01.pdf

Porto A., A. 2015. Curso de Biología. Estructura Celular. España. Disponible en:
<http://www.bionova.org.es/biocast/tema11.htm>

Primo Y., E. 1995. Química Orgánica Básica y Aplicada. De la molécula a la industria. Ed. Reverté, España. Págs. 1020-1022. Disponible en:

Rachana, S.; and Gupta D. K. 2010. Utilization of pomace from apple processing industries: a review. *J. Food Sci Technol.* Vol. 47(4). 365-371 págs

Ramírez R., M.M. 2002. Cinética de inactivación enzimática y de degradación de color en función de la temperatura en puré y néctar de mango. Universidad de las Américas, Puebla.

Raviyan, P.; Zhang, Z.; and Feng, H. 2005. Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. *J. de Food Engineerin* . Vol. 70: 189-196 págs.

Reca, B.I.; Lionetti, V.; Camardella, L.; D'Avino, R.; Giardina, T.; Cervone, F.; and Bellincampi, D. 2012. A functional pectin methylesterase inhibitor protein (SolyPEI) is expressed during tomato fruit ripening and interacts with PE-1. *J. Plant. Mol. Biol.* Vol. 79, 429-442 págs.

Restrepo D., A.M.; Cortés R., M.; y Suárez M., H. 2008. Evaluación sensorial de fresa (*Fragaria xananassa* Duch.) y uchuva (*Physalis peruviana*L.) fortificadas con vitamina. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín.* Vol. 61(2).

Rocchi, V.; Janni, M.; Bellincampi, D.; Giardina, T.; and D'Ovidio, R. 2011. Intron retention regulates the expression of pectin methyl esterase inhibitor (Pmei) genes during wheat growth and development. *J. FEBS letters*. Vol. 14. 365-373 págs.

Rodríguez G., M.V.; Guzmán M., S.H.; Andrade E., E.; y Hernández, D. 2010. Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de jugo obtenido mediante tratamiento enzimático en zarzamora comercial (*Rubus spp*) del estado de Michoacán. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, Guanajuato., México

Sadler, G.D.; Parish, M.E.; and Wicker, L. 1992. Microbial, enzymatic, and chemical changes during storage of fresh and processed orange juice. *J Food Science*. Vol. 57 (5): 1187-1197 págs.

Seymour, T.; Preston, J.; Woocker, L.; Lindsay, J.; Wei, C.; and Marshall, M. 1991. Purification and properties of pectinesterases of marsh white grapefruit pulp. *J. Agriculture Food Chemistry* Vol. 39: 1080-1085 págs.

Silva, F.M.; and Silva, C.L. 1999. Colour changes in thermally processed cupuacu (*Theobroma grandiflorum*) puree: critical times and kinetics modelling. *Int. J. Food Science and Technology*. Vol. 34(1): 87-94 págs.

Snir, R.; Koehler, P.E.; Sims, K.A.; and Wicker, L. 1996. Total and thermostable pectinesterase in citrus juice. *J. Food Science and Thechnology*. Vol. 61: 369-382 págs.

Soria V., Y. 1998. El escaldado superficial en manzanas Granny Smith. Fisiología de la Alteración y estudio de métodos de control alternativo a la difenilamina. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria de Lleida, Lleida España.

Stückrath, R.; Díaz, D. y Trujillo, L. (1998). Purificación y caracterización de pectinesterasa extraída de frambuesas de la variedad Meeker. *Rev. Información Tecnológica*. Osorno, Chile. Vol. 9(5). 45-48 págs.

Stückrath, R.; Trujillo, L.; Navarro, M. y Sepulveda, A. (1995). Extracción fraccionada y cuantificación colorimétrica de sustancias pécticas en Frambuesas y Arándanos. *Rev. Información Tecnológica*. Osorno, Chile. Vol. 6(4). 11-16 págs.

Talamás, A. R.; Márquez M. R.; Quintero R. A.; Rodríguez S. V.; y Camacho D., A. 2010. Los tratamientos térmicos en alimentos ácidos empacados. *Rev. Synthesis*. Universidad Autónoma de Chihuahua. México. Abril-Junio. Disponible en: http://www.uach.mx/extension_y_difusion/synthesis/2011/06/13/los_tratamientos_t%C2%82ermicos_en_alimentos_cidos_empacados.pdf

Troxler W., S. 2015. North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services. *Food and Drug Protection Division*. Manzanas. North Carolina, E.U. Disponible en: <http://www.ncagr.gov/fooddrug/espanol/documents/Manzanas.pdf>

UPNA (Universidad Pública de Navarra). 2003. Microbiología General. Técnicas de eliminación y de conservación de microorganismos. Pamplona, España. Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2003.-%20Eliminacion%20y%20conservacion.pdf>

USDA. 2012. Full Report (All Nutrients): 09502, Apples, raw, granny smith, with skin. Disponible en: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2499?fg=&man=&facet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Full&new=1&measureby>

Valenciaga, D.; y Chongo, B. 2004. La pared celular. Influencia de su naturaleza en la degradación microbiana rumial de los forrajes. *Rev. Cubana de Ciencia Agrícola*. La Habana Cuba. Vol. 38(4). 343-350 págs.

Van Den Broeck, I.; Ludikhuyze, L.R.; Van L., A.M.; and Hendrickx. 2000. Effect of Temperature and/or Pressure on Tomato Pectinesterase Activity. *J. Agric. Food Chemistry*. Vol. 48(2): 551-558 págs.

Villarreal, D.Y.; Mejía E., D.F.; Osorio, M.O.; y Cerón C., A.F. 2013. Efecto de Pasteurización sobre características sensoriales y contenido de vitamina C en jugos de fruta. *Rev. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. Vol. 11(2). 66-75 págs.

Vivar V., M.A.; Salazar M., J.A.; Calva C., G.; and Ramos R., E.G. 2007. Extraction, thermal stability and kinetic behavior of pectinmethylesterase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. *J. of Biothechnology and Bioengineering*. Vol. 40: 278-284 págs.

Warner Geraldine. 2011. Granny Smith is probably an offspring of an apple called French Crab. *J. Good Fruit Grower*. Diciembre 1, 2011. Disponible en: <http://www.goodfruit.com/last-bite-grannys-legacy/>

Watts, B.M.; Ylimaki, G.L.; Jeffery, L.E. y Elias, L.G. 1995. Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. Universidad de Manitoba. Ottawa, Canadá. Disponible en: <http://idl-bnc.idrc.ca/dspace/bitstream/10625/12666/1/IDL-12666.pdf>

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza de la actividad de la PE para cada tratamiento térmico.

Cuadro 1. ANOVA para la actividad de PE en jugo de manzana

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F_0	Valor- p
Tratamiento	15	0.8286	0.0552	5.0809	0.0001
Error	28	0.3044	0.0108		
Total	43	1.133			

Anexo 2. Análisis de varianza para cada atributo sensorial

Cuadro 1. ANOVA para la apariencia

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F_0	Valor- p
Apariencia	3	145.940476	48.6468254	23.6614553	4.63E-11
Error	80	164.47619	2.05595238		
Total	83	310.416667			

Cuadro 2. ANOVA para el color

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F_0	Valor- p
Color	3	162.988095	54.3293651	27.5085393	2.52E-12
Error	80	158	1.975		
Total	83	320.988095			

Cuadro 3. ANOVA para el olor

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F_0	Valor- p
Olor	3	11.5595238	3.8531746	1.4353289	0.23866091
Error	80	214.761905	2.68452381		
Total	83	226.321429			

Cuadro 4. ANOVA para el sabor

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F_0	Valor- p
Sabor	3	12.047619	4.01587302	1.42937853	0.24036001
Error	80	224.761905	2.80952381		
Total	83	236.809524			

Cuadro 5. ANOVA para la aceptación global

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F_0	Valor- p
Color	3	91.0952381	30.3650794	13.4316307	3.50E-07
Error	80	180.857143	2.26071429		
Total	83	271.952381			