

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA PASTEURIZACIÓN SOBRE LA
INACTIVACIÓN DE LA ENZIMA PECTINMETILESTERASA Y LAS
CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y SENSORIALES
DEL ZUMO DE UCHUVA (*Physalis peruviana L.*)**

**YULY ELIZABETH ORTIZ URBANO
YAMID ALEXIS PINCHAO PINCHAO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2012**

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA PASTEURIZACIÓN SOBRE LA
INACTIVACIÓN DE LA ENZIMA PECTINMETILESTERASA Y LAS
CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y SENSORIALES
EL ZUMO DE UCHUVA (*Physalis peruviana L.*)**

**YULY ELIZABETH ORTIZ URBANO
YAMID ALEXIS PINCHAO PINCHAO**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Ingeniero Agroindustrial**

**Asesor:
OSWALDO OSORIO MORA
PH.D.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2012**

NOTA DE RESPONSABILIDAD

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1° de acuerdo 324 de octubre 11 de 1966 emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño

Nota de aceptación

Ingeniero Agroindustrial OSCAR ARANGO BEDOYA

Ingeniero Agroindustrial DIEGO FERNANDO MEJÍA

San Juan de Pasto, Noviembre de 2012

DEDICATORIA

¡Tú lo haces todo! mi buen Dios. Que el honor, la Gloria y la Honra sean para Ti por siempre!, A Ti, a mi madre celestial,

*a mi familia y Amigos dedico esta Tesis
Gracias por el amor, ternura y comprensión...*

A mi mamá Isabel Urbano, mi papá Jesús Ortiz y mi hermano Alexander Ortiz los amo.

¡Gracias por estar siempre junto a mí, por todo el respaldo incondicional!

A mis profesores en especial al profesor Oswaldo Osorio por las enseñanzas, y absoluto apoyo quienes además enriquecieron mi personalidad, en verdad estoy muy agradecida con ustedes.

A todas las personas que de alguna u otra forma contribuyeron para el desarrollo de este trabajo.

A mis amigas y amigos, Naryory Cadena, Andrea, William, Jesús Aldemar, Einer Andres y Johander por esta amistad maravillosa deseo lo mejor para cada uno de ustedes los quiero mucho, que Dios los bendiga siempre, a una personita especial Dario, por todo lo que haces por mí.

Fuly Elizabeth Ortiz

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo en primer lugar a Dios, quien es mi guía y me acompaña siempre en mi camino, también se lo dedico a las personas más importantes de mi vida porque admiro su fortaleza y lo que han hecho de mí con su cariño y comprensión: a mi madre Marleni Pinchao y a mi padre Alirio Pinchao, y a mis hermanos Yonathan y Wilmer pinchao, quienes fueron pieza fundamental para culminar mi carrera con su esfuerzo y apoyo incondicional.

A mis familiares, especialmente a mi Tío Roberth quien siempre ha creído en mí.

A mi novia Eliana Pinchao, quien me dio su apoyo incondicional para no desfallecer durante el camino.

A mi asesor el Doctor Oswaldo Osorio Mora, quien con sus conocimientos hizo posible el desarrollo de este trabajo.

A mis profesores por cada una de sus enseñanzas.

A mis amigos y compañeros y a todas las personas que de una u otra forma estuvieron con migo a lo largo de este proceso, llenándome de experiencias enriquecedoras que nunca voy a olvidar y que siempre llevare en mi corazón.

Muchas Gracias a todos.

Yamid Alexis Pinchao Pinchao

AGRADECIMIENTOS

Universidad de Nariño

Vicerrectoría de investigaciones postgrados y relaciones internacionales – VIPRI

Grupo de investigación TEA

Laboratorios Especializados Universidad de Nariño

Funcionarios Planta Piloto

Ing. Oscar Arango

Ing. Diego Fernando Mejía España

PH.D Oswaldo Osorio Mora

PH.D Andrés Hurtado

Ing. William Días

Grupo de evaluación sensorial

A todas las personas que colaboraron en el desarrollo de la investigación.

RESUMEN

Para garantizar productos inocuos y de calidad los tratamientos térmicos como la pasteurización juegan un papel muy importante al reducir ó inactivar enzimas que afectan generalmente a los zumos de frutas ocasionando defectos visuales y detrimento de propiedades fisicoquímicas que resulta en la pérdida del valor nutricional y en la calidad del producto final. El zumo de uchuva se ve afectado por la enzima Pectinmetilesterasa (PME), presente de forma natural en el fruto. Su inactivación es importante dado que ésta causa separación de fases o pérdida de turbidez. Debido a que la pasteurización es un proceso efectivo para la inactivación de PME se evaluaron los efectos que ésta tiene sobre la inactivación de dicha enzima y las características fisicoquímicas y sensoriales del zumo de Uchuva (*Physalis peruviana L.*). Se plantearon dos diseños experimentales; el primero con temperaturas entre 60 °C - 90 °C por un tiempo de 20 s - 60 s y el segundo diseño con temperaturas entre 70 °C – 80 °C por un tiempo de exposición de 10-30 s y además se analizó el punto óptimo de pasteurización puesto que en este último diseño se encontraba el porcentaje residual adecuado de la enzima ($\leq 10\%$), la técnica empleada para evaluar PME fue la espectrofotométrica UV-Vis a 620 nm. Se cuantificó la proteína residual utilizando el método de Bradford mediante espectrofotometría a 540 nm. Se evaluó la capacidad antioxidante al zumo pasteurizado mediante el método de radical libre ABTS^{•+}. Se evaluó la reducción microbiológica aplicando tratamientos con temperaturas entre 60 °C - 90 °C y tiempos de 10-30 s. Al optimizar el proceso se estableció que la combinación de los factores de 80 °C x 10 s no sólo reduce la actividad residual enzimática a niveles aceptables, sino que también mantiene un recuento microbiano permisible, en donde, el tratamiento óptimo demostró conservar las propiedades fisicoquímicas, al no poseer diferencia significativa en contraste con una muestra de zumo fresco. Las pruebas sensoriales (color, olor, sabor y acidez) determinaron que no existe diferencia significativa entre el tratamiento óptimo y un zumo fresco. La enzima por su parte no presentó reactivación durante el seguimiento de 1, 10, 20,30 y 40 días en almacenamiento (4 °C).

Palabras Claves: Actividad enzimática, antioxidantes, determinación microbiológica, pectinmetilesterasa, *Physalis peruviana L.*, propiedades fisicoquímicas, tratamiento térmico.

ABSTRACT

To ensure safe and quality products heat treatments like pasteurization play a very important role to reduce or inactivate enzymes that generally affect fruit juices causing detrimental visual defects and physicochemical properties resulting in the loss of nutritional value and the quality of the final product. Cape gooseberry juice is affected by the enzyme pectin methyl esterase (PME), naturally present in the fruit. Inactivation is important because it causes phase separation or loss of turbidity. Because pasteurization is an effective process for the inactivation of PME evaluated the effects it has on the inactivation of the enzyme and the physicochemical and sensory characteristics of Physalis juice (*Physalis peruviana* L.). There were two experimental designs, the first at temperatures between 60 °C – 90 °C for a time of 20 s-60 s and the second design with temperatures between 70 °C – 80 °C for an exposure time of 10-30 seconds and further analyzed point optimum pasteurization since in this latter design was appropriate percentage of residual enzyme ($\leq 10\%$), the technique used to evaluate the PME was UV-Vis spectrophotometry at 620 nm. Residual protein was quantified using the Bradford method using spectrophotometry at 540 nm. The ability pasteurized juice antioxidant by the method of free radical ABTS^{•+} was evaluated using microbiological reduction treatments at temperatures between 60 °C -90 °C and 60 °C times of 10-30 s. By optimizing the process was established that the combination of factors 80 °C x 10 s not only reduces the residual enzymatic activity at acceptable levels but also maintains a count microbial permissible, wherein the optimal physicochemical properties showed retain at possess no significant difference in contrast to a sample of fresh juice. Sensory testing (color, odor, flavor and acidity) determined that there is no significant difference between the optimal and fresh juices. The enzyme in turn showed no recovery during follow-up of 1, 10, 20.30 and 40 days in storage (4 °C).

Keywords: Enzyme activity, antioxidants, determination microbiological pectinmethylesterase, *Physalis peruviana* L., physicochemical properties, heat treatment.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	21
1. OBJETIVOS.....	23
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
2. MARCO TEÓRICO	24
2.1 UCHUVA.....	24
2.1.1 Valor nutritivo.	25
2.3 ENZIMAS.....	27
2.3.1 Pectinmetilesterasa (PME).	28
2.4 INACTIVACIÓN TÉRMICA ENZIMÁTICA	29
2.4.1 Inactivación térmica de PME.....	30
2.4.2 Extracción de la enzima pectinmetilesterasa (PME) del zumo de uchuva.	30
2.5 TRATAMIENTOS TERMICOS EN LA REDUCCION DE LA CARGA MICROBIANA	31
2.5.1. Microorganismos.....	32
2.5.2 Determinación de la reducción microbiana:.....	33
2.5.2.1 Reducción de la carga microbiana.	33
2.5.3 Normatividad INVIMA- resolución 7992 y NTC 5468.	34
2.6 EVALUACIÓN DE LAS CARACTERISTICAS SENSORIALES	35
2.6.1 Atributos sensoriales.	35
2.7 EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.....	36
2.7.1 Propiedades fisicoquímicas en el zumo de uchuva.	36
2.7.2 Determinación de proteína por el método de Bradford.	37
2.7.3 Determinación de la capacidad antioxidante de la uchuva por el método de radical libre ABTS* ⁺ Actualmente el método ABTS*	37
3. MATERIALES Y MÉTODOS	39
3.1 MATERIA PRIMA.....	39
3.2 EXTRACCIÓN DEL ZUMO	39

3.3	DISEÑOS EXPERIMENTALES REALIZADOS PARA LA INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA	40
3.3.1	Diseño factorial multinivel.	40
3.3.2	Optimización de los factores del proceso.	44
3.3.3	Análisis estadístico para evaluar la inactivación enzimática.	44
3.4	TRATAMIENTO TÉRMICO	44
3.5	PROTOCOLO PARA LA EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA DEL ZUMO DE UCHUVA.....	45
3.6	PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	47
3.7	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	48
3.8	EVALUACION DE LAS CARACTERISTICAS SENSORIALES	50
3.8.1	Selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores.	51
3.8.2	Reconocimiento de olores básicos.....	51
3.8.3	Prueba de discriminación (pruebas de ordenamiento).	52
3.8.5	Evaluación sensorial del zumo de uchuva (pruebas sensoriales discriminativas-pruebas de ordenamiento).	54
3.8.5.1	Análisis estadísticos para la evaluación sensorial del zumo.	54
3.9	DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS .	54
3.9.1	Pruebas fisicoquímicas.	54
3.9.2	Método de Bradford para la cuantificación de proteína.	55
3.9.3	Método de radical libre ABTS*	56
3.9.3.1	Protocolo de obtención de la muestra con capacidad antioxidante de la uchuva.	57
3.9.3.2	Curva de calibración con patrones de trólox	57
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
4.1	RENDIMIENTO DE LA EXTRACCION DEL ZUMO	59
4.2	RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ENZIMATICO	59
4.3	EVALUACIÓN DE LA INACTIVACIÓN DE LA ENZIMA PME EN ZUMO DE UCHUVA.....	60
4.3.1	Medición de la actividad enzimática en zumo fresco:	60
4.3.2	Análisis estadístico de la actividad enzimática del diseño factorial multinivel.....	62

4.3.3	Análisis de varianza para la actividad residual de PME.	62
4.3.4	Análisis estadístico actividad enzimática residual del diseño composición central con metodología de superficie de respuesta.	65
4.3.5	Análisis de varianza para la actividad residual de PME	66
4.3.6	Optimización de los factores del proceso	69
4.4	EVALUACIÓN DEL RECuento MICROBIOLÓGICO.....	70
4.5	EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y FISICOQUÍMICAS DEL ZUMO DE UCHUVA	71
4.5.1	Resultados calificación de jueces entrenados.	71
4.5.2	Análisis pruebas sensoriales discriminativas para tratamientos aplicados al zumo de uchuva mediante panel entrenado.	73
4.5.2.1	Resultados para la prueba triangular para zumo de uchuva	74
4.5.2.2	Resultados para la prueba de preferencia entre zumo pasteurizado y sin pasteurizar.	74
4.6	DETERMINACIÓN DE PROTEINA	74
4.6.1	Determinación de la cantidad de proteína en los tratamientos del diseño de Composición Central:	75
4.6.2	Análisis estadístico para concentración de proteína:	76
4.7	EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	79
4.7.1	Capacidad antioxidante de la uchuva en equivalentes trolox TEAC. ...	80
4.7.2	Análisis de los parámetros fisicoquímicos y composición del zumo de uchuva.	81
4.8	SEGUIMIENTO DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	82
4.8.1	Análisis estadístico para el Seguimiento de la enzima PME:.....	84
5.	CONCLUSIONES	86
	RECOMENDACIONES.....	87
	BIBLIOGRAFÍA.....	88
	ANEXOS	101

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Composición nutricional uchuva (<i>Physalis peruviana</i> L.).....	25
Cuadro 2. Condiciones de inactivación térmica de PME para algunos jugos y néctar.....	30
Cuadro 3. Tratamientos aplicados a algunos productos para reducción microbiológica.....	34
Cuadro 4. Valores fisicoquímicos reportados por algunos autores	36
Cuadro 5. Factores y niveles experimentales del diseño factorial multinivel.	40
Cuadro 6. Matriz de diseño experimental	40
Cuadro 7. Factores y niveles experimentales del Diseño de Composición Central.	42
Cuadro 8. Matriz de diseño de composición central experimental.	42
Cuadro 9. Reactivos, cantidades y concentraciones para la medición de la actividad enzimática.....	47
Cuadro 10. Tratamientos para evaluar la carga microbiológica en el zumo de uchuva	49
Cuadro 11. Métodos y límites permisibles para análisis microbiológicos en zumos	49
Cuadro 12. Matriz de tratamientos para la evaluación sensorial.....	50
Cuadro 13. Materiales para reconocimiento de olores básicos.....	51
Cuadro 14. Materiales para la prueba de discriminación	52
Cuadro 15. Codificación de muestras para entrenamiento	53
Cuadro 16. Métodos y técnicas para evaluar las características fisicoquímicas .	55
Cuadro 17. Diluciones de proteína BSA rango 0 - 2000 µg/ml.....	56
Cuadro 18. Concentraciones y cantidades para curva de calibración con patrones de trolox.....	58
Cuadro 19. Actividad enzimática y residual en zumo de uchuva pasterizado	62
Cuadro 20. Tabla ANOVA de Análisis de Varianza para la Actividad Residual PME del Diseño Factorial multinivel.	63
Cuadro 21. Actividad enzimática y residual en zumo de uchuva pasterizado.	65
Cuadro 22. Análisis de varianza para actividad residual diseño de composición central.....	66

Cuadro 23.	Valor óptimo de los factores de temperatura y tiempo	69
Cuadro 24.	Coefficiente de regresión para Actividad Residual Enzimática	69
Cuadro 25.	Recuento microbiológico para el zumo fresco ó sin tratamiento y para tratamientos de 60 °C a 90 °C por 10 s - 30 s.....	70
Cuadro 26.	Promedio de los resultados calificación de los posibles jueces	72
Cuadro 27.	Parámetros de calificación del equipo de evaluación sensorial	72
Cuadro 28.	Tablas ANOVA Análisis estadístico pruebas de ordenamiento sensoriales.....	73
Cuadro 29.	Concentración de proteína después de aplicados los tratamientos..	75
Cuadro 30.	Tabla ANOVA Análisis de varianza para concentración de proteína	76
Cuadro 31.	Pruebas de Rangos Múltiple para concentración de proteína por tratamientos aplicados (Tukey HSD).....	77
Cuadro 32.	Obtención de la curva de calibración con patrones de trolox.	79
Cuadro 33.	Absorbancias de las muestras de uchuva.....	80
Cuadro 34.	Valores TEAC de la uchuva	80
Cuadro 35.	Evaluación fisicoquímica del zumo testigo y la muestra 80 °C x 10 s y comparación con valores reportados	82
Cuadro 36.	Seguimiento actividad enzimática y residual	83
Cuadro 37.	Análisis de varianza y Prueba HSD de Tukey para el seguimiento de Reactivación de la actividad enzimática residual.....	84
Cuadro 38.	Pruebas de Rangos Múltiple (Tukey HSD).....	84

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Uchuva (<i>Physalis peruviana</i> L.) Variedad Perú.	24
Figura 2. Proceso enzimático.....	29
Figura 3. Actividad enzimática inicial	30
Figura 4. Inactivación enzimática	30
Figura 5. Uchuva variedad Perú.....	39
Figura 6. Pasos para la Pasteurización de las muestras.....	45
Figura 7. Centrifuga	46
Figura 8. Muestras	46
Figura 9. Plancha de agitación magnética	46
Figura 10. Espectrofotómetro Genesys 10 UV-VIS	47
Figura 11. Reconocimiento de olores básicos.....	51
Figura 12. Extracción del zumo de uchuva	59
Figura 13. Extracto enzimático.....	60
Figura 14. Reacción de la enzima PME	61

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Parte lineal de curva cinética de PME en zumo de uchuva fresco ...	60
Gráfica 2. Actividad Enzimática Inicial de PME en zumo de uchuva sin tratamiento.....	61
Gráfico 3. Efectos principales para actividad residual PME diseño factorial	64
Gráfica 4. Efectos principales para actividad residual PME del diseño de composición central	68
Gráfica 5. Superficie de respuesta estimada para actividad residual PME	68
Gráfico 6. Curva de calibración con proteína BSA de 0 a 1000 µg/ml de concentración	75
Grafico 7. Caja y bigotes para cuantificación de proteína.....	78
Gráfico 8. Curva de calibración con patrones de trolox	79
Gráfico 9. Comparación de la actividad antioxidante en diferentes productos de uchuva	81
Gráfica 10. Seguimiento de Reactivación de Actividad Residual Enzimática	83
Gráfica 11. Medias para reactivación de PME.....	85

LISTA DE DIAGRAMAS

	Pág.
Diagrama 1. Diagrama de pareto estandarizado para actividad residual PME del diseño factorial	64
Diagrama 2. Diagrama de pareto estandarizado para la actividad residual PME del diseño de composición central	67

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1.	REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA SIN TRATAMIENTO 102
Anexo 2.	REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 60 °C x 10 s 103
Anexo 3.	REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 60 °C x 30 s 104
Anexo 4.	REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 75 °C x 10 s 105
Anexo 5.	REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 75 °C x 30 s 106
Anexo 6.	REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 90 °C x 10 s 107
Anexo 7.	REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 108
Anexo 8.	FICHA DE PRESENTACIÓN 109
Anexo 9.	HOJA DE RESPUESTAS - PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DE OLORES BÁSICOS 110
Anexo 10.	HOJA DE RESPUESTAS PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN-ORDENAMIENTO..... 111
Anexo 11.	HOJA DE RESPUESTA PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN-ORDENAMIENTO..... 112
Anexo 12.	HOJA DE RESPUESTA PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN-TRIANGULAR..... 113
Anexo 13.	HOJA DE RESPUESTA PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN-PREFERENCIA 114
Anexo 14.	TABLA DE NUMEROS ALEATORIOS DE ANZALDÚA MORALES 115
Anexo 15.	TABLAS DE SIGNIFICANCIA PARA PRUEBAS DE PREFERENCIA-ANZALDÚA MORALES 116
Anexo 16.	TABLA PARA INTERPRETAR RESULTADOS ESTADÍSTICOS PRUEBA TRIANGULAR-ANZALDÚA MORALES 117

Anexo 17.	REPORTE DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS ZUMO DE UCHUVA SIN TRATAMIENTO	118
Anexo 18.	REPORTE DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS ZUMO DE UCHUVA	119

LISTA DE ABREVIATURAS

Abs	Absorbancia
AR	Actividad residual
BSA	Albúmina sérica bovina
DCC	Diseño de composición central
DFM	Diseño factorial multinivel
ET	Equivalentes trolox
g	Gramo
m	Metros
mg	Miligramos
min	Minuto
ml	Mililitro
nm	Nanómetros
PG	Poligalacturonasa
PME	Pentinmetilesterasa
POD	Peroxidasa
PPO	Polifenol oxidasa
Ref	Referencia
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundo
t	Tonelada
TEAC	Capacidad antioxidante equivalente al trolox
UI	Unidades internaciones
VR	Valor Reportado
V_0	Velocidad inicial de la reacción
$^{\circ}$ Brix	Sólidos solubles
$^{\circ}$ C	Grados Celsius
μ g	Microgramo
μ L	Microlitro

INTRODUCCIÓN

Las frutas constituyen un grupo de alimentos indispensables para nuestra salud y bienestar, especialmente por su aporte de fibra, vitaminas, minerales y sustancias de acción antioxidante (vitamina C, vitamina E, β -caroteno, licopeno, luteína, flavonoides, antocianinas, entre otros). La gran diversidad de especies, con sus distintas propiedades sensoriales (sabor, aroma, color, textura, etc.) y la forma de prepararlas, hacen de ellas productos de gran aceptación por parte de los consumidores (Hidalgo, 2005).

Por otro lado, los derivados de las frutas principalmente los zumos se han convertido en un componente imprescindible en cualquier dieta sana y equilibrada y aunque éstos en un principio se desarrollaron como consecuencia del exceso de producción de frutas, actualmente, la totalidad de zumos se elabora a partir de frutas cultivadas para este fin (Vila, 2006).

Para el caso de la uchuva o uvilla, se presenta un mercado potencial en el mercado internacional debido por una parte a su carácter exótico y nutricional y por otra parte al cambio en los hábitos alimenticios de la población que ahora buscan el incremento en el consumo de frutas y hortalizas, además esta fruta posee características tanto fisicoquímicas como organolépticas que permiten obtener diversos productos transformados con elevados rendimientos. El contenido en pulpa (70%), en sólidos solubles (14%), su pH alrededor de 3.4 y sus especiales color, aroma y sabor son parámetros que, sin duda, favorecen su aprovechamiento industrial (García y otros, 2008; Cortés y otros, 2009).

Igualmente la uchuva (*Physalis peruviana L.*) es una especie frutícola andina que ha adquirido gran importancia en el país por su potencial para la exportación como fruta fresca, generando divisas por varios millones de dólares al año, con lo cual su consumo interno se ha venido incrementando paulatinamente debido a que el consumidor nacional ha tenido oportunidad de conocer nuevos productos que le satisfacen sus gustos y por el aporte de vitaminas y minerales (Corpoica, 2002).

Debido a la gran variación entre tamaño, forma, sabor del fruto y habilidad de la planta, es necesario contar con una selección genética. En Colombia existe 98 accesiones en los bancos de germoplasma de Corpoica en los centros de investigación La selva, en Rionegro (Antioquia) y Tibaitatá, en Mosquera (Cundinamarca); otras colecciones más pequeñas se encuentran en la Universidad de Nariño. Sin embargo, la documentación de estas colecciones es escasa, reduciendo su potencial para contribuir en programas de selección y mejoramiento genético (Bonilla y otros, 2008).

De acuerdo a las visitas a Corabastos, Almacenes Carrefour, Éxito, Pomona, y Surtifruver realizadas por Cortes y otros en septiembre y octubre de 2008, la uchuva se consume principalmente en forma natural; en Bogotá se usa en menor grado para preparar dulces, postres y jugos. Actualmente se trabaja en la obtención de pulpas normalizadas y a partir de estas se han desarrollado derivados como néctares y mermeladas de alta calidad. Además existen clientes internacionales cada vez más interesados en las mermeladas, aderezos y pulpas de uchuva a granel (Cortés y otros, 2009).

En tanto que el aumento del consumo ha demandado una diversificación de los zumos de frutas, dicha demanda podría ser afectada por causa de características encontradas tanto en el zumo de uchuva como en otros zumos frutales por presentar separación de fases o decoloración, pérdida de consistencia, pérdida de turbidez y gelificación provocadas por la enzima pectinmetilesterasa (PME) presente de forma natural en el fruto (Daoudi, 2004; Carbonell y otros, 2005).

No obstante para poder conservar éstos zumos y néctares se encuentran tratamientos térmicos adecuados, donde el más común es la pasteurización, permitiendo a su vez inactivar con este método la enzima (PME) causante de la pérdida de calidad en los zumos además de lograr la reducción de microorganismos patógenos en el alimento (Cano Dolado y otros, 2001; Ceballos y otros, 2007; Gutierrez, 2010). Por esta razón se evaluaron los efectos de la pasteurización sobre la inactivación de la enzima pectinmetilesterasa y las características fisicoquímicas y sensoriales del zumo de uchuva (*Physalis peruviana L.*) objeto principal de esta investigación.

Además este proyecto presentó como objetivos, el determinar la inactivación de la enzima pectinmetilesterasa (PME) del zumo de uchuva (*Physalis peruviana L.*) posterior al tratamiento térmico aplicado, por otro lado evaluar las condiciones de pasteurización del zumo de uchuva (*Physalis peruviana L.*) que garanticen la reducción a niveles aceptables de los microorganismos presentes en el zumo y evaluar el efecto que produce el tratamiento aplicado sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del zumo de uchuva, de tal forma que al desarrollarlos se logró conservar la calidad de dicho zumo, obteniendo un producto atractivo e inocuo, sin la necesidad de recurrir a estabilizantes, conservantes y otros aditivos químicos, los cuales deterioran la salud del consumidor de manera lenta, sino que por el contrario se consiguió procesar un producto de forma más natural.

Finalmente al obtener un protocolo de pasteurización para el zumo de uchuva se redujo a niveles aceptables tanto el efecto de la pectinmetilesterasa (PME) como su carga microbiana, garantizando por completo un producto apto para el consumo humano, sin causar alteraciones tanto en sus características sensoriales como nutricionales, obteniendo un producto con un mínimo procesado de gran valor agregado y competitivo, que puede incursionar en nuevos mercados, logrando beneficiar al consumidor.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos de la pasteurización sobre la inactivación de la enzima pectinmetilesterasa y las características fisicoquímicas y sensoriales del zumo de uchuva (*Physalis peruviana L.*).

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el punto óptimo de pasteurización para inactivar la enzima PME en zumo de uchuva (*Physalis peruviana L.*).
- Evaluar las condiciones de pasteurización del zumo de uchuva (*Physalis peruviana L.*) que garanticen la inocuidad microbiológica.
- Evaluar el efecto que produce el tratamiento aplicado sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del zumo de uchuva (*Physalis peruviana L.*).

2. MARCO TEÓRICO

2.1 UCHUVA

La uchuva (*Physalis peruviana* L.), que pertenece a la familia de las *Solanáceas* y al género *Physalis*, cuenta con más de ochenta variedades e incluye unas 100 especies herbáceas perennes y anuales que se encuentran en estado silvestre y que se caracterizan porque sus frutos están encerrados dentro de un cáliz o capacho. Esta fruta es originaria de los Andes Suramericanos principalmente de Perú, Colombia y Ecuador (Medina, 1991; Lozano, 2010).

La uchuva, originaria de los Andes suramericanos, es la especie más conocida de este género y se caracteriza por tener un fruto azucarado y con buenos contenidos de vitaminas A y C (ácido ascórbico 20 mg/100 g de fruta), además de hierro y fósforo. Su jugo, presenta valores de pH entre 3,6 a 4,1; éste parámetro favorece la estabilidad del ácido ascórbico en la fruta, frente a procesos de oxidación, tratamientos térmicos, exposición a la radiación, etc. Se cultiva en países tropicales, subtropicales e incluso templados. Los primeros productores son Colombia y Sudáfrica pero se cultiva de manera significativa en Zimbabwe, Kenya, Ecuador, Perú, Bolivia y México. Entre los principales países que compran este producto están: Holanda, Alemania, Francia, Inglaterra, España, Bélgica, Suiza, Canadá y Brasil (Gutiérrez y otros, 2007; Finagro, 2012).

De la uchuva se comercializa el fruto, que es una baya carnosa en forma de globo, con un diámetro que oscila entre 1,25 y 2,5 centímetros y con un peso entre 4 y 10 gramos; ésta cubierto por un cáliz formado por cinco sépalos que le protege contra insectos, pájaros, patógenos, y condiciones climáticas extremas (Lozano, 2010).

En la actualidad, se encuentran diferentes productos procesados a partir de la uchuva como la mermelada, la uchuva pasa y los confites de uchuva cubiertos de chocolate. Puede ser procesada para jugo, néctar, pulpa y otros productos con azúcar como el bocadillo. En mercados europeos la usan para adornos en comidas, ensaladas, postres, tortas (Cedeño y Montenegro, 2004).

Figura 1. Uchuva (*Physalis peruviana* L.) Variedad Perú.



Fuente: Esta Investigación

La uchuva con cáliz se vende principalmente a granel y el precio promedio de compra es de \$900/kilo mientras que el precio de venta al consumidor es de \$1.400/kilo; la canastilla de 450 gramos de uchuva pelada se compra, en promedio, por \$600/canastilla, equivalente a \$1.333/kilo, y se vende al consumidor por \$1.000/canastilla, equivalente a \$ 2.220/kilo (Lozano, 2010).

El volumen de las exportaciones de uchuva en la última década, creció de manera constante un 15 %, hasta llegar en 2004 a representar el 53 % del total exportado de frutas. En 2004, Colombia exportó un poco más de US\$ 14 millones en uchuva, de los cuales casi el 95 % correspondió a la Unión Europea, destacándose, en primer lugar, Alemania con 30 %, desplazando a Holanda al segundo lugar con 26 %, respecto a 2003. Bélgica y Luxemburgo pasaron de participar con el 5 % en 2000 al 15 % en 2004 (Gómez y otros, 2005).

Según algunos exportadores, existen oportunidades para la expansión del mercado de uchuva en Europa; no obstante, se debe condicionar este desempeño a la inversión en promoción, y en desarrollo de tecnologías, a través de políticas claras por parte del gobierno, con el fin de articular junto a los exportadores, productores y académicos, la base tecnológica y cultural, que permita un mayor valor industrial del producto (Gómez y otros, 2005).

2.1.1 Valor nutritivo. El jugo de la uchuva madura tiene altos contenidos de pectina, lo que disminuye los costos en la elaboración de mermeladas y otros preparativos similares. En diferentes regiones de Colombia se le atribuyen propiedades medicinales tales como las de purificar la sangre, disminuir la albúmina de los riñones, aliviar problemas en la garganta, fortificar el nervio óptico, limpiar las cataratas, ser un clasificador y controlar la amibiasis (Lozano, 2010). Sus beneficios se derivan de la composición nutricional del fruto que se describe en la tabla que sigue a continuación:

Cuadro 1. Composición nutricional uchuva (*Physalis peruviana L.*)

Factor nutricional	Composición nutricional por cada 100 gramos de pulpa
Calorías	54
Agua	79.6
Proteína	1.1 gr.
Grasa	0.4 gr.
Carbohidratos	13.1 gr.
Fibra	4.8, gr.
Ceniza	1.0 gr.
Calcio	7.0 mg.

Factor nutricional	Composición nutricional por cada 100 gramos de pulpa
Fósforo	38 mg.
Hierro	1.2 mg.
Vitamina A	648 U.I.
Tiamina	0.18 mg.
Riboflavina	0.03 mg.
Niacina	1.3 mg.
Acido ascórbico	26 mg.

Fuente: (Fischer y otros, 2000).

2.2 TRATAMIENTOS TERMICOS EN LA INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA

Los tratamientos térmicos estabilizan productos porque tienen la capacidad para destruir microorganismos e inactivar enzimas (Cruz, 2006). Dentro de los tratamientos térmicos adecuados y el más común se encuentra la pasterización (Ceballos y otros, 2007).

La estabilización de zumos de cítricos (naranja, pomelo, mandarina) se lleva a cabo, normalmente, mediante una o varias etapas de pasteurización con el objeto de inactivar las enzimas, principalmente pectin-metilesterasa (PME), que provocan cambios de calidad significativos durante su conservación. En los estudios realizados para obtener las condiciones de proceso para la estabilización de zumos de cítricos por tratamiento térmico, se ha observado que la resistencia de las bacterias y levaduras presentes en los mismos, es menor que la necesaria para inactivar la enzima pectin-metilesterasa. Este zumo “pasteurizado” se somete posteriormente a una concentración mediante eliminación de hasta el 80 % del agua de constitución, y a una congelación para su conservación y almacenamiento (Cano Dolado y otros, 2001).

El objetivo principal de la pasteurización aplicada a alimentos de alta acidez pH inferior a 4,5 persigue la inactivación de sus enzimas y en menor proporción la destrucción de los microorganismos causantes de su alteración; por encima de los 60 °C, la mayor parte de las enzimas son desnaturalizadas. Por lo que los tratamientos térmicos son usados para la inactivación de varias enzimas, en cítricos (Sentandreu y otros, 2005), en tomate (Gordon y otros, 2002), en zanahoria (Sila y otros, 2007).

El uso de calor busca destruir agentes biológicos para obtener productos más sanos y duraderos (Gutierrez y otros, 2010).

2.3 ENZIMAS

Las enzimas son proteínas grandes producidas en las células vivas de plantas, animales y microorganismos. En la célula viviente, las enzimas actúan como catalizadores que aceleran las reacciones químicas (Diedrich, 2002). Las enzimas más simples son proteínas de peso molecular desde unos 12000 $\mu\text{g/ml}$ hasta 40000 $\mu\text{g/ml}$. Las proteínas están compuestas de pequeños bloques o residuos conocidos como aminoácidos, cuyo peso molecular abarca desde 75 $\mu\text{g/ml}$ hasta 200 $\mu\text{g/ml}$, la larga cadena de aminoácidos que constituye la molécula de la enzima no se dobla libremente más bien adquiere una estructura tridimensional definida (Bender y otros, 1997).

Por otra parte las enzimas son moléculas orgánicas capaces de catalizar reacciones bioquímicas mediante la disminución de la energía de activación que se requiere para que la reacción se lleve a cabo (Nelson y Cox, 2008).

Las enzimas al actuar como catalizadores permiten que las reacciones químicas del metabolismo celular ocurran a una velocidad significativa, en condiciones ambientales extremadamente suaves compatibles con el mantenimiento de la viabilidad celular (pH cercano a la neutralidad y temperaturas moderadas) (Medina, 2004).

Para uniformizar la nomenclatura la comisión IUPAC-IUB en Biochemical Nomenclature-Revisec Enzyme Nomenclature, nombra y clasifica a las enzimas en seis clases ó grupos, de acuerdo al tipo de reacción química y a su mecanismo de acción. Se clasifican en: oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas. La Pectin esterasa desmetoxila las cadenas pécticas a ácidos pécticos; esta enzima es una esterasa específica que sólo hidroliza los grupos carboxilo esterificados en la pectina (Robles, 2006).

Las enzimas son específicas para las estructuras del sustrato y del producto formados, de tal forma que solo un compuesto químico presente en una mezcla de compuestos muy similares se transforma con tal fidelidad en un único producto, lo que puede dar lugar a rendimientos más altos y potencialmente a menos contaminación producidos por reacciones laterales (Wiseman, 1991) .

La enzima PME interviene en reacciones de hidrólisis de pectina a ácido péctico y metanol, produciendo en jugos pérdida de turbidez y viscosidad (Martinez y otros, 2003).

Contra la integridad de las enzimas atentan factores físicos (calor, congelación y radiación), químicos (oxidación, reducción, disolventes orgánicos, iones metálicos, fuerza iónica y pH) o biológicos (proteólisis, modificación y degradación enzimática), que disminuyen su actividad catalítica y solubilidad (Medina, 2004).

Como ya se mencionó, las enzimas pueden ser desnaturalizadas por varios medios, entre ellos el calor. La mayoría de las enzimas son, por lo tanto termolábiles y generalmente una temperatura de 70 °C a 80 °C durante 2 a 5 min basta para inactivarlas. El efecto desnaturalizante de la temperatura se produce al desorganizar totalmente la estructura de la macromolécula, provocándole muchos cambios de solubilidad (coagulación), color, digestibilidad (Cruz y otros, 2006). Como las enzimas son muy sensibles a la temperatura un aumento del nivel térmico se traduce en un incremento de la energía vibracional que puede provocar la ruptura de puentes de hidrógeno y la destrucción de interacciones apolares (Medina, 2004) .

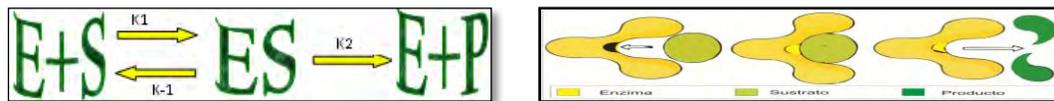
2.3.1 Pectinmetilesterasa (PME). La PME es una enzima presente en la pared celular vegetal que causa la eliminación de grupos metoxilo de las pectinas y produce radicales carboxílicos libres. Una vez alcanzada el grado crítico de esterificación, los cationes divalentes (especialmente el Ca^{2+}) se unen a grupos carboxílicos libres pertenecientes a las cadenas adyacentes de la pectina. Por lo tanto, la actividad de la PME implica cambios en las características del zumo y de los purés de fruta. Durante la maduración del fruto ocurren cambios importantes en las sustancias pécticas, carbohidratos, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y otros componentes. Estos cambios le confieren al fruto características sensoriales como color, aroma, sabor, textura y son el resultado de la actividad de numerosas enzimas principalmente hidrolíticas. Entre este grupo de enzimas se encuentran las enzimas pécticas, como la pectinmetilesterasa (PME) y la poligalacturonasa (Romero y otros, 2006; Osorio, 2008).

En zumos cítricos los macropolímeros insolubles formados por la actividad PME y que se han relacionado con la turbidez característica de estos productos, conducen a la clarificación del zumo. Por otro lado, en puré de tomate se ha detectado que la actividad poligalacturonasa y la de la PME está relacionada con un descenso de la viscosidad (Carbonell y otros, 2005).

2.3.2 Cinética enzimática. La cinética enzimática estudia la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas. Estos estudios proporcionan información directa acerca del mecanismo de la reacción catalítica y de la especificidad de la enzima. La velocidad de una reacción catalizada por un enzima puede medirse con relativa facilidad, ya que en muchos casos no es necesario purificar o aislar la enzima. La medida se realiza siempre en las condiciones óptimas de pH, temperatura, presencia de cofactores, etc, y se utilizan concentraciones saturantes de sustrato. En estas condiciones, la velocidad de reacción observada es la velocidad máxima ($V_{m\acute{a}x}$). La velocidad puede determinarse bien midiendo la aparición de los productos o la desaparición de los reactivos (De Castro y otros, 2004).

La actividad enzimática se caracteriza por la formación de un complejo enzima-sustrato y por la naturaleza poli funcional de la catálisis, ya que aparecen combinados grupos activos como lo son carboxil, amino e imidazol, junto con algunos iones metálicos ligados. Cada grupo es individualmente un reactivo pobre pero su acción se ve facilitada primeramente por el medio ambiente hidrofóbico local creado porque el centro activo de la enzima tiende a excluir el agua de él, aumentando las reacciones orgánicas que se producen y en el segundo lugar, por la capacidad de la enzima para concentrar las moléculas del sustrato, aumentando así su concentración local y por lo tanto la velocidad de la reacción (Wiseman, 1991).

Figura 2. Proceso enzimático



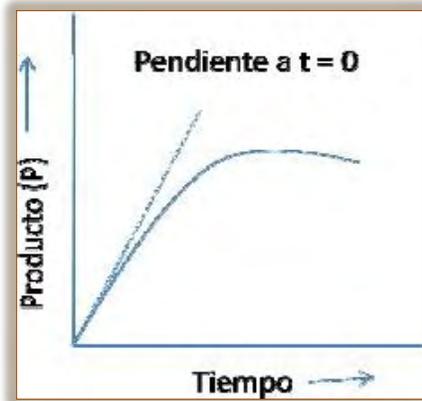
Fuente. (Fadario, 2011)

El proceso enzimático sigue las siguientes etapas: En primer lugar el sustrato (S) y la enzima (E) se unen y forman un complejo enzima-sustrato (ES). Una vez formado el complejo ES, este o bien se disocia en enzima más el sustrato o se transforma el sustrato en producto formado el complejo enzima-producto (EP), que se disocia para dar enzima (E) más producto (P). El proceso fue modelado por Michaelis y Menten y le permitió obtener una ecuación, la ecuación de Michaelis-Mente en donde la velocidad de la acción de un enzima es función de la cantidad de sustrato presente, la cantidad de enzima y las características del enzima, la afinidad del enzima por el sustrato y el poder catalítico de la enzima (Fadario, 2011).

2.4 INACTIVACIÓN TÉRMICA ENZIMÁTICA

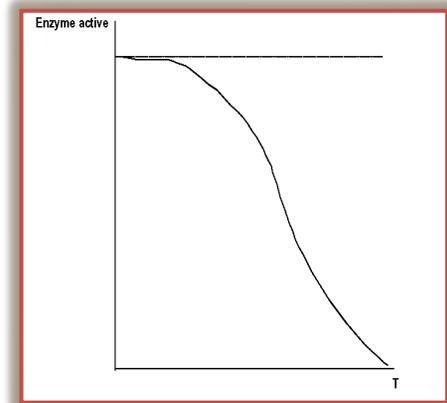
La velocidad de las reacciones enzimáticas no crece exponencialmente con la temperatura, sino que, para cada transformación, existe una temperatura óptima para la que la velocidad de reacción es máxima por encima de la cual la velocidad disminuye. La enzimología actual interpreta esta curva como el resultado de dos procesos independientes y simultáneos de signo contrario: por una parte, la velocidad de reacción, en la reacción enzimática, tendría una dependencia de la temperatura, típica, según esta interpretación, se daría un proceso de inactivación térmica de la enzima que se opondría al efecto anterior, tal como se ilustra en las siguientes figuras (Lafaux, 2004):

Figura 3. Actividad enzimática inicial



Fuente. (Lafaux, 2004)

Figura 4. Inactivación enzimática



Fuente. (Lafaux, 2004)

2.4.1 Inactivación térmica de PME. La inactivación térmica de la enzima PME es variada y depende del sustrato en que se encuentre. En el siguiente cuadro se resume determinados ejemplos de inactivación enzimática para algunos jugos y néctar.

Cuadro 2. Condiciones de inactivación térmica de PME para algunos jugos y néctar

Producto	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Referencia
Néctar ácido de papaya	75-85	60- 240	(Argaíz,1994)
Jugo de zanahoria	75-98	10-30	(Rivas y otros, 2006)
Jugo de fresa	75-90	15-20	(Osorio, 2008)
Zumo de Tomate de árbol	60	20	(Maca, 2012)

Fuente: esta investigación

2.4.2 Extracción de la enzima pectinmetilesterasa (PME) del zumo de uchuva.

Para la obtención del extracto enzimático de la PME en uchuva se basó en los estudios reportados por (Daodi, 2004; Maca, 2012, Sentandreu y otros, 2005), diluyendo el producto con una solución de cloruro de sodio NaCl y polivinilpirrolidona (PVPP) posteriormente se realiza una homogenización, se centrifuga a 10000 rpm, durante 30 min a 4 °C y se lleva para la medición de actividad enzimática.

2.5 TRATAMIENTOS TERMICOS EN LA REDUCCION DE LA CARGA MICROBIANA

Bajo el título de Tratamientos Térmicos se suelen englobar todos los procedimientos que tienen entre sus fines la destrucción de los microorganismos por el calor, haciendo referencia tanto a la pasteurización y la esterilización, cuya finalidad principal es la destrucción microbiana, el tratamiento térmico en los alimentos afecta: la población microbiana del alimento, enzimas, pero también afecta sus componentes fisicoquímicos como: proteínas, vitaminas, sabor, color, forma y consistencia, etc, haciendo inevitables la destrucción de nutrientes, la pérdida de vitamina C, de caroteno y la pérdida de cualidades organolépticas, sin embargo el tratamiento térmico que precisa cada alimento depende de la naturaleza de cada producto. Algunos, sólo permiten ciertas temperaturas pues, de otro modo, provoca cambios en su aspecto y sabor. No obstante, en otros alimentos las altas temperaturas no producen alteraciones (Gutiérrez y otros, 2010).

Los tratamientos térmicos persiguen destruir agentes biológicos, como bacterias y parásitos con la finalidad de obtener productos más sanos; conseguir productos que tengan una vida comercial más larga, debido fundamentalmente a la eliminación de los microorganismos causantes de la alteración de los alimentos; y disminuir la actividad de otros factores que afectan a la calidad de los alimentos, como las enzimas (Gutiérrez y otros, 2010).

La pasteurización es un tratamiento relativamente suave, este método, conserva los alimentos por inactivación de sus enzimas y por destrucción de los microorganismos sensibles a la temperaturas (bacterias no esporuladas, como levaduras y mohos), provoca cambios mínimos tanto en el valor nutritivo como en las características organolépticas del alimento. En los alimentos de alta acidez como lo son los zumos de frutas no se someten a tratamientos tan intensos, puesto que el desarrollo de bacterias formadoras de esporas no tiene lugar para esos valores de pH, haciendo que la pasterización se aplique con el fin de eliminar mohos, levaduras, enzimas y bacterias no esporuladas. No obstante, la práctica habitual se encamina hacia la aplicación de temperaturas más elevadas con la consecuente reducción en los tiempos de proceso, de forma que el producto retenga al máximo sus cualidades organolépticas y nutritivas (Nutbro, 2012).

En la pasteurización, el objetivo primordial es destruir su flora patógena y la casi totalidad de flora banal alcanzando niveles que no causen intoxicaciones alimentarias a los humanos (suponiendo que el producto pasteurizado se haya refrigerado correctamente y que se consuma antes de la fecha de caducidad indicada) (Decreto 616 de 2006; Gutiérrez y otros, 2010).

Los cuatro objetivos principales que se persiguen al aplicar un tratamiento térmico a un alimento son: destruir los microorganismos que puedan afectar a la salud del

consumidor y que puedan alterar el alimento, inactivar las enzimas y optimizar la retención de factores de calidad a un costo mínimo (Osorio, 2008). Por otra parte el tratamiento térmico de un alimento depende de: la termo-resistencia de los microorganismos, enzimas presentes en el alimento, el pH del alimento y el estado físico del alimento, según (Rivas y otros, 2006) estudios realizados en jugos de naranja y de zanahoria, sobre el efecto causado por la pasteurización en las características físico-química como la acidez total, turbidez, color, actividad pectinmetilesterasa (PME) y flora microbiana, determinaron que el color no varía en ningún tratamiento, mientras que la acidez y turbiedad aumentaron con el tratamiento aplicado y las características sensoriales del zumo tratado fueron similares al jugo fresco.

La intensidad del tratamiento y el grado de prolongación de su vida útil se ven determinados principalmente por el pH permitiendo que la pasteurización sea muy efectiva en zumos debido a que es un medio ácido y evita la proliferación de microorganismos esporulados, los más resistentes a las temperaturas (Britz y otros, 2008). Además el objetivo principal de la pasteurización aplicada a alimentos de baja acidez (pH mayor a 4,5) es la destrucción de las bacterias patógenas y la inactivación de sus enzimas, mientras que en los alimentos de pH inferior a 4,5 persigue la destrucción de los microorganismos causantes de su alteración. Aunque prolonga la vida comercial de los alimentos, la efectividad de la pasteurización es sólo relativa, pues debe ir acompañada por otros métodos de conservación, como la refrigeración. Los tiempos y temperaturas de tratamiento varían según el producto y la técnica de pasteurización (Moo Puc, 2009). Por su parte la inactivación de la PME que tiene una resistencia térmica más alta que las bacterias y las levaduras existentes, garantizan la eliminación de estos microorganismos que son dañinos para la salud humana (Tribess y Tadini, 2006; Raviyan y otros, 2005). Por ende, Las enzimas para su inactivación requieren condiciones más drásticas que la destrucción de microorganismos (Raventos, 2010; Gutierrez y otros, 2010), asegurando la inocuidad del producto.

2.5.1. Microorganismos .Generalmente, cuando debemos hablar de inocuidad de un alimento se considera el aspecto microbiológico que resulta fundamental porque influye en la conservación y la vida útil del producto, pero además, porque los microorganismos pueden ser causantes de enfermedades conocidas como enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's), de tal manera que, para garantizar inocuidad del alimento, se requiere la determinación de criterios para los microorganismos patógenos y/o toxinas por lo cual es necesario conocer las normas microbiológicas en materia de alimentos, quienes establecen la calidad microbiológica en términos de ciertos microorganismos que advierten oportunamente de un manejo inadecuado o contaminación que incrementan el riesgo de presencia de patógenos en alimentos (Andino Rugama y otros, 2010).

Muchas veces la causa de la contaminación del alimento se debe a medidas higiénicas inadecuadas en la producción, preparación y conservación; lo que facilita la presencia y el desarrollo de microorganismos que producto de su actividad y haciendo uso de las sustancias nutritivas presentes en éste, lo transforman volviéndolo inaceptable para la salud humana (Andino Rugama y otros, 2010).

Por otra parte el pH del producto, cercano a 3,5, influye positivamente en el bajo desarrollo bacteriano. A su vez, el recuento microbiológico de las muestras pasteurizadas también fue relativamente bajo por lo que los tratamientos térmicos utilizados en las experiencias son suficientes para garantizar la seguridad microbiológica de este producto y evitar el desarrollo bacteriano durante su almacenamiento fresco (Osorio, 2008).

Por otra parte los microorganismos requieren la presencia de agua (disponibilidad de agua a_w), para que puedan crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas. En primer lugar, a cualquier temperatura, la capacidad de los microorganismos para crecer se reduce cuando se rebaja la a_w . Probablemente sea la temperatura el más importante de los factores ambientales que afectan la viabilidad y el desarrollo microbiano. Cualquier temperatura por encima de la máxima de crecimiento de un determinado microorganismo resulta letal para el mismo (Andino Rugama y otros, 2010).

2.5.2 Determinación de la reducción microbiana:

2.5.2.1 Reducción de la carga microbiana. Los pH cercanos a 3,5, influyen positivamente en el bajo desarrollo bacteriano, en el caso de las frutas y sus derivados, no se corre mucho peligro de contaminación con microorganismos patógenos para los humanos, ya que estos microorganismos no crecen en medios de alta acidez o bajo pH o con la composición en nutrientes que caracterizan a las frutas (Correa y otros, 1999) permitiendo trabajar las siguientes temperaturas. En Colombia el Instituto departamental de Salud, las Normas Técnicas Colombianas (NTC) e INVIMA rigen para la obtención de productos inocuos exigiendo que se encuentren los parámetros para microorganismos en niveles aceptables que es lo que se encuentra al tratarlos mediante tratamientos térmicos donde además de lograr la inactivación de enzimas cumple con la disminución de la carga microbiana patógena (Sentandreu y otros, 2005; Carbonell y otros, 2005; Osorio, 2008; Duque y otros, 2004).

Cuadro 3. Tratamientos aplicados a algunos productos para reducción microbiológica

Producto	pH	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Referencia
Jugo de mango	3,8	85	150	(Askar y otros, 1995)
Mandarina	3,6	82-94	132	(Silva y otros, 2004)
Jugo de Naranja – variedad pera (<i>Citrus aurantium L</i>)	3,6	85,0	9,1	(Tribess y otros, 2008)

Fuente: esta investigación.

Siempre se debe tener en cuenta a la relación temperatura-tiempo. Las temperaturas superiores a las que los microorganismos crecen producen inevitablemente su muerte o les provocan lesiones subletales. Si hay lesiones subletales, las células lesionadas pueden permanecer viables pero son incapaces de multiplicarse hasta que la lesión no se haya subsanado. Las exposiciones drásticas provocan en las poblaciones un progresivo y ordenado descenso de sus tasas de crecimiento (Gutiérrez y otros, 2010).

Los factores que afectan a la termorresistencia, además del tipo de microorganismo, son el número de células existentes, la fase del crecimiento en que se encuentran, y las condiciones del medio en el que se efectúa el calentamiento de los microorganismos (Gutiérrez y otros, 2010).

2.5.3 Normatividad INVIMA- resolución 7992 y NTC 5468. La normatividad NTC 5468 y resolución 7992 de INVIMA establecen los requisitos y los métodos de ensayo que deben cumplir los zumos (jugos) y néctares de frutas, además establece tanto los requisitos como los métodos de ensayo para los concentrados de frutas y los purés (pulpas) de frutas (NTC 5468, 2007)

Las pruebas microbiológicas deben aplicarse según la naturaleza del alimento para el caso de jugos y pulpas se realizan los análisis de recuento de mesófilos, de hongos (mohos y levaduras), esporas sulfito reductoras, coliformes totales y fecales (Resolución 7992/91- INVIMA; NTC 5468, 2007).

Todos los productos alimentarios a los que se les exige inocuidad deben registrarse por la legislación sanitaria en las que para el caso de Colombia están las normas técnicas colombianas, el instituto departamental de salud e INVIMA. Por su parte Los zumos (jugos) y néctares deberán someterse a pruebas para determinar su

autenticidad, composición y calidad cuando sea pertinente y necesario (NTC 5468, 2007).

Según la resolución 7992/91 de INVIMA y la (NTC 5468, 2007) se debe cumplir con ciertos parámetros (mencionados anteriormente), para admitir al zumo como un producto inocuo en base a (Gordon y otros, 2002; Sila y otros, 2007; Maca, 2012).

2.6 EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES

La conservación de la calidad organoléptica de un alimento es indispensable para garantizarle al consumidor que los atributos por los que lo seleccionó se mantienen inalterados, debido a esto se hace importante el análisis de los parámetros sensoriales, los cuales permiten evaluar dicha calidad del producto después de aplicar un tratamiento térmico, es importante realizar estos análisis debido a que se puede perder una parte significativa de su sabor a fresco cuando se somete a algún tipo de tratamiento térmico, pero no necesariamente se desarrollan sabores extraños o a cocido cuando recibe los tratamientos térmicos convencionales, muestras tratadas a 75 °C x 5 s, 90 °C x 20 s ó 90 °C x 2 min han tenido una buena aceptación sensorial, sin diferencias entre ellas. Por ello, el ajuste de las condiciones de pasterización es clave no solo para inactivar la actividad de la pectinmetilesterasa sino para tratar de conservar al máximo las cualidades organolépticas del zumo (Osorio, 2008).

2.6.1 Atributos sensoriales. La pasterización puede provocar cambios importantes en los atributos sensoriales de jugos, néctares y purés, incluyendo pérdidas en sabor, color y olor; y en el nivel nutricional. Dichos cambios se pueden presentar a lo largo del tratamiento térmico o durante el almacenamiento del producto. Para obtener productos pasterizados de alta calidad es necesario conocer la dependencia en la temperatura de los cambios sensoriales (Borques, 2000). Los zumos pasteurizados son los que presentan mayor calidad de todo el mercado, sin embargo el tratamiento térmico que se necesita, en muchas ocasiones destruye características sensoriales deseables en el zumo (Añon, 2010). No obstante, de acuerdo a los comentarios de los jueces, las diferencias entre las muestras frescas y las procesadas son debidas a la pérdida de la intensidad del sabor a fresco, pero no al desarrollo de sabor a cocido u olores extraños. Así pues, en purés de fresa estos resisten satisfactoriamente los tratamientos de calor intensos, aunque a costa de perder una parte de su delicado sabor a fresco (Osorio, 2008).

Por otra parte lo que se busca con los tratamientos térmicos es neutralizar a todos los microorganismos presentes en éste, obteniendo un producto con una larga estabilidad y con una calidad similar al zumo recién exprimido (Añon, 2010).

2.7 EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

La producción de zumos de buena calidad, exige que estos posean características fisicoquímicas adecuadas a las necesidades del consumidor. Es así como en un estudio realizado por Duque y otros (2011), la pulpa de uchuva presenta niveles de humedad de $86,1 \pm 0,45 \%$, una actividad de agua de $0,987 \pm 0,0$ igual a la reportada en la fruta fresca, los sólidos solubles de $13,6 \pm 0,59$, el pH $3,80 \pm 0,1$ y la acidez como porcentaje de ácido cítrico de $1,59 \pm 0,11$, valores muy similares a los de la fruta fresca. Cabe resaltar que es de gran interés el contenido en micronutrientes: por su cumplimiento con un papel esencial o regulador sobresaliendo la vitamina C, la provitamina A (carotenoides), vitaminas en general y algunos elementos minerales, siendo mayoritario el potasio. Entre las vitaminas, predominan las hidrosolubles, particularmente la vitamina C (*ácido ascórbico*); en este grupo se incluyen algunas vitaminas del grupo B de gran importancia para la salud humana.

2.7.1 Propiedades fisicoquímicas en el zumo de uchuva. La uchuva es ampliamente conocida por sus propiedades fisicoquímicas, las cuales varían de acuerdo a su índice de madurez. El contenido de azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa) y el contenido de ácidos orgánicos, principalmente cítrico y málico, expresados en peso fresco del vegetal, explican el sabor dulce y ácido (Márquez y otros, 2009).

Cuadro 4. Valores fisicoquímicos reportados por algunos autores

Factor Nutricional	Contenido	Fuente
Humedad	$86,1 \pm 0,45 \%$	(Duque y otros, 2011)
Calcio	9 mg	(Mahecha Godoy, 2011)
Carbohidratos	11 g	
Fibra	0,4 g	
Grasa	0,5 g	
Niacina	0,8 mg	
Riboflavina	0,17 mg	
Vitamina A	1790 UI	
Agua	85,9 gr	
Calorías	49	
Cenizas	0,7 g	
Fósforo	21 mg	
Hierro	1,7 mg	
Acido Ascórbico	25,1 mg	
Acido cítrico	4,03 mg	(Novoa y otros, 2006)
Sólidos solubles totales	11.7 g/100g	

Fuente: esta investigación.

2.7.2 Determinación de proteína por el método de Bradford. Para cuantificar la proteína en los extractos enzimáticos se empleó el método de Bradford, en el que se mide la absorbancia a 450 y 590 nm y se interpola la relación entre las dos absorbancias en la curva de calibración. Para la curva de calibración se usó como patrón de proteína la albúmina sérica bovina (BSA) y se graficó la relación entre las absorbancias para las dos longitudes de onda 590 nm y 450 nm contra diferentes concentraciones de proteína (Baquero y otros, 2005)

El método de Bradford y BSA como estándar no solo se ha utilizado en zumos, también se ha evaluado en frutos; se estudió el efecto de propileno exógenos en ablandamiento de albaricoques durante la maduración en su post-cosecha causado por la actividad de las enzimas glucosidasa, y pectinmetilesterasa y se encontró que la cantidad de pectinmetilesterasa y glucosidasa se redujo con la producción de etileno en la maduración post-cosecha (Cardarelli y otros, 2002)

Por otra parte se debe tener en cuenta que el calentamiento prolongado causa precipitación en la proteína separándose completamente del líquido donde se encuentra disuelta. La sensibilidad de las proteínas a la desnaturalización térmica, depende de numerosos factores tales como la naturaleza y concentración de la proteína, actividad del agua, pH, fuerza iónica, naturaleza de los iones presentes (Bromovsky y Horianski, 2012).

2.7.3 Determinación de la capacidad antioxidante de la uchuva por el método de radical libre ABTS^{•+} Actualmente el método ABTS^{•+} ha sido ampliamente usado tanto para materiales biológicos, compuestos puros o extractos de plantas de naturaleza hidrófila o lipófila. El compuesto cromógeno ABTS presenta color azul/verde con máximo de absorción a 342 nm, es muy soluble en agua y químicamente estable después de 16 horas de haber sido generado. El radical ABTS^{•+} una vez generado químicamente (dióxido de manganeso, persulfato potásico o ABAP [2,2'-azobis-(2-amidinopropeno)], pasa a presentar nuevas características con un máximo de absorción a 734 nm (Jimenez y otros, 2008; Kuskoski y otros, 2005).

El radical ABTS^{•+} es más indicado para ensayos de compuestos coloreados, como el caso de los antocianos, por presentar absorción máxima próxima a la región infrarroja (734 nm) reduciendo posibilidades de interferencias de compuestos coloreados que absorben en la región del visible o compuestos resultantes de reacción secundaria. Aplicando este método se determinó y comparó la actividad antioxidante que posee la uchuva (Jimenez y otros, 2008; Kuskoski y otros, 2005).

Además la actividad antioxidante en los productos alimenticios proporciona beneficios sobre la salud, principalmente a través de la combinación de efectos aditivos y/o sinérgicos. La mayor parte de la actividad antioxidante proviene principalmente del contenido de flavonoides y otros compuestos fenólicos, el único

inconveniente es que las altas temperaturas también actúan en la degradación de estos compuestos (Kuskoski y otros, 2005)

Por su parte los extractos de lulo y uchuva poseen alta capacidad antioxidante medidos por el método ABTS^{**+} con resultados de 14,02 y 0,426 (expresados en $\mu\text{mol Trolox/g}$ peso fresco) respectivamente, gracias a su alto contenido fenólico que les confiere propiedades terapéuticas (Cerón y otros, 2011).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIA PRIMA

La obtención de la materia prima se hizo en el municipio de Funes vereda el Chapal en el departamento de Nariño, se encuentra entre los 2000 y 3000 m.s.n.m. con una temperatura entre 12 y 17,5 °C. La zona de transición es de 300 a 400 metros en su límite inferior y superior con una precipitación anual entre 1.000 y 2.000 milímetros y humedad relativa de 70 a 80 por ciento con lo que se registra un buen comportamiento del cultivo (Delgado, 2011). Dicho proveedor tiene una producción de uchuva constante de aproximadamente 200 Kg semanales. En el invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Nariño se realizaron comparaciones de la planta con las variedades existentes y se obtuvo que dicha planta pertenece a la variedad Perú esta misma variedad la cultivan también en otros municipios de Nariño como lo es Puerres lugar de donde fue traída su semilla.

Figura 5. Uchuva variedad Perú.



Fuente: esta investigación

3.2 EXTRACCIÓN DEL ZUMO

La uchuva fue pesada para posteriormente, seleccionarla, clasificarla, lavarla y desinfectarla con una solución de hipoclorito de sodio en concentración de 30 ppm, enseguida se enjuagó y se realizó la extracción para lo cual fue necesario utilizar la licuadora de frutas en acero inoxidable JAVAR de la unidad de producción agroindustrial (UPA) en Planta Piloto-Universidad de Nariño. El zumo obtenido fue filtrado en papel filtro de diametro 0,05 mm con el fin de separar las semillas y cáscara, finalmente se llevó parte del zumo a una marmita (en acero inoxidable) donde fue sometido a los diferentes procesos de pasteurización, se envasó y utilizó para los análisis sensoriales, mientras que la otra parte de zumo

fresco se llevó a congelación para los análisis de pasteurización en tubos capilares.

3.3 DISEÑOS EXPERIMENTALES REALIZADOS PARA LA INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA

Para establecer las condiciones de pasteurización, que reduzcan no solo la carga microbiológica sino que también inactiven enzimas, se requiere determinar los parámetros como temperatura y tiempo a los que se debe someter el zumo de uchuva, logrando inactivar la enzima pectinmetilesterasa (PME) hasta niveles aceptables (10% de actividad residual) y reducir los microorganismos patógenos que puedan desarrollarse en el zumo a los niveles exigidos por INVIMA, en base a otros estudios realizados en jugos de naranja, mandarinas e híbridos por Sentandreu y otros (2005), en zanahoria por Sila y otros (2007) , y en tomate de árbol por Maca (2012). Se planteó un diseño factorial multinivel, con temperaturas y tiempos indicados en el cuadro número 6 de matriz del diseño experimental, obteniendo como única variable de respuesta la actividad residual enzimática, los factores y niveles así como las unidades se expresan a continuación.

Cuadro 5. Factores y niveles experimentales del diseño factorial multinivel.

Factores	Bajo	Alto	Niveles	Unidades
Temperatura	60,0	90,0	4	°C
Tiempo	20,0	60,0	3	S

Fuente: esta investigación

Con este diseño se encontró un rango de temperaturas más reducido para posteriormente plantear un diseño central compuesto más puntos estrella para finalmente encontrar el punto óptimo de pasteurización para inactivar la enzima PME en uchuva. El análisis estadístico de los datos fue realizado con la ayuda del software estadístico STATHGRAPHICS 3.1.

3.3.1 Diseño factorial multinivel. En este diseño se consideran dos factores diferentes o eventos que influyen sobre la variable de respuesta, la cual es la actividad enzimática residual expresada en % AR (porcentaje de actividad residual).

Cuadro 6. Matriz de diseño experimental

Bloque	Temperatura (°C)	Tiempo (s)
1	90	40

Bloque	Temperatura (°C)	Tiempo (s)
1	80	60
1	70	40
1	90	60
1	60	40
1	70	60
1	70	20
1	60	20
1	60	60
1	90	20
1	80	20
1	80	40
2	70	20
2	80	40
2	80	60
2	60	40
2	80	20
2	60	20
2	70	60
2	90	60
2	70	40
2	90	40
2	60	60
2	90	20
3	60	20
3	70	60
3	70	40
3	80	20
3	90	60
3	80	40
3	90	40
3	60	40
3	70	20
3	90	20
3	60	60
3	80	60

Fuente: esta investigación

Los atributos del diseño factorial multinivel son los siguientes:

Número de factores experimentales: 2
 Número de bloques: 3
 Número de respuestas: 1
 Número de corridas: 36
 Aleatorizado: Sí

Se creó un diseño factorial multinivel que consiste de 36 corridas. El diseño fue corrido en 3 bloques. El orden de los experimentos ha sido completamente aleatorizado, para aportar protección contra el efecto de variables ocultas.

Diseño de composición central. El diseño de composición central: 2^2 + puntos estrella, con metodología de superficie de respuesta, (DCC) se utilizó en la etapa de búsqueda del punto óptimo de pasteurización debido a su flexibilidad para optimizar variables respuesta (Montgomery, 2008). Fue construido a partir del diseño factorial completo 2^k y se compone de tres tipos de puntos:

- Una réplica de un diseño factorial en dos niveles, completos.
- η_0 puntos o repeticiones al centro del diseño, con $\eta_0 \geq 1$.
- Dos puntos sobre cada eje, llamados porción axial.

Cuadro 7. Factores y niveles experimentales del Diseño de Composición Central.

Nombre	Bajo	Alto	Unidades
A: Temperatura	70	80	°C
B: Tiempo	10	30	s

Fuente: esta investigación

Cuadro 8. Matriz de diseño de composición central experimental.

Bloque	Temperatura (°C)	Tiempo (s)
1	75	20
1	75	20
1	75	20
1	75	20
1	75	20
1	75	20
1	75	20
1	70	10

Bloque	Temperatura (°C)	Tiempo (s)
1	80	10
1	70	30
1	80	30
1	68	20
1	82	20
1	75	6
1	75	34
2	75	20
2	75	20
2	75	20
2	75	20
2	75	20
2	75	20
2	75	20
2	70	10
2	80	10
2	70	30
2	80	30
2	68	20
2	82	20
2	75	6
2	75	34
3	75	20
3	75	20
3	75	20
3	75	20
3	75	20
3	75	20
3	75	20
3	70	10
3	80	10
3	70	30
3	80	30
3	68	20
3	82	20
3	75	6
3	75	34

Fuente: esta investigación

Los atributos del Diseño de composición central: 2^2 + puntos estrella utilizados son:

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 3

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 45

Aleatorizado: Sí

Puntos centrales: 5

Puntos axiales para temperatura: 2

Puntos axiales para tiempo: 2

3.3.2 Optimización de los factores del proceso. El diseño factorial con metodología de superficie de respuesta permitió hallar las condiciones óptimas de operación para el proceso de pasteurización del zumo de uchuva, implicando la mejor combinación de los factores, mediante la opción optimizar.

Para el diseño de composición central y destino se tiene como variable de respuesta la actividad enzimática residual expresada como % AR, donde el destino es alcanzar un porcentaje igual ó menor al 10 % AR.

3.3.3 Análisis estadístico para evaluar la inactivación enzimática. La valoración estadística de los factores que influyen sobre la variable respuesta y características estudiadas se estableció por medio de los siguientes análisis:

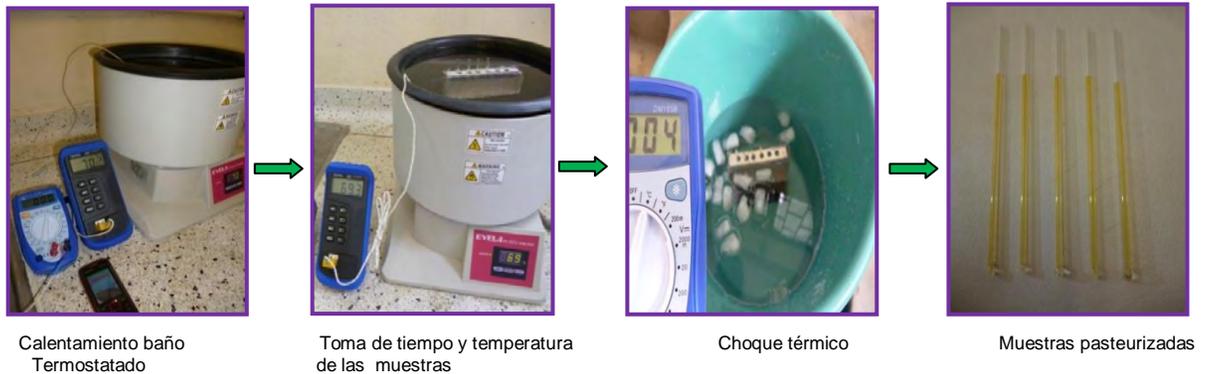
- Tabla ANOVA
- Diagrama Efectos Principales
- Diagrama de Pareto
- Superficie de Respuesta
- Óptima Respuesta

3.4 TRATAMIENTO TÉRMICO

Se trabajó con la metodología desarrollada por Gordon y otros (2002) y ajustada para esta investigación, los experimentos se realizaron según la matriz del diseño, cada muestra se colocó en tubos capilares de vidrio (Longitud $75 \pm 1,00$ mm; diámetro interno $1,15-0,05$ mm; diámetro externo $1,55 -0,05$ mm; espesor de paredes $0,2 \pm 0,02$ mm; capacidad volumétrica $100 \mu\text{L}$); se utilizaron tubos microhematocrito que cumplen con las condiciones dadas, esto permite minimizar el tiempo de subida (Come up time o CUT por sus siglas en inglés), y de proceso, para evitar la degradación de los compuestos de interés, Los tubos capilares se

colocaron en un baño termostataado EYELA N 1001 S - WD 115 V con precisión de $\pm 0,3$ °C (Figura 6). Las muestras una vez calentadas por el tiempo especificado, se introdujeron en un baño de agua con hielo con el fin de realizar el choque térmico. Posteriormente las muestras fueron llevadas para los análisis microbiológicos y/o la extracción enzimática.

Figura 6. Pasos para la Pasteurización de las muestras.



Fuente: esta investigación

3.5 PROTOCOLO PARA LA EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA DEL ZUMO DE UCHUVA

Se utilizó las metodologías reportadas por Daoudi (2004), Da Silva (2006) y Maca (2012) adecuadas parcialmente para esta investigación. Se tomaron 400 μL de zumo de uchuva pasterizados y se mezclaron con 1200 μL de cloruro de sodio al 8,8 % (p/v) y 0,04 g de polivinilpirrolidona (PVPP) y se homogenizó por 10 min a 200 rpm en la plancha de agitación magnética THOMAS SCIENTIFIC y temperatura ambiente, en seguida se filtró y se centrifugó el líquido obtenido a 10.000 rpm por 30 min a una temperatura de 4 °C. Se recogió el sobrenadante (extracto enzimático) y se almacenó en tubos de ensayo a -23 °C hasta el momento de análisis.

Figura 7. Centrifuga



Fuente: Esta Investigación

Figura 8. Muestras



Fuente: Esta Investigación

Figura 9. Plancha de agitación magnética



Fuente: esta investigación

3.6 PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

La determinación de la actividad enzimática se realizó mediante las metodologías reportadas por Vivar-Vera y otros (2007), Sila y otros (2007), Bellur (2009), Daoudi (2004) y Balogh y otros (2004), las cuales fueron ajustadas a esta investigación. Se utilizó una solución buffer formada a partir de fosfatos de sodio con un pH de 7,5, un indicador azul de bromotimol, agua HPLC y el extracto a continuación se muestra las cantidades y concentraciones usadas en la determinación de la actividad de la pectinmetilesterasa, mediante espectrofotometría de UV- VIS.

Cuadro 9. Reactivos, cantidades y concentraciones para la medición de la actividad enzimática

Concentración Reactivos	Cantidad	
	Patrón (µL)	Muestras (µL)
Pectina cítrica MRS 351 al 0,5% (p/v)	1760	1760
Azul de bromotimol al 0,01% (p/v) en buffer fosfato de sodio al 3mM	530	530
Agua HPLC	580	510
Extracto enzimático	-----	70

Fuente: Esta investigación

Todos los reactivos se llevaron a pH: 7,5 con ayuda de NaOH al 1N y 0,01N, para que el pH fuera siempre el mismo y los resultados fueron reproducibles.

La determinación enzimática fue seguida con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 620 nm, durante 50 min con intervalos de tiempo de 30 s a temperatura ambiente. La actividad enzimática se expresó como el cambio de densidad óptica (ΔDO) en un minuto bajo las condiciones de ensayo, ($\Delta A_{620}/(\text{min} \times \text{ml de extracto})$).

Figura 10. Espectrofotómetro Genesys 10 UV-VIS



Fuente: Esta investigación

Para el cálculo de la actividad enzimática se usó la parte lineal de la curva obtenida en el espectrofotómetro, tomando como actividad enzimática la pendiente (m) de la recta encontrada hasta un tiempo de inicio de 10 min.

Por otra parte la actividad inicial de la enzima PME (A_0) es el valor correspondiente a la pendiente (m) obtenido al evaluar la actividad enzimática PME en zumo sin pasteurizar y la actividad enzimática (A_t) corresponde al valor de la pendiente (m) obtenido al evaluar la actividad enzimática PME en zumo pasteurizado (Da Silva y otros, 2006; Osorio, 2008; Sentandreu y otros, 2005).

La actividad residual se determinó con la siguiente ecuación: (Matsui y otros, 2007; Osorio, 2008; Tiwari y otros, 2009; Pantoja y Latorre, 2010; Maca, 2012; Trejo y Guerrero, 2012).

$$\% AR = \frac{A_t}{A_0} \times 100 \text{ (Ecuación 1)}$$

Donde:

% AR= porcentaje de actividad residual

A_t = Actividad de PME después del tratamiento térmico

A_0 = Actividad de PME antes del tratamiento térmico

3.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Según la resolución 7992/91 de INVIMA, la NTC 5468 (2007), Maca (2012), Ávila (2008) y otros, las pruebas microbiológicas reportadas en el cuadro 5 se emplean para hortalizas procesadas, jugos (zumos) y pulpas de frutas pasteurizados, congelados o no congelados. El análisis estadístico para las pruebas microbiológicas no se realizó ya que para cada uno de los parámetros analizados ya existen límites establecidos por lo que solo se determinó si las muestras se encontraban o no dentro de este rango permitido, evaluando temperaturas desde los 60 °C - 90 °C por tiempos desde los 10 a 30 s.

Cuadro 10. Tratamientos para evaluar la carga microbiológica en el zumo de uchuva

Temperatura (°C)	Tiempo (s)
75	10
60	10
60	30
90	10
75	30
90	30

Fuente: esta investigación

La comparación de los datos se realizó con los límites establecidos por la Norma Técnica Colombiana 5468 y el decreto 7992 de INVIMA.

Cuadro 11. Métodos y límites permisibles para análisis microbiológicos en zumos

PARÁMETRO	MÉTODO	Niveles permitidos Resolución 7992 INVIMA		Valor admitido zumos pasteurizados NTC 5468
		Índice máximo permitido(calidad aceptable) (M)	Índice máximo permitido(calidad buena) (m)	
Mesófilos aerobios	Recuento En Placa	3.000	20.000	100 – 1.000
Coliformes totales	NMP	-	9	<10
Coliformes fecales		-	<3	<10
Esporas de Clostridium sulfito reductoras	Recuento en Placa	-	<10	<10
Mohos y Levaduras	Recuento en Placa	200	10.000	100 - 200

Fuente: (Ávila y otros, 2008, Maca, 2012, resolución 7992 /91 INVIMA)

Las muestras de zumo pasteurizado para estos análisis se obtuvieron en el laboratorio de la Planta Piloto de la Universidad de Nariño teniendo en cuenta las precauciones higiénicas y de manufactura; en seguida se implementó las técnicas descritas en el anterior cuadro las cuales se realizaron en los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño.

3.8 EVALUACION DE LAS CARACTERISTICAS SENSORIALES

La evaluación sensorial se aplicó al tratamiento de pasteurización óptimo encontrado en el diseño de composición central y además se le adicionó dos puntos de pasteurización similares al punto óptimo (70 °C y 90 °C) dichas temperaturas son elevadas y se conoce que pueden afectar las propiedades organolépticas en función del tiempo, estos tratamientos se los contrastó con una muestra testigo correspondiente al zumo de uchuva sin pasteurizar con el fin de encontrar posibles cambios significativos respecto a éste (Sentandreu y otros, 2005).

Cuadro 12. Matriz de tratamientos para la evaluación sensorial.

Tratamientos	
Temperatura (°C)	Tiempo (s)
70	10
80	10
90	10
Testigo (sin tratamiento térmico)	

Fuente: Esta investigación.

Para la evaluación sensorial de los tratamientos aplicados al zumo se utilizó la prueba discriminativa (prueba de ordenamiento), pruebas de triangulo y de preferencia, las cuales permiten definir propiedades de una manera objetiva, éstas proporcionan información más que otras pruebas, por lo que se utilizan jueces entrenados, que son personas que han recibido cierta enseñanza teórica y práctica acerca de la evaluación sensorial, mínimo se utilizan 7 y máximo 15 jueces, ya que con menos de siete, los resultados carecen de validez, y con más de 15 el grupo resulta muy difícil de entrenar y el número de datos es innecesariamente grande, y esto último redundaría en mayores costos de preparación de muestras, entrenamiento de jueces, y mayor tiempo para la realización de pruebas (Anzaldúa Morales, 1994; NTC 4129, 1997; NTC 3925, 1996; NTC 3930, 2009).

3.8.1 Selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores. Para el entrenamiento de jueces se utilizaron pruebas de sensibilidad, las cuales determinan la habilidad de los participantes para reconocer y distinguir los cuatro sabores básicos. Lo que se enmarca en las NTC 4129 (1997), NTC 3925(1996) y NTC 3930 (2009), donde se plantea la información básica y los compuestos necesarios para emplear en la evaluación sensorial (Maca, 2012).

3.8.2 Reconocimiento de olores básicos. Los evaluadores deben tener una habilidad por encima del promedio, para distinguir concentraciones de vainilla, menta, caramelo, canela(NTC 4130, 1997). Los evaluadores deben percibir el olor de cada muestra, hasta que encuentren identificado el olor o algo que se acerque al olor real, ellos anotan su percepción en el formato dado para esta prueba (Ver anexo 9).

Figura 11. Reconocimiento de olores básicos



Fuente: Esta investigación.

Cuadro 13. Materiales para reconocimiento de olores básicos.

Olor	Material
Vainilla	Vainilla
Menta	Salicilato de mentilo
Caramelo	Caramelo
Canela	Aldehído cinámico

Fuente: (NTC 4129, 1997)

3.8.3 Prueba de discriminación (pruebas de ordenamiento). Se emplearon estas pruebas ya que no se requiere conocer la sensación subjetiva que produce un alimento a una persona, sino que se desea establecer si hay diferencia o no entre dos o más muestras y, en algunos casos, la magnitud o importancia de esa diferencia. La prueba de ordenamiento es muy sencilla. En ella se dan a los jueces tres o más muestras que se difieren en alguna propiedad, y se les pide que las pongan en orden creciente o decreciente dicha propiedad (Anzaldúa Morales, 1994).

Cuadro 14. Materiales para la prueba de discriminación

Prueba		Material	Concentración a temperatura ambiente(g/L)
Discriminación del gusto.	Dulce	Sacarosa	5 g/L;7 g/L;10 g/L;12 g/L
	Acido	Acido cítrico	5 g/L;7 g/L;10 g/L;12 g/L
Discriminación de olor.	Limón fresco	Citral	5 g/L; 10 g/L; 20 g/L; 40 g/L
Discriminación de color.	Naranja	Escalas de color (ver anexo)	

Fuente: (NTC 4129, 1997)

3.8.4 Codificaciones para entrenamiento del panel de evaluación sensorial. Se utilizaron las codificaciones que se describen en la siguiente tabla:

Cuadro 15. Codificación de muestras para entrenamiento

Identificación de Olores	Características	Codificación
Olores	Canela	875
	Caramelo	711
	Menta	539
	Vainilla	134
Identificación de colores	Características	Codificación
Color naranja	Escala de color	3078
		6325
		1245
		5894
		4562
		2123
		7564
Identificación de colores	Características	Codificación
Color naranja	Escala de color	9042
		8673
		7935
Discriminación de olores	Características	Codificación
Limón	5 ml	7649
	10 ml	1613
	20 ml	5797
	40 ml	4853
Discriminación de sabores	Características	Codificación
Sacarosa	10 g/L	1258
	25 g/L	6522
	32 g/L	8093
	44 g/L	1011
Discriminación de sabores	Características	Codificación
Acido cítrico	10 g/L	341
	25 g/L	872
	32 g/L	916
	44 g/L	715
Las codificaciones se obtuvieron del apéndice I de Anzaldúa Morales (Ver anexo N° 14)		

Fuente: Esta investigación

3.8.5 Evaluación sensorial del zumo de uchuva (pruebas sensoriales discriminativas-pruebas de ordenamiento). El análisis es estrictamente normalizado, implicando el uso de técnicas específicas perfectamente estandarizadas, con el objeto de disminuir la subjetividad en las respuestas. La herramienta básica que se empleó para este análisis son personas entrenadas (evaluadores sensoriales) (Anzaldúa Morales, 1994; NTC 3930, 2009).

Tipo de juez: Entrenado

Número de jueces: $7 \leq n \leq 15$

Salas de cata: Planta piloto Facultad de Ingeniería Agroindustrial Universidad de Nariño.

- La evaluación se realizó en una sola sesión, para cada prueba.
- A cada juez se le ubicaron las muestras codificadas con números.
- Los jueces evaluaron color, olor, sabor y acidez (Ver anexo 11).

3.8.5.1 Análisis estadísticos para la evaluación sensorial del zumo. El análisis de resultados fue realizado con ayuda del programa Statgraphics 3.1. El método empleado para discriminar entre las medias fue la diferencia mínima significativa HSD de Tukey; con este método existe un riesgo del 5,0 % al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0 y además se analizó mediante los apéndices 5 y 2 del libro de Anzaldúa Morales (1994).

3.9 DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS

3.9.1 Pruebas fisicoquímicas. Para la determinación de las características fisicoquímicas se realizó al zumo de uchuva pasteurizado en el punto óptimo encontrado en el Diseño de Composición Central y al zumo sin pasteurizar, los siguientes análisis:

Cuadro 16. Métodos y técnicas para evaluar las características fisicoquímicas

PARAMETRO	MÉTODO	TÉCNICA
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica
Acidez (ácido cítrico)	NTC 4623	Volumétrica
Vitamina C	Mohr	Espectrofotométrica
Fibra cruda	Digestión ácida-básica. Crisol Gooch	Gravimétrica
°Brix	Refractométrico	Volumétrica
pH	pH-metro	Volumétrica

Fuente: Laboratorios especializados Universidad de Nariño, 2012, (Duque y otros, 2011).

3.9.2 Método de Bradford para la cuantificación de proteína. Se utilizó éste método para la determinación de las concentraciones de proteínas solubles en agua, esto se realizó por medida espectrofotométrica con azul de coomasie o reactivo de Bradford (Burgess y Deutscher, 2009). Para la cuantificación de proteína se tomó 50 µL de del extracto enzimático de uchuva, luego se adicionó 1500 µL de azul de coomasie ó reactivo de Bradford, se dejó incubar por 10 min a temperatura ambiente y se midió en el espectrofotómetro a 595 nm (Burgess y Deutscher, 2009; Trejo y Guerrero, 2012). Finalmente se realizó una curva de calibración utilizando diluciones de estándar de proteína de albumina sérica bovina (BSA) de concentraciones de 2000 a 0 µg/ml (Cuadro 18) de acuerdo a lo especificado por el manual del kit para ensayos de proteína (Pierce, 2010).

Cuadro 17. Diluciones de proteína BSA rango 0 - 2000 µg/ml.

Vial	Volúmen de dilución	Volumen de BSA(µg)	CONCENTRACIÓN FINAL DE BSA(µg/ml)
A	0 µL	300 µL de solución stock	2000 µg/ml
B	125 µL	375 µL de solución stock	1500 µg/ml
C	325 µL	325 µL de solución stock	1000 µg/ml
D	175 µL	175 µL de solución vial B	750 µg/ml
E	325 µL	325 µL de solución vial C	500 µg/ml
F	325 µL	325 µL de solución vial E	250 µg/ml
G	325 µL	325 µL de solución vial F	125 µg/ml
H	400 µL	100 µL de solución vial G	25 µg/ml
I	400 µL	0	0 µg/ml = Blanco

Fuente: (Pierce, 2010)

Del cuadro anterior se obtiene una recta de la cual se aplica regresión lineal y se obtiene la siguiente ecuación la cual permitirá el cálculo de la proteína enzima presente en los zumos pasterizados en los diferentes tratamientos:

$$Abs = mx + b \text{ (Ecuación 2)}$$

En donde:

Abs: Absorbancia medida en (nm).

m: La pendiente.

x: Contracción de proteína en (µg/ml).

b: El intercepto.

3.9.3 Método de radical libre ABTS^{•+} para la evaluación de la capacidad antioxidante. Se realizó mediante la metodología reportada por Jimenez y otros (2008), Miller y otros (1997), y Re y otros (1999) mediante espectrofotometría de UV-VIS, para lo cual se generó el radical ABTS^{•+} tras la reacción de ABTS 7 mM con persulfato potásico 2,45 mM. Se dejó a temperatura ambiente y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS^{•+} se diluyó con metanol

HPLC hasta obtener un valor de absorbancia de $0,7 \pm 0,2$ en una longitud de máxima absorbancia de 734 nm.

Para la reacción se tomó 1 ml de la solución de ABTS^{**} y se agregó 20 μ L de la solución a estudiar. Se agitó con ayuda de un vórtex durante 1 min y transcurridos 6 min de reposo se tomó lectura de absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro Genesys 10 UV-VIS.

3.9.3.1 Protocolo de obtención de la muestra con capacidad antioxidante de la uchuva. Se desarrolló mediante la metodología reportada por Jimenez y otros (2008), en donde se lavó las uchuvas con agua destilada, se licuó y se eliminó la semilla. Se pesó 2,5 g de zumo y se añadió 12,5 ml de metanol (reactivo analítico), se homogenizó durante 15 min y se almacenó en un frasco oscuro durante 24 horas a 4 °C, posteriormente se centrifugó durante 15 min a 10.000 rpm y se usó el sobrenadante para el análisis.

3.9.3.2 Curva de calibración con patrones de trólox . Se preparó una curva de calibración con soluciones de trólox a concentraciones desde 0 hasta 8 mM y siguiendo la metodología antes descrita por Jimenez y otros (2008), Miller y otros (1997), y Re y otros (1999), de donde se obtuvo una ecuación de regresión lineal:

$$Abs = mx + b \text{ (Ecuación 3)}$$

Donde:

Abs: Absorbancia medida en nm

m: La pendiente

x: La concentración en equivalentes trolox/g de muestra.

b: El intercepto.

Para el cálculo de la concentración en equivalentes trolox de las muestras, se despeja x de la ecuación 2, obteniendo la siguiente ecuación.

$$x = \frac{Abs-b}{m} \text{ (Ecuación 4)}$$

Los resultados se expresó en μ mol o en mmol de trolox/g de extracto de acuerdo a los requerimientos de cada muestra, el método se desarrolló por triplicado. Las cantidades usadas para la curva de calibración se muestran a continuación.

Cuadro 18. Concentraciones y cantidades para curva de calibración con patrones de trolox

Concentración Trolox (mM)	Cantidad a usar Trolox (μL)	ABTS⁺⁺ (ml)
8	40	2
4	40	2
2	40	2
1	40	2
0	40	2

Fuente. Esta investigación

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RENDIMIENTO DE LA EXTRACCION DEL ZUMO

Para la extracción de zumo de uchuva se utilizó en promedio 14 Kg de materia

prima con lo cual se obtuvo un $\bar{x} = 9,789 \text{ Kg} \pm 1,265 \text{ Kg}$ de muestra, es decir que alcanzó un rendimiento de 69,9 %, lo que se encuentra dentro del rango de rendimiento en pulpa de uchuva teórico el cual está en un 70 % reportado por (Camacho, 2012). La muestra de zumo se almacenó a una temperatura de congelación (-23°C) durante el desarrollo de la investigación.

Figura 12. Extracción del zumo de uchuva

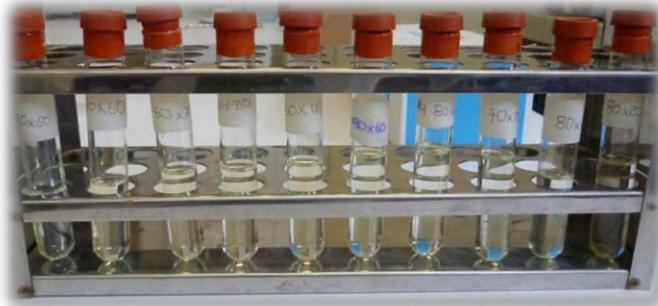


Fuente: esta investigación

4.2 RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ENZIMATICO

A partir de 40 ml entre zumo de uchuva y solución de NaCl usado para la extracción de la enzima PME, de donde se obtuvo 35,3 ml de extracto enzimático después de la agitación y la centrifugación, es decir que se alcanzó un rendimiento de 88 %.

Figura 13. Extracto enzimático

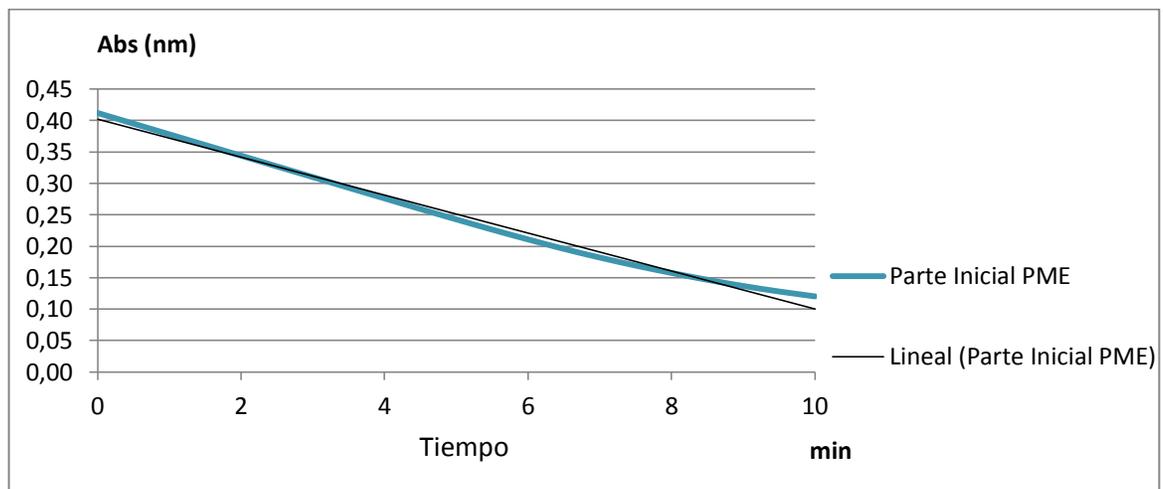


Fuente: esta investigación

4.3 EVALUACIÓN DE LA INACTIVACIÓN DE LA ENZIMA PME EN ZUMO DE UCHUVA

4.3.1 Medición de la actividad enzimática en zumo fresco:

Gráfica 1. Parte lineal de la curva cinética de PME en zumo de uchuva fresco



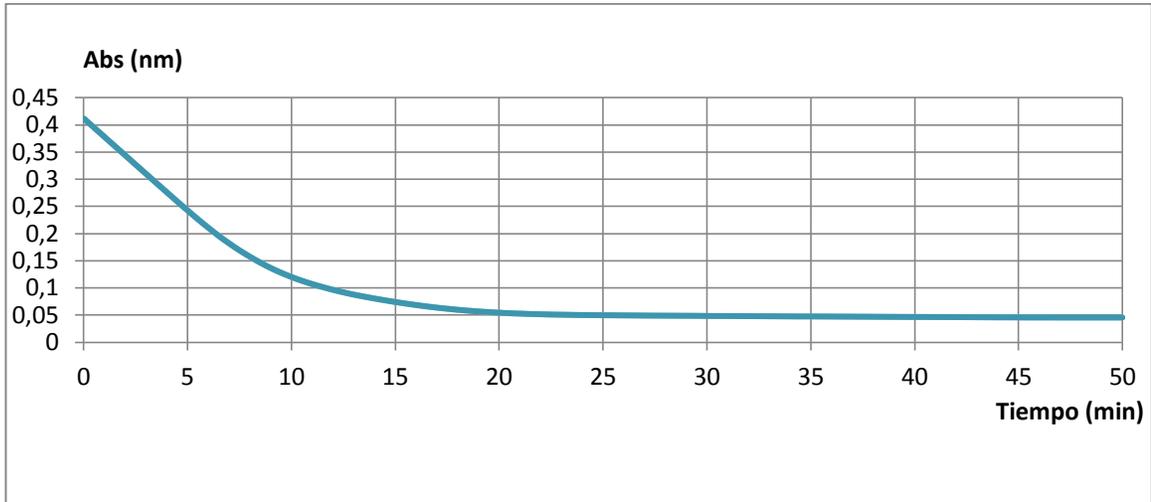
Fuente: esta investigación

La ecuación de regresión lineal que se obtuvo para un tiempo inicial de 10 min en el análisis de la actividad PME en zumo sin tratamiento es:

$$\text{Abs} = -0,03403X + 0,412 \text{ (Ecuación 5)}$$
$$R^2 = 0,998$$

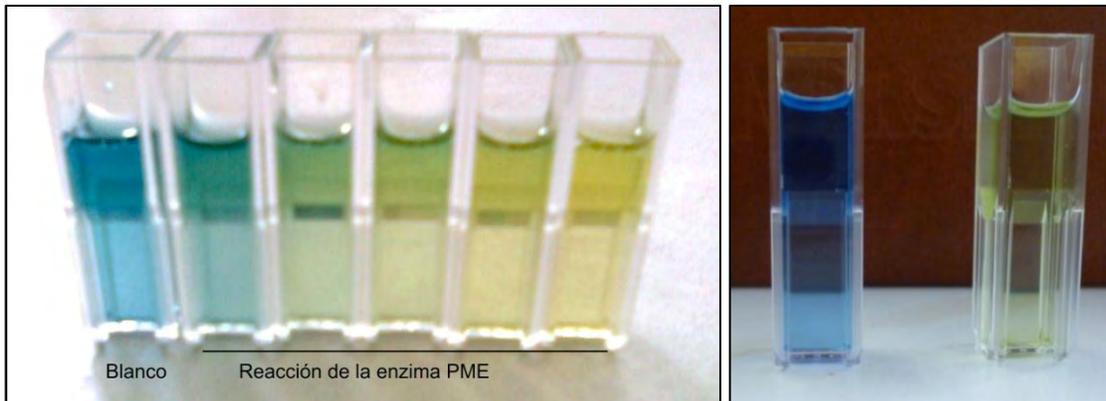
Por lo tanto el valor de actividad enzimática inicial $A_0 = 0,03403 \Delta\text{Abs}_{620}/(\text{min} \times \text{ml}$ de extracto).

Gráfica 2. Actividad Enzimática Inicial de PME en zumo de uchuva sin tratamiento



Fuente: esta investigación

Figura 14. Reacción de la enzima PME



Fuente: esta investigación

4.3.2 Análisis estadístico de la actividad enzimática del diseño factorial multinivel. El cuadro 19 muestra el promedio de la actividad enzimática y residual obtenida en los diferentes tratamientos.

Cuadro 19. Actividad enzimática y residual en zumo de uchuva pasteurizado

Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Actividad Enzimática (Δ Abs/min)	Actividad Residual Promedio (%)	\pm Desviación estándar
Sin tratamiento	-	0,03403	100	-
60	20	0,01774	52,12	0,335
60	40	0,01499	44,05	0,521
60	60	0,01416	41,60	1,441
70	20	0,01323	38,87	0,701
70	40	0,01138	33,44	0,859
70	60	0,01043	30,66	0,941
80	20	0,00305	8,96	1,940
80	40	0,00142	4,18	0,646
80	60	0,00090	2,64	0,355
90	20	0,00123	3,61	1,233
90	40	0,00117	3,45	0,951
90	60	0,00039	1,13	0,293

Fuente: esta investigación

4.3.3 Análisis de varianza para la actividad residual de PME. En el cuadro 20, se observa que la temperatura, el tiempo, el cuadrado de la temperatura, interacción temperatura tiempo y el cuadrado del tiempo tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que causan un efecto significativo sobre la actividad residual con un nivel de confianza del 95,0 %, además los cuadrados de la temperatura y tiempo indican que hay un punto óptimo de pasteurización.

El estadístico R-Cuadrado indica que el modelo explica en un 92,87 % la variabilidad de la actividad residual. Con lo cual se puede deducir que el diseño cuenta con un buen ajuste, permitiendo hacer un análisis confiable sobre la variable implicada.

Cuadro 20. Tabla ANOVA de Análisis de Varianza para la Actividad Residual PME del Diseño Factorial multinivel.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Temperatura	11324,0	1	11324,0	11929,67	0,0000
B:Tiempo	284,075	1	284,075	299,27	0,0000
AA	185,141	1	185,141	195,04	0,0000
AB	50,687	1	50,687	53,40	0,0000
BB	10,9122	1	10,9122	11,50	0,0024
Falta de ajuste	888,027	6	148,004	155,92	0,0000
Error puro	22,7816	24	0,949233		
Total (corr.)	12765,7	35			

Fuente: esta investigación

R-cuadrada = 92,87 %

Error estándar del est. = 0,974286

Error absoluto medio = 4,41838

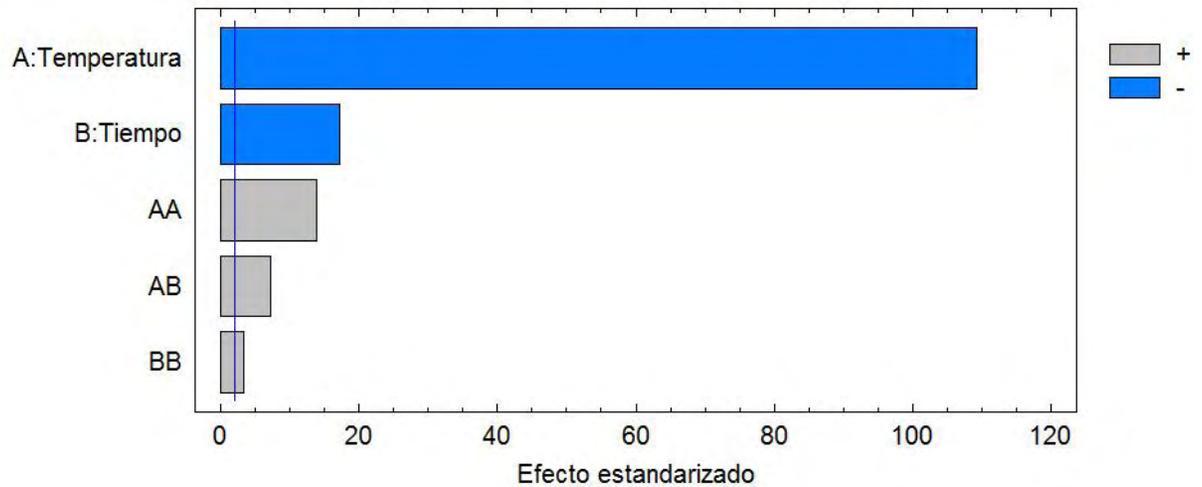
Estadístico Durbin-Watson = 2,12936 (P=0,6837)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,0924523

El diagrama 1 muestra los estimados del cuadro 19 en orden decreciente en donde el efecto de la temperatura (A), el tiempo (B), el cuadrado de la temperatura (AA), el cuadrado del tiempo (BB) y la interacción temperatura tiempo (AB) ejercen un efecto significativo sobre la actividad residual enzimática, encontrándose además que la temperatura es la que produce un mayor efecto de reducción en la actividad enzimática residual, ya que a medida que la temperatura aumenta la actividad residual disminuye.

Resultados similares fueron alcanzados por Sentandreu y otros (2005), en jugo de naranja con una actividad residual del 10 % para una temperatura de 80 °C x 5 s, de igual forma Osorio (2008) alcanzo una actividad residual del 5.4 % en puré de fresa, para una temperatura de 90 °C x 20 s; obteniendo una notable disminución de la actividad residual enzimática a medida que la temperatura y el tiempo se incrementan.

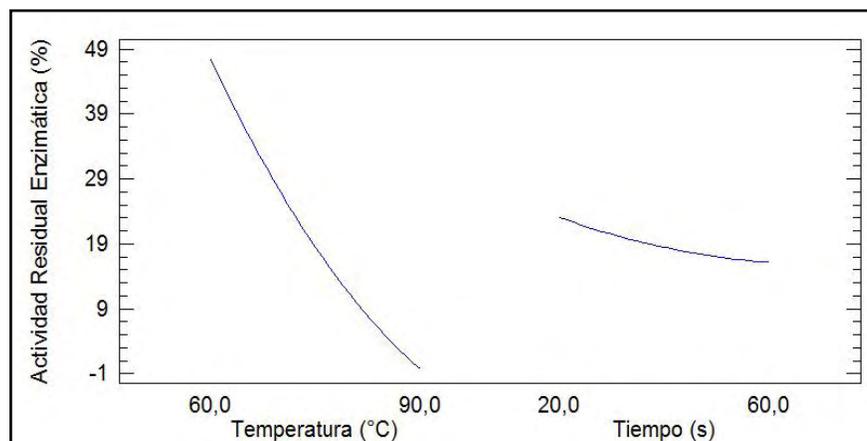
Diagrama 1. Diagrama de Pareto Estandarizado para Actividad Residual PME diseño factorial



Fuente: esta investigación

La gráfica 3 indica que la disminución de la actividad residual es producida por el efecto de la temperatura, mostrando claramente el efecto negativo ejercido sobre la actividad residual a medida que esta se incrementa, por su parte el tiempo a pesar de que es significativo indica que tiene un efecto menor que la temperatura sobre la actividad residual enzimática al presentar una leve pendiente negativa.

Gráfico 3. Efectos principales para actividad residual PME diseño factorial



Fuente: esta investigación

En la gráfica 3 de efectos principales para actividad residual enzimática se observa que el punto más bajo de la actividad se encuentra a una temperatura de 90 °C con una actividad residual de aproximadamente 0,82 %, teniendo en cuenta

que el porcentaje de actividad residual aceptable es del 10 % y observando el cuadro 19 de actividades residuales se encuentra que el punto óptimo está entre 70 °C y 80 °C, con actividades residuales de 30,66 % y 8,96 % respectivamente, por otra parte, el tiempo que provoca una actividad residual menor al 10 % es de 20 s; por lo cual se puede decir que el punto óptimo está en un rango de tiempos entre 10 s y 30 s, considerando estos parámetros se realizó el diseño de segundo orden de composición central para optimizar los factores de proceso.

4.3.4 Análisis estadístico actividad enzimática residual del diseño composición central con metodología de superficie de respuesta. El cuadro 21 muestra el promedio de la actividad enzimática y actividad residual obtenida en los diferentes tratamientos, los resultados fueron analizados con el programa estadístico STATGRAPHICS 3.1.

Cuadro 21. Actividad enzimática y residual en zumo de uchuva pasterizado.

Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Actividad Enzimática (Δ Abs/min)	Actividad Residual Media (%)	\pm Desviación estándar
Sin tratamiento	-	0,03403	100	-
68	20	0,00767	22,54	1,904
70	10	0,00816	23,97	1,000
70	30	0,00981	28,82	0,870
75	6	0,00614	18,03	1,103
75	20	0,00610	18,173	1,340
75	20	0,00591	17,37	1,540
75	20	0,00550	16,16	1,534
75	20	0,00534	15,70	2,835
75	20	0,00530	15,57	2,241
75	20	0,00522	15,35	2,583
75	20	0,00522	15,34	2,631
75	34	0,00618	18,17	1,038
80	10	0,00239	7,01	3,292
80	30	0,00084	2,48	0,069
82	20	0,00079	2,33	0,105

Fuente: esta investigación

4.3.5 Análisis de varianza para la actividad residual de PME. La tabla ANOVA (cuadro 22), en este caso, muestra que la temperatura, el cuadrado de la temperatura, la interacción temperatura tiempo y el cuadrado del tiempo tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que generan un efecto significativo sobre la actividad residual, causando que ésta disminuya con un nivel de confianza del 95,0 %.

Resultados similares fueron encontrados por Collet (2004) en zumo de naranja indicando que el tiempo y la temperatura producen una disminución en el porcentaje de actividad residual.

El estadístico R-Cuadrado indica que el modelo, así ajustado, explica 90,3727 % de la variabilidad en Actividad Residual. El estadístico de Durbin-Watson (DW) determina con un valor-P mayor que 5,0 %, que no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5,0 %.

Cuadro 22. Análisis de varianza para actividad residual diseño de composición central

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	1787,3	1	1787,3	513,29	0,0000
B:Tiempo	0,0975208	1	0,0975208	0,03	0,8680
AA	48,682	1	48,682	13,98	0,0006
AB	66,1291	1	66,1291	18,99	0,0001
BB	18,0357	1	18,0357	5,18	0,0289
Falta de ajuste	116,002	3	38,6672	11,10	0,0000
Error puro	125,353	36	3,48203		
Total (corr.)	2163,73	44			

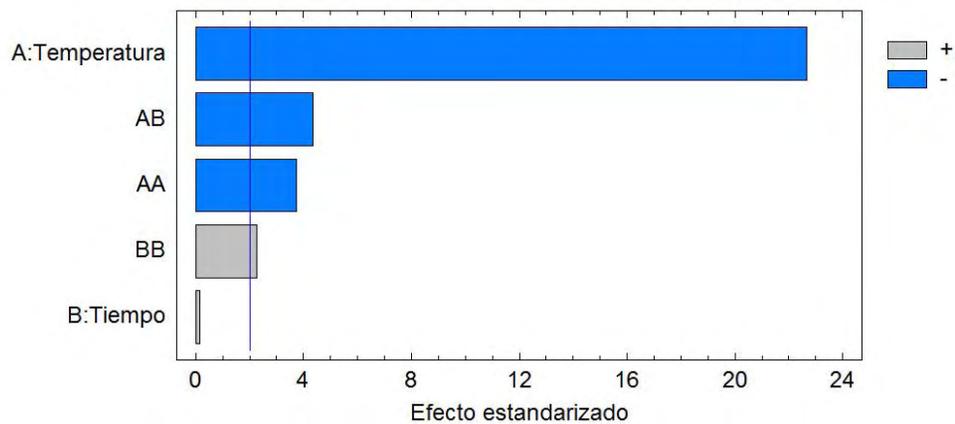
Fuente: esta investigación

R-cuadrada = 90,3727%
 Error estándar del est. = 1,86602
 Error absoluto medio = 1,99951
 Estadístico Durbin-Watson = 2,32594 (P=0,8603)
 Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,17119

El diagrama 2 muestra que el efecto de la temperatura (A), el cuadrado de la temperatura (AA), el cuadrado del tiempo (BB) y la interacción temperatura-tiempo (AB), ejercen un efecto significativo sobre la actividad enzimática, mientras el efecto que causa el tiempo (B) no es significativo sobre la actividad residual enzimática.

Además muestra que con un nivel de confianza del 95 %, la temperatura (A), el cuadrado de la temperatura (AA), la interacción temperatura-tiempo (AB) y el cuadrado del tiempo (BB) causan disminución sobre la actividad residual, es decir, que la reducen a medida que estos factores aumentan. También se observa que la temperatura es la que ejerce un mayor efecto de inactivación enzimática causando que la actividad residual reduzca notoriamente, el cuadrado de la temperatura y el cuadrado del tiempo indica que el diseño posee un punto óptimo de pasteurización.

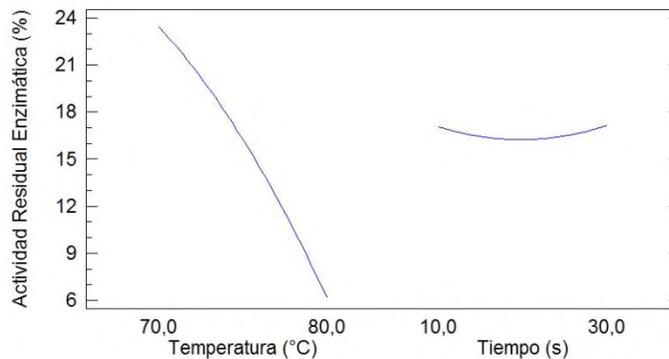
Diagrama 2. Diagrama de Pareto estandarizado para Actividad Residual PME del diseño de composición central



Fuente: esta investigación

La gráfica 4 indica que la disminución de la actividad residual es producida en mayor grado por el efecto de la temperatura, mostrando claramente que es inversamente proporcional a la actividad residual a medida que esta se incrementa. El tiempo tuvo un efecto ligeramente significativo sobre la actividad residual PME.

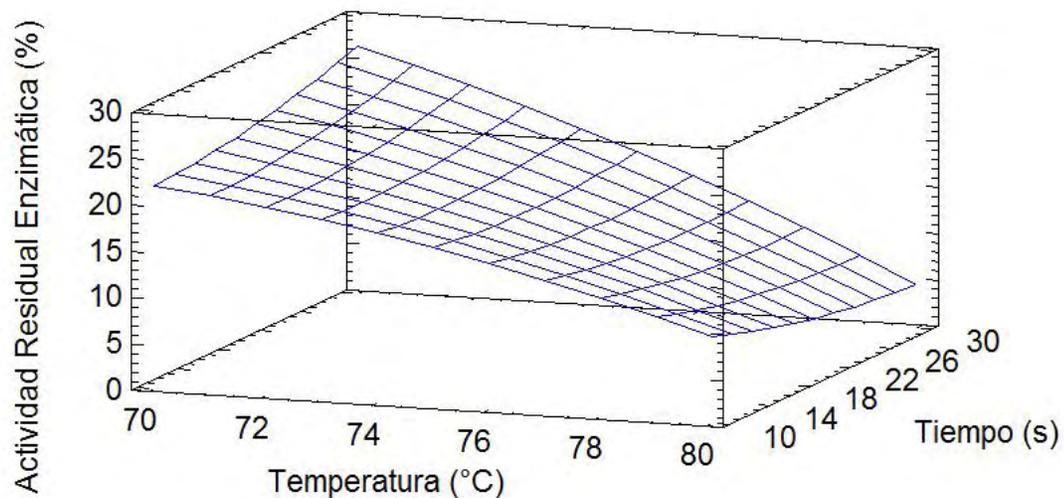
Gráfica 4. Efectos principales para actividad residual PME del diseño de composición central



Fuente: esta investigación

La gráfica 5 de superficie de respuesta, muestra el comportamiento de la actividad residual respecto a los dos factores evaluados (tiempo y temperatura), evidenciándose claramente que la temperatura causa un efecto mayor que el ocasionado por el tiempo sobre la actividad residual llevándola a niveles aproximados al 10 % a medida que estos dos parámetros aumentan.

Gráfica 5. Superficie de respuesta estimada para actividad residual PME



Fuente: esta investigación

4.3.6 Optimización de los factores del proceso

Cuadro 23. Valor óptimo de los factores de temperatura y tiempo

Meta: mantener Actividad Residual $\leq 10,0$ %

Valor óptimo = 10,0 %

Factor	Unidades	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	°C	68	82	80,3754
Tiempo	s	6	34	10,4435

Fuente: esta investigación

El cuadro 23 muestra que la mejor interacción entre tiempo y temperatura para inactivar PME en zumo de uchuva es de 80 °C x 10 s aproximadamente, con lo que se mantiene una actividad residual menor o igual al 10 % resultado que es similar a lo reportado por De Sio y otros (2001), donde la actividad residual enzimática que alcanzó fue alrededor del 10 % para a una temperatura 81°C por 10,2 s ó 0,17 min, así mismo Barroso y otros (2005), lograron resultados de % AR= 7,3 para jugo de naranja a una temperatura de 72 °C por 8.22 s.

Cuadro 24. Coeficiente de regresión para Actividad Residual Enzimática

Coeficiente	Estimado
Constante	-247,462
A:Temperatura	7,90962
B:Tiempo	3,17473
AA	-0,057977
AB	-0,04695
BB	0,0088223

Fuente: esta investigación

La ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos es:

$$\text{Actividad Residual} = -247,462 + 7,90962 \cdot \text{Temperatura} - 0,057977 \cdot \text{Temperatura}^2 - 0,04695 \cdot \text{Temperatura} \cdot \text{Tiempo} + 0,0088223 \cdot \text{Tiempo}^2$$

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales.

4.4 EVALUACIÓN DEL RECUENTO MICROBIOLÓGICO

Cuadro 25. Recuento microbiológico para el zumo fresco ó sin tratamiento y para tratamientos de 60 °C a 90 °C por 10 s - 30 s.

Parámetro	Valor admitido zumos pasteurizados Resolución 7992/91	Zumo de uchuva sin tratamiento	Zumo de uchuva 60 °C x 10 s.	Zumo de uchuva 60 °C x 30 s.	Zumo de uchuva 75 °C x 10 s.	Zumo de uchuva 75 °C x 30 s.	Zumo de uchuva 90 °Cx10 S.	Zumo de uchuva 90 °C x 30 s.
Recuento de Coliformes totales (totales/g)	9	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Recuento de Coliformes fecales (fecales /g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
Recuento de Aerobios mesófilos (UFC/g)	20.000	8.000	3000	700	900	800	500	500
Recuento de Hongos-Levaduras (UFC/g)	1000	21.500	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Recuento Esporas Clostridium sulfito reductora (UFC/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Fuente: Está Investigación

Para el Zumo de uchuva fresco (testigo) ó sin tratamiento se encontró que para el parámetro de hongos – levaduras se encuentran por fuera de los valores permitidos por la resolución No 7992/91 de INVIMA ya que estos microorganismos por lo general son contaminantes del ambiente en el que se trabaja, además en alimentos ácidos y en los de baja actividad de agua crecen con mayor rapidez que las bacterias, de ahí que los valores de recuento encontrados en el zumo estén fuera de los rangos permitidos (Nutbro, 2012).

No obstante, en el cuadro anterior (cuadro 25), se puede observar que para la resolución 7992/91 de INVIMA se registraron los datos reportados por los tratamientos de 60 °C, 75 °C y 90 °C con sus respectivos tiempos de 10 y 30 s, los cuales se encontraron aceptables ya que cumplieron los rangos admisibles por esta norma.

Por otra parte y tomando en cuenta el cuadro 12, en donde se menciona la NTC 5468 para zumos de frutas, se encontró que después de ser aplicados los anteriores tratamientos se obtuvo que el primero (60 °C x 10 s) no se encuentra dentro de los parámetros exigibles en la NTC, mientras que los tratamientos de 60 °C x 30 s, 75 °C x 10 s, 75 °C x 30 s, 90 °C x 10 s y de 90 °C x 30 s si cumplieron con dichos parámetros.

Por lo tanto, el análisis de la carga microbiana después de la pasteurización del zumo reportó una baja cantidad de microorganismos con valores que están dentro de los parámetros admisibles para un alimento inocuo (en cuanto a la resolución 7992/91 INVIMA y la Norma Técnica Colombiana NTC 5468), esto quiere decir que la técnica empleada en la pasteurización fue eficaz y cumplió con el objetivo previsto. Concluyendo que es viable aplicar temperaturas desde los 60 °C hasta los 90 °C, sin encontrar problemas de inocuidad, para tiempos desde los 10 s hasta los 30 s.

4.5 EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y FÍSICOQUÍMICAS DEL ZUMO DE UCHUVA

4.5.1 Resultados calificación de jueces entrenados. Para las pruebas realizadas a los posibles jueces tenemos los siguientes resultados:

Cuadro 26. Promedio de los resultados calificación de los posibles jueces

Código participante	Prueba de discriminación de acidez (%)	Reconocimiento de olores (%)	Prueba de discriminación de dulzor (%)	Prueba de discriminación de olor (%)	Discriminación de Color Naranja (%)	Puntaje total - promedio (%)
6224	75	50	80	100	100	81
8261	80	75	50	100	100	81
9421	50	100	85	60	100	79
2082	80	100	50	50	100	76
5770	80	100	60	50	100	78
0802	50	50	50	50	100	60
4027	80	50	85	75	100	78
3199	70	100	80	75	100	85
7686	70	100	85	50	100	81
3831	70	50	100	80	100	80
6386	50	100	60	100	100	82
8389	80	75	50	75	100	76
6553	85	75	50	70	100	76
0813	85	75	100	100	100	92
6458	70	50	85	50	100	71
1430	85	75	100	100	100	92

Fuente: Esta investigación.

Cuadro 27. Parámetros de calificación del equipo de evaluación sensorial

NIVEL	CALIFICACIÓN	PUNTAJE	CONCEPTO
4	Nivel muy bajo	0 %-30 %	No califica para ser parte del panel.
3	Nivel bajo	30 %-54 %	No califica para ser parte del panel.
2	Nivel medio	55 %-74 %	Califica para ser parte del panel, pero necesita refuerzo.
1	Nivel alto	75 %-100 %	Califica para ser parte del panel.

Fuente: (Chamorro y otros, 2011)

Para la calificación de los jueces entrenados se toma en cuenta por encima de 75 % correspondiente a un nivel alto.

4.5.2 Análisis pruebas sensoriales discriminativas para tratamientos aplicados al zumo de uchuva mediante panel entrenado.

Cuadro 28. Tablas ANOVA Análisis estadístico pruebas de ordenamiento sensoriales

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Prueba de acidez					
Entre grupos	6,05	3	2,01667	1,64	0,1908
Intra grupos	68,9333	56	1,23095		
Total (Corr.)	74,9833	59			
Prueba de color					
Entre grupos	0,733333	3	0,244444	0,18	0,9066
Intra grupos	74,2667	56	1,32619		
Total (Corr.)	75,0	59			
Prueba de olor					
Entre grupos	2,33333	3	0,777778	0,60	0,6181
Intra grupos	72,6667	56	1,29762		
Total (Corr.)	75,0	59			
Prueba de sabor					
Entre grupos	5,91667	3	1,97222	1,60	0,1991
Intra grupos	68,9333	56	1,23095		
Total (Corr.)	74,85	59			

Fuente: Esta investigación.

Las tablas ANOVA muestran que el valor-P de la razón-F es mayor a 0,05, indicando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias del zumo sin tratamiento y los tres zumos con tratamiento, con un nivel del 95,0% de confianza, según el análisis para los cuatro parámetros (acidez, color, olor y sabor); en los cuatro tratamientos aplicados al zumo de uchuva no se presentaron diferencias significativas para las variables sensoriales, por lo tanto, se puede decir que para el panel de catación no existieron diferencias que hicieran a un tratamiento superior en calidad sensorial a otro, esto se traduce en que organolépticamente cualquier tratamiento puede reemplazar al zumo natural de uchuva.

Similares resultados obtuvieron Sentandreu y otros (2005), en zumos de mandarina y naranja pasteurizados a 50, 70, 85 y 95 °C por 10 s, así mismo Osorio (2008) también encontró que no se evidencian cambios en la calidad sensorial de un puré tratado térmicamente versus un puré natural o fresco.

4.5.2.1 Resultados para la prueba triangular para zumo de uchuva . De la prueba realizada (ver anexo de evaluación de acidez), se obtuvo que de 14 jueces, 8 preferían la muestra 9914 (correspondiente al zumo sin tratamiento), 4 jueces preferían la muestra 6934 (correspondiente al zumo pasteurizado a 80 °C x 10 s) y 2 jueces preferían la muestra 3662 (correspondiente al zumo pasteurizado a 80 °C x 10 s) con estos datos obtenidos se comparó los resultados mediante las tablas del apéndice 5 del libro de Anzaldúa-Morales (1994), y se encontró que no había diferencias significativas. Se analizó el grado aparente de diferencia tomando como referencia únicamente los 8 jueces que preferían la muestra 9914 y se encontró que el grado, está entre moderado y ligeramente moderado con respecto a la preferencia. Por lo tanto los zumos pasteurizados frente a un zumo fresco no se diferencian según la apreciación de los jueces.

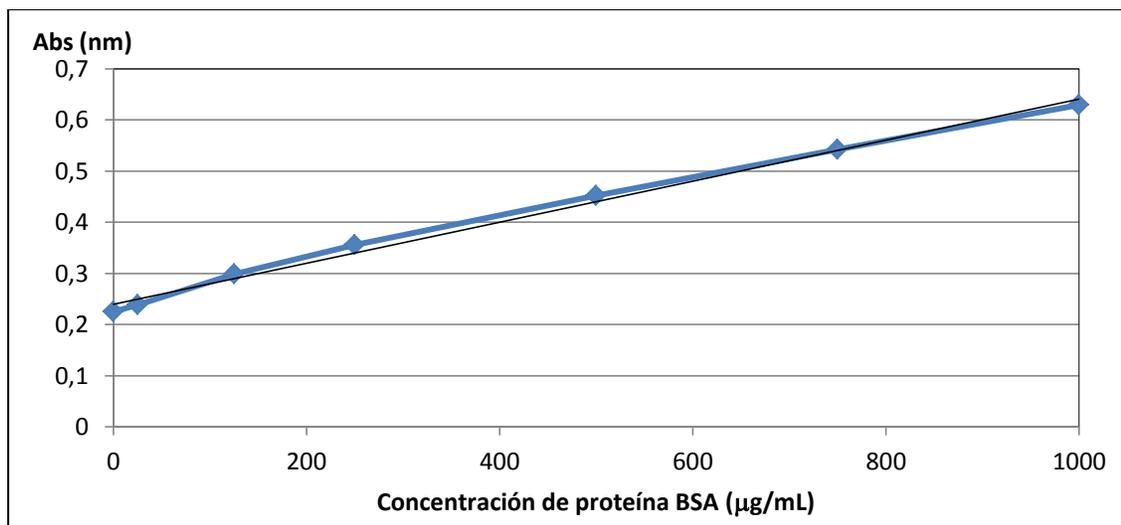
4.5.2.2 Resultados para la prueba de preferencia entre zumo pasteurizado y sin pasteurizar. De la prueba realizada (ver anexo prueba de preferencia de zumo de uchuva) se obtuvo que de 14 jueces, 7 preferían la muestra 2867 (correspondiente al zumo sin tratamiento), mientras que los 7 restantes preferían la muestra tipificada como 4680 (correspondiente al zumo pasteurizado a 80 °C x 10 s) con estos resultados se comparó con la tabla del libro de Anzaldúa-Morales (1994) apéndice 2, en el cual, se requiere que 11 de 14 jueces acierten para obtener diferencias significativas, por lo tanto no hay diferencias significativas al 5 %, 1 % y 0,1 % de significancia. De esta forma la aceptación entre un zumo natural y un zumo pasteurizado es igual, ya que los jurados evaluadores no detectaron diferencias significativas.

4.6 DETERMINACIÓN DE PROTEINA

Para la determinación estadística se trabajó con una curva de calibración de 0 a 1000 µg/ml; que es el rango en el cuál están las absorbancias obtenidas con los extractos enzimáticos de PME en la uchuva.

4.6.1 Determinación de la cantidad de proteína en los tratamientos del diseño de Composición Central:

Gráfico 6. Curva de calibración con proteína BSA de 0 a 1000 µg/ml de concentración



Fuente: esta investigación

Ecuación de la curva obtenida: $Abs = 0,0004x + 0,2397$ (Ecuación 6) Coeficiente de correlación = 0,9932

Cuadro 29. Concentración de proteína después de aplicados los tratamientos

Tratamientos	Abs Promedio (nm)	± DE	Proteína $x = \frac{Abs - 0,2397}{0,0004}$ (µg/ml)	Proteína $\% = \frac{Pt}{P0} \times 100$
68 °C x 20 s	0,485	0,0026	613,25	96,84
70 °C x 10 s	0,482	0,0025	605,75	95,66
70 °C x 30 s	0,478	0,0021	595,75	94,08
75 °C x 20 s	0,451	0,0034	528,25	83,42
75 °C x 20 s	0,452	0,0027	530,75	83,81
75 °C x 20 s	0,451	0,0325	528,25	83,42
75 °C x 20 s	0,450	0,0016	525,75	83,02
75 °C x 20 s	0,452	0,0051	530,75	83,81
75 °C x 20 s	0,454	0,0066	535,75	84,60
75 °C x 20 s	0,449	0,0045	523,25	82,63
75 °C x 34 s	0,445	0,0085	513,25	81,05
75 °C x 6 s	0,471	0,0063	578,25	91,31

Tratamientos	Abs Promedio (nm)	± DE	Proteína Abs - 0,2397 $x = \frac{\quad}{0,0004}$ (µg/ml)	Proteína $\% = \frac{Pt}{Po} \times 100$
80 °C x 10 s	0,476	0,0019	590,75	93,29
80 °C x 30 s	0,427	0,0027	468,25	73,94
82 °C x 20 s	0,431	0,0071	478,25	75,52
zummo fresco	0,493	0,0058	633,25	100

Fuente: esta investigación

4.6.2 Análisis estadístico para concentración de proteína:

Cuadro 30. Tabla ANOVA Análisis de varianza para concentración de proteína

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	200507	15	13367,1	2,47	0,0156
Intra grupos	173294	32	5415,44		
Total (Corr.)	373801	47			

Fuente: esta investigación

Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 16 variables con un nivel del 95,0 % de confianza.

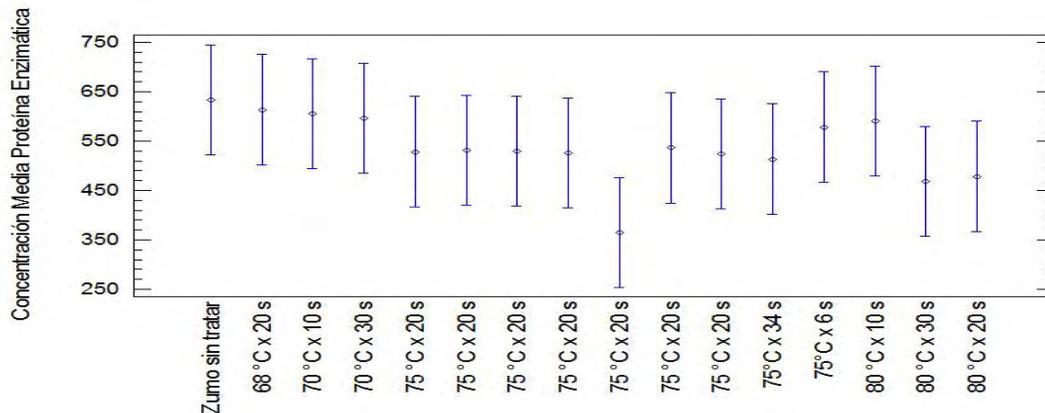
Cuadro 31. Pruebas de Rangos Múltiple para concentración de proteína por tratamientos aplicados (Tukey HSD).

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
80 °C x 30 s	3	364,667	A
80 °C x 10 s	3	468,667	A B
80 °C x 20 s	3	478,667	A B
75°C x 34 s	3	513,667	A B
75 °C x 20 s	3	524,667	A B
75 °C x 20 s	3	525,333	A B
75 °C x 20 s	3	528,667	A B
75 °C x 20 s	3	529,333	A B
75 °C x 20 s	3	531,0	A B
75 °C x 20 s	3	536,333	A B
75°C x 6 s	3	578,667	A B
75 °C x 20 s	3	591,0	B
70 °C x 30 s	3	596,0	B
70 °C x 10 s	3	606,0	B
68 °C x 20 s	3	613,667	B
Zumo sin tratar	3	633,667	B

Fuente: Esta investigación.

La determinación de la concentración de proteína enzimática por el método de Bradford se hizo con el fin de corroborar si hay relación, con la reducción de la actividad enzimática, es decir, que si la reducción de la actividad enzimática está relacionada con la reducción de la concentración de proteína enzimática a medida que se incrementa la temperatura y el tiempo en el tratamiento térmico aplicado. Teniendo en cuenta los resultados reportados en el cuadro 29 y gráfico 7 se obtuvo que la cantidad de proteína para todos los tratamientos no necesariamente se reduce al incrementar la temperatura y tiempo por lo cual se deduce que no está relacionada directamente con los resultados obtenidos en la disminución de la actividad residual enzimática.

Gráfico 7. Caja y bigotes para cuantificación de proteína



Fuente: esta investigación

En el cuadro 31, mediante el método (HSD) de Tukey se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las letras (A y B) en columnas, encontrando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos grupos que comparten una misma columna de letra, sin embargo hay una diferencia significativa entre los dos grupos, dicha diferencia corresponde entre los tratamientos de: 80 °C x 30 s y el tratamiento de 75 °C x 20 s, el tratamiento de 80 °C x 30 s y el tratamiento de 70 °C x 30 s, el tratamiento de 80 °C x 30 s y el tratamiento de 70 °C x 10 s, el tratamiento de 80 °C x 30 s y el tratamiento de 68 °C x 20 s, sin embargo, cabe resaltar que este método de cuantificación de proteína no es específico para PME puesto que también se lo utiliza para enzimas como son las PPO (polifenoloxidas), POD (peroxidasa) y PG (poligacturonasa) (Owuso, 2002; Hirsch y otros, 2008), indicando que los resultados encontrados en cuanto a concentración de proteína enzimática incluye estos cuatro tipos de enzimas y todas aquellas enzimas presentes en este zumo.

Resultados similares reportó Owuso (2002) en el jugo de kiwi.

4.7 EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

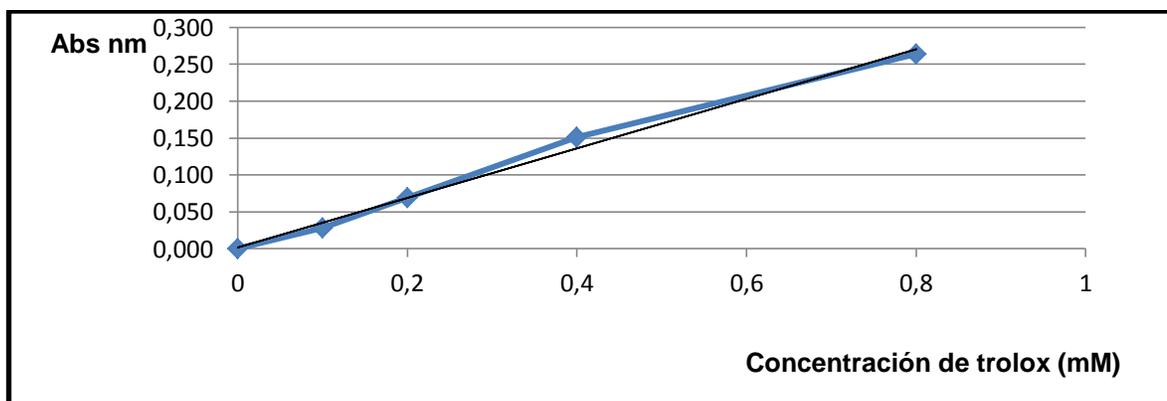
Cuadro 32. Obtención de la curva de calibración con patrones de trolox.

Concentración Trólox (mM)	Abs 1	Abs 2	Abs3	Abs Promedio (X)	± Desviación Estándar	Abs corregida (Abs _{Blanco} - Abs _x)
0,8	0,617	0,616	0,621	0,618	0,0026	0,264
0,4	0,736	0,729	0,734	0,733	0,0036	0,151
0,2	0,822	0,811	0,816	0,816	0,0055	0,069
0,1	0,848	0,852	0,857	0,852	0,0045	0,028
(Blanco) 0	0,891	0,880	0,885	0,885	0,0055	0,000

Fuente: esta investigación

Debido a que con las concentraciones iniciales de trolox no se consiguió la reacción deseada, es decir, que éstas cambien de color, sino por el contrario decoloraron por completo al ABTS^{•+} se hizo necesario diluir las concentraciones en relación 1:10 quedando desde 0 hasta 0,8 mM, sin embargo, dicha disolución no se aplicó a las muestras analizadas ya que las muestras presentaban coloración al reaccionar con el radical libre ABTS^{•+}.

Gráfico 8. Curva de calibración con patrones de trolox



Fuente: esta investigación

La ecuación de regresión lineal obtenida para el cálculo de la concentración de mM equivalentes trolox/g de muestra es:

$$\text{Abs} = 0,3365x + 0,0014 \quad (\text{Ecuación 7})$$

$$R^2 = 0,993$$

Cuadro 33. Absorbancias de las muestras de uchuva

Muestras de zumo de uchuva	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Promedio Abs x	± DE	Abs corregida (Abs _{Blanco} – Abs _x)
80 °C x 10 s	0,588	0,580	0,585	0,584	0,0040	0,300
Sin tratamiento	0,574	0,536	0,541	0,550	0,0206	0,344
(Blanco) 0	0,891	0,880	0,885	0,885	0,0055	0,000

Fuente: Esta investigación.

4.7.1 Capacidad antioxidante de la uchuva en equivalentes trolox TEAC. De la ecuación 4 de regresión lineal sacada de la curva de calibración de trolox se despejó x (concentración de trolox) y se obtiene:

$$x = \frac{\text{Abs} - 0,0014}{0,3365} \quad (\text{Ecuación 8})$$

$$x_{80^\circ\text{C} \times 10\text{s}} = \frac{0,300 - 0,0014}{0,3365} = 0,887 \text{ mM de equivalentes trolox}$$

$$x_{\text{sin tratamiento}} = \frac{0,344 - 0,0014}{0,3365} = 1,018 \text{ mM de equivalentes trolox}$$

Se llevó a cabo una comparación de la pulpa de uchuva, con la de otras variedades conocidas y consumidas normalmente en la dieta alimenticia. Para este fin, se toma como referencia los estudios realizados por Encina y otros (2007), Cerón y otros (2011) debido a que las metodologías y las condiciones desarrolladas por estos autores son similares a las presentadas en esta investigación. El cuadro 35 presenta los resultados de la capacidad antioxidante encontrada por el método ABTS (TEAC) de la pulpa y cascara de uchuva y de las distintas variedades analizadas por los autores mencionados.

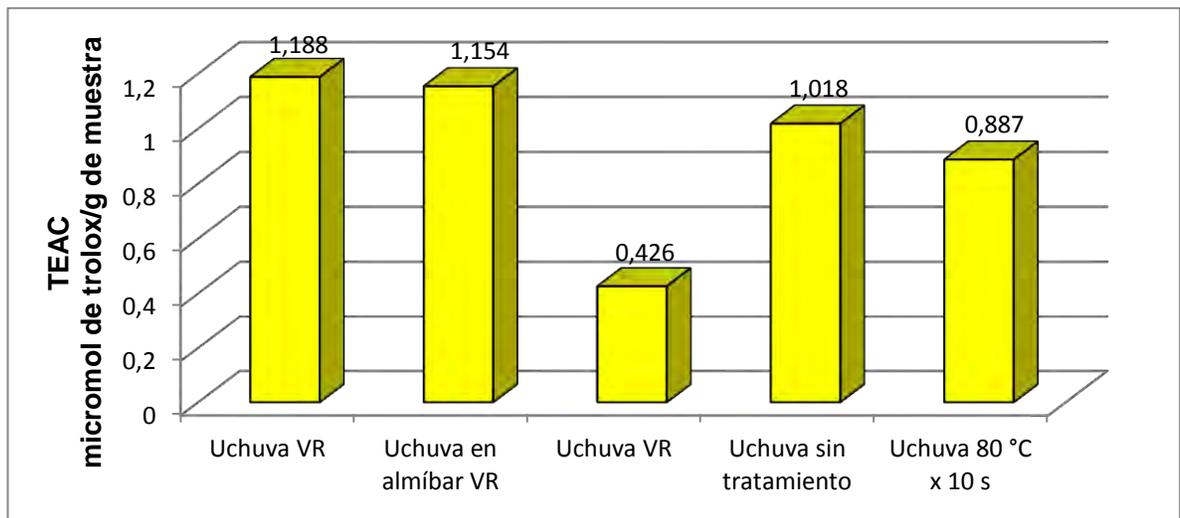
Cuadro 34. Valores TEAC de la uchuva

Fruta	TEAC	± DE	Autores
Uchuva fresco	1,188	0,1	(Encina y otros, 2007)
Uchuva en almíbar	1,154	0,3	
Uchuva fresco	0,426	0,01	(Cerón y otros, 2011)
Uchuva sin tratamiento	1,018	0,3	Esta investigación
Uchuva 80 °C x 10 s	0,887	0,3	Esta investigación

Fuente: esta investigación

Al comparar el TEAC presente en la pulpa y cáscara de la uchuva con valores reportados por Encina y otros (2007), Cerón y otros (2011), presentados en cuadro (gráfico 10), se aprecia que esta fruta, tiene un contenido TEAC por debajo de los resultados reportados por Encina y otros (2007), sin embargo, los valores TEAC encontrados en esta investigación son superiores al valor TEAC reportado por Cerón y otros (2011), por lo tanto, se puede afirmar que este fruto a pesar de ser procesado mantiene un buen contenido de actividad antioxidante, lo cual convierte este producto en una gran alternativa para incluirlo en la dieta alimenticia, teniendo en cuenta los beneficios que muchos compuestos con capacidad antioxidante y carotenoides están presentes en la uchuva (Encina y otros, 2007).

Gráfico 9. Comparación de la actividad antioxidante en diferentes productos de uchuva



Fuente: (Encina y otros, 2007; Cerón y otros, 2011; esta investigación)

4.7.2 Análisis de los parámetros fisicoquímicos y composición del zumo de uchuva. Se realizó mediante un análisis de bromatología en laboratorios especializados, y se encontró los siguientes resultados:

Cuadro 35. Evaluación fisicoquímica del zumo testigo y la muestra 80 °C x 10 s y comparación con valores reportados

Parámetro	Unidad de medida	Zumo uchuva sin tratamiento	Zumo de Uchuva Pasterizado 80 °C x 10 s	Valores Teóricos Uchuva	± DE	Coefficiente de Variación (%)
Humedad	g/100g	85,7	85,8	86,1	0,208	0,24
Sólidos Totales	g/100g	14,3	14,2	13,7	0,321	2,29
Ceniza	g/100g	0,88	0,89	0,7	0,107	12,99
Proteína	g/100g	0,51	0,48	1,5	0,580	69,93
Carbo-Hidratos Totales	g/100g	10,8	10,1	11	0,473	4,44
Calcio	mg/100g	11,6	10,2	9	1,301	12,67
Fósforo	mg/100g	32	33,3	21	6,757	23,49
Hierro	mg/100g	0,2	0,3	1,7	0,839	114,36
Acidez (ácido cítrico)	g/100g	5,65	5,66	4,03	0,938	18,35
Vitamina C	mg/100g	13	12,9	25,1	7,015	41,26
Fibra cruda	g/100g	0,35	0,3	0,4	0,050	14,29
°Brix		14,2	13,9	11,70	2.6	19,64

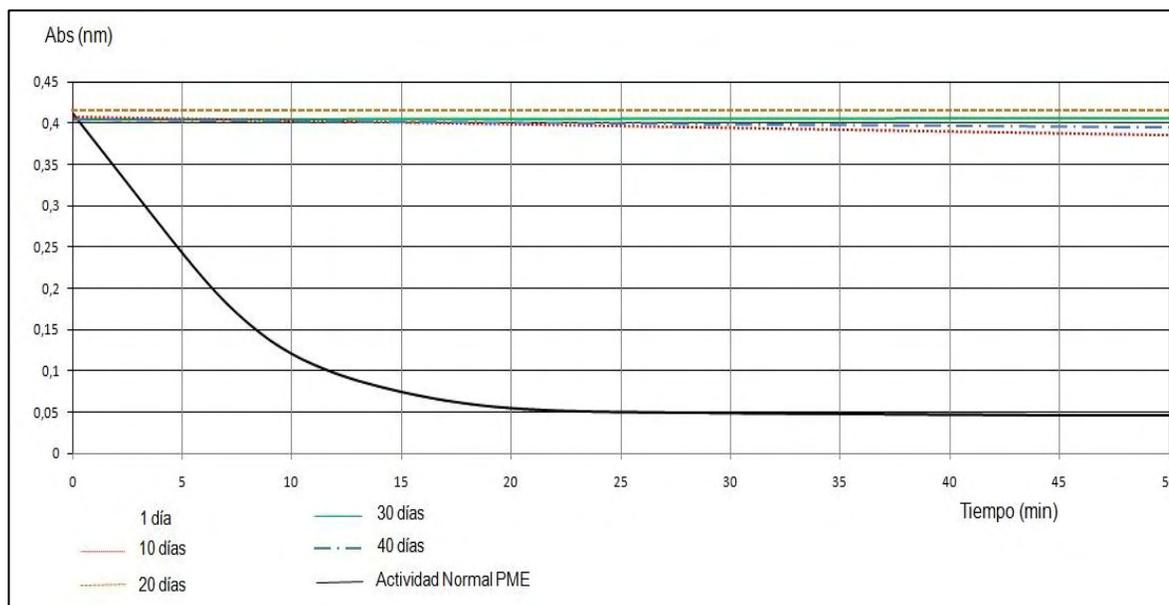
Fuente: Laboratorios especializados de la Universidad de Nariño, 2012 – esta investigación (Mahecha Godoy, 2011; Duque y otros, 2011; Novoa y otros, 2006; Castañeda y Paredes, 2003)

Al evaluar las anteriores propiedades para el zumo de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en la variedad Perú y de acuerdo a lo reportado por Mahecha Godoy (2011) Duque (2011), Novoa (2006), Castañeda y Paredes (2003) en uchuva ecotipo Colombia, se encontraron diferencias para los parámetros de proteína, hierro y vitamina C con coeficientes de variación altos de 69,93 %, 114,36 % y 41,26 % respectivamente, lo cual indica que estos datos variaron notablemente, no obstante, se registraron similitudes para el resto de parámetros en cuanto a humedad, sólidos totales, ceniza, carbohidratos totales, calcio, fósforo, hierro, acidez, fibra cruda y grados brix, alcanzando coeficientes de varianza relativamente bajos. Sin embargo, al evaluar el zumo fresco frente al zumo de tratamiento en variedad Perú reportó valores similares en cada parámetro evaluado.

4.8 SEGUIMIENTO DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

El seguimiento de reactivación de la enzima PME se realizó al tratamiento óptimo encontrado, 80 °C X 10 s, almacenado en refrigeración a 4 °C en bolsas plásticas, durante su actividad enzimática inicial y a los 1, 10, 20, 30, y 40 días .

Gráfica 10. Seguimiento de Reactivación de Actividad Residual Enzimática



Fuente: esta investigación

Cuadro 36. Seguimiento actividad enzimática y residual

Muestra	Coef. Correlación	Pendiente (dA/min)	Actividad enzimática (Δ Abs/min)	Actividad residual (%)
Patrón	0,992	-0,03403	0,03403	100
1 días	0,984	-0,003	0,0029	7,04
10 días	0,991	-0,003	0,003	7,04
20 días	0,985	-0,003	0,003	7,04
30 días	0,986	-0,003	0,003	7,04
40 días	0,987	-0,003	0,003	7,04

Fuente: Esta investigación.

4.8.1 Análisis estadístico para el Seguimiento de la enzima PME:

Cuadro 37. Análisis de varianza y Prueba HSD de Tukey para el seguimiento de Reactivación de la actividad enzimática residual.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	21604,5	5	4320,9	19942637,64	0,0000
Intra grupos	0,0026	12	0,000216667		
Total (Corr.)	21604,5	17			

Fuente: esta investigación

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de la actividad residual evaluada durante 40 días contrastada con el promedio de la actividad enzimática normal con un nivel del 95,0 % de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se realizó la Pruebas de Rangos Múltiples de Tukey.

Cuadro 38. Pruebas de Rangos Múltiple (Tukey HSD)

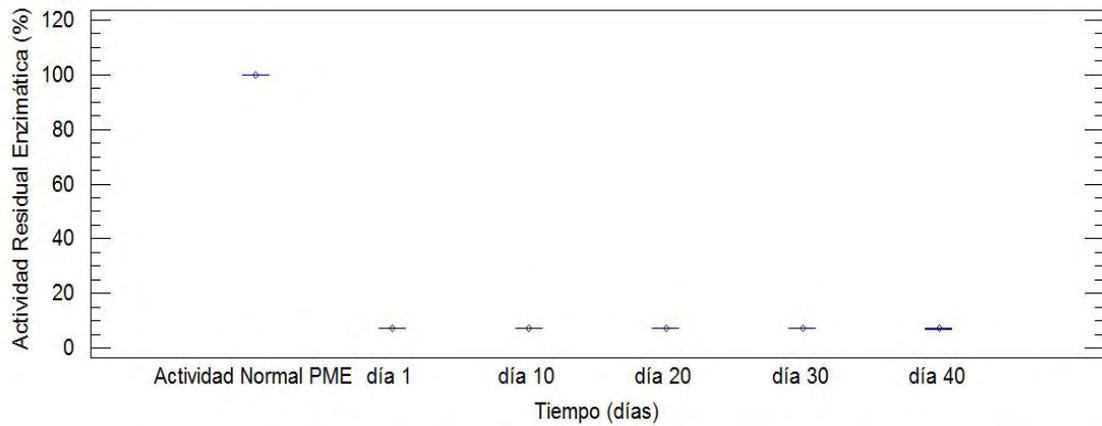
Seguimiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
día 40	3	7,03	A
día 1	3	7,037	A
día 10	3	7,04	A
día 30	3	7,043	A
día 20	3	7,043	A
Actividad Normal PME	3	100	B

Fuente: esta investigación

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

El análisis de varianza muestra una homogeneidad de la actividad residual con respecto al tiempo de almacenamiento que comprende tiempos de seguimiento a 1, 20, 30 y 40 días con porcentaje de residualidad enzimática sin variaciones, mostrando claramente que durante el tiempo de evaluación de la enzima PME, esta no se reactiva bajo las condiciones de almacenamiento (refrigeración $< 4^{\circ}\text{C}$) resultado que es similar al reportado por Maca (2012) en el cuál la enzima PME no mostró reactivación durante el tiempo de evaluación (42 días de seguimiento).

Gráfica 11. Medias para reactivación de PME



Fuente: Esta investigación.

La gráfica anterior muestra las medias de cada tiempo evaluado con su respectiva desviación estándar donde se observa que los tiempos entre 1, 10, 20, 30 Y 40 días son significativamente semejantes, mientras que este grupo indica una diferencia altamente significativa con la muestra patrón.

5. CONCLUSIONES

Al optimizar la pasteurización del zumo de uchuva (80 °C por 10 s) se redujo a niveles aceptables tanto el efecto de la pectinmetilesterasa (PME) (7,01 % de AR) como la carga microbiana, garantizando por completo un producto apto para el consumo humano. sin que haya un efecto significativo sobre sus características sensoriales en cuanto a la acidez, color, olor, sabor, obteniéndose un producto de mejor calidad.

El recuento microbiológico en zumo pasteurizado reportó una baja cantidad de microorganismos con valores que están dentro de los parámetros admisibles para un alimento inocuo (Resolución 7992/91 INVIMA), indicando que si se trabaja bajo estrictas normas de inocuidad es viable aplicar temperaturas desde los 60 °C hasta los 90 °C, por tiempos de exposición desde los 10 s hasta los 30 s, sin encontrar problemas de inocuidad.

Los análisis sensoriales emitidos por el panel de jueces entrenados establecieron que no hay diferencia entre un zumo fresco y un zumo pasteurizado a 80 °C x 10 s, para parámetros como la acidez, olor, color y sabor, indicando que es viable aplicar esta temperatura alta por un tiempo de exposición corto.

Evaluando la concentración de proteína enzimática por el método de Bradford se encontró que la cantidad de proteína presente en cada tratamiento aplicado no necesariamente disminuye a medida que la temperatura y tiempo aumentan, indicando que la cuantificación de proteína no está directamente relacionada con la reducción de actividad enzimática residual. Por otra parte el método de Bradford no es específico para un solo tipo de enzima, puesto que también cuantifica otras enzimas presentes en el extracto enzimático.

El análisis fisicoquímico realizado al zumo fresco y al zumo pasteurizado a 80 °C x 10 s, mostro que todos parámetros evaluados se conservan después de aplicado el tratamiento térmico; por otra parte la actividad antioxidante del zumo pasteurizado mostro ser menor a la actividad antioxidante del zumo sin tratamiento, pero comparado con otros productos elaborados a partir de uchuva mostro tener una buena capacidad antioxidante tanto en zumo pasteurizado como en zumo sin pasteurizar.

Evaluando el seguimiento de la actividad residual enzimática se encontró que la enzima no se reactivó durante los 40 días de seguimiento, tiempo en el cual el zumo a 80 °C x 10 s permaneció almacenado en refrigeración a 4 °C

RECOMENDACIONES

Debido al gran potencial que tiene la uchuva (*Physalis peruviana L.*) es necesario seguir realizando estudios que permitan avanzar en el propósito de ofrecer al consumidor un producto de mayor calidad y aceptación hacia el mercado.

Completar la investigación para otros factores nutricionales como es la vitamina A, Tiamina, Riboflavina, Niacina y calorías.

Evaluar a que compuestos se le atribuye la actividad antioxidante del zumo de uchuva y como estos se afectan al aplicar un tratamiento térmico.

BIBLIOGRAFÍA

Agenda de Investigación de Cadenas Productivas Ministerio de Agricultura y desarrollo Rural [En línea]. - Noviembre de 2009. - http://www.minagricultura.gov.co/archivos/boletin-_agenda_004.pdf.

ANDINO RUGAMA, Flavia y CASTILLO, Yorling. Un enfoque practico para la inocuidad alimentaria. - Estelí : [s.n.], 2010.

ANZALDÚA MORALES, Antonio La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. - España : Acribia, 1994.

AÑÓN, Jesús M. Zumos pasteurizados que parecen recién exprimidos // publicación electrónica de la Oficina de Transferencia de Tecnología. - 2008.

AÑON, Maria Procedimiento para la obtención de zumos cítricos pasteurizados refrigerados con calidad sensorial similar a la de zumos recién exprimidos.. - Madrid : (CSIC) ARCH COUNCIL, 2010.

ARGÁIZ A. Thermal inactivation kinetics of pectinesterase in acidified papaya nectar and purées // Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos. - 1994. - Vol. 34(3). - págs. 301-309.

ASKAR H.T y Omran A Heat-inactivation of mango pectinesterase and polygalacturonase. - 1995.

ÁVILA, Giovanna Teresa y FONSECA, Maria Mercedes. Calidad microbiologica de los jugos preparados en hogares de Bienestar Familiar en la zona norte de Cundinamarca. - Bogotá, D.C. : [s.n.], 2008.

AWAD M. y YOUNG R. E. Avocado Pectinmethylesterase Activity in Relation to Temperature, Ethylene, and Ripening // J Amer. Soc. Hort. Sci. 105(5). - 1980. - págs. 638-641.

BALOGH, Teréz., Smout, Chantal., Nguyen, Binh Ly., Van Loey, Ann., y Hendrick, Marc E. Thermal and high-pressure inactivation kinetics of carrot pectinmethylesterase: From model system to real foods. Innovative Food Science and Emerging Technologies. - 2004. Vol. 5, núm.4, págs. 429– 436.

BAQUERO, Lucía Estrella, Castro Jhon Alexander y Narvaéz Carlos Eduardo Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): Maduración y Senescencia // Acta biologica Colombiana. - 2005. - 2 : Vol. 10. - págs. 120-548.

BARROSO ESPACHS, Alexandre, Van Loey Ann, Hendrickx Marc, Martí N-Belloso Olga. Inactivation of plant pectin methylesterase by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. - España : [s.n.], 2005.

BASAK y RAMASWAMY Effect Of High Pressure Processing On The Texture Of Selected Fruits And Vegetables. - 1996.

BELLU, Ender. Extraction and characterisation of pectin methylesterase // Food Chemistry 116 . - 2009. - págs. 836–840.

BENDER, Myron L y Brubacher Lewis J Catalisis Y Accion Enzimatica [Informe]. - Barcelona : Reverte S.A, 1997.

BONILLA, Marth Liliana., Espinosa, Katherine., Posso, Andrés., Vásquez, Herney., Muñoz, Jaime. Establecimiento de una colección de trabajo de uchuva del suroccidente colombiano. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 2008. Volumen 57. núm 2. págs. 95-99.

BORQUES, Nelson. La producción de pulpa de fruta y el extracto tomate. - Brasilia : [s.n.], 2000.

BOWERS, J. Food theory and applications. [Informe]. - Nueva York, EEUU. : Macmillan Pub. Int., 1992.

BRADFORD, M. M. Un método rápido y sensible para la cuantificación de las cantidades del microgramo de proteína que utilizan el principio de Proteína-Teñe el atascamiento // Anal. Bioquímica. 72. - 1976. - págs. 248-254.

BRITZ TREVOR. J y Robinson Richard. K Advanced Dairy Science and Technology. - Austria : Blackwell, 2008.

BROMOVSKY y HORIANSKI Catedra química y bioquímica de los alimentos. Propiedades funcionales de las proteínas. - Trabajo práctico : [s.n.], 2012.

BURGESS y DEUTSCHER Methods in enzymology. - London : Elsevier, 2009. - Vol. 463.

CAMACHO OLARTE, Guillermo Manual virtual en procesamiento y conservación de frutas. - Bogotá : Universidad Nacional Virtual, 2012. - Vol. <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2006228/teoria/obpulpfru/p2.htm>.

CANET W “Temperatura de conservación y calidad de vegetales congelados”. // Alimentación, Equipos y Tecnología. - marzo-abril de 2003. - págs. 145-155.

CANO DOLADO Maria Pilar, Hernandez Cimiano Almudena y De Arcos Sigueiro Begoña Procedimiento para la obtencion de zumo de citricos estabilizados mediante alta presión. - Madrid : [s.n.], 2001. - págs. 2-6.

CARBONELL, José V, Contreras, Patricia, Carbonell, Leire, Navarro, José Luis. Pectin methylesterase activity in juices from mandarins, oranges and hybrids. - Valencia : Eur Food Res Technol, 2005. - 5 : Vol. 1.

CARDARELLI M Botondi, Vizovitis K y Mencarelli F Effects of Exogenous Propylene on Softenig, Glycosidase, and Pectinmethylesterase Activity during Postharvest Ripening of Apricots // J. Agricul. Chem. - [s.l.] : Jounal, 2002. - 1 : Vol. 50. - págs. 1441-1446.

CASTAÑEDA G. y Paredes R. Estudio del proceso respiratorio,principales ácidos orgánicos, azúcares y algunos cambios fisicoquímicos en el desarrollo de la uchuva (Physalis peruviana L). - Bogotá : Trabajo de grado, 2003. - Universidad Nacional de colombia . Facultad de Agronomía.

CEBALLOS Ramón y Velásquez Luis David Comparación de la temperatura-tiempo de retención de pasteurización y su efecto en la concentración de vitamina "c" en el zumo de naranja. - Escuela Superior politécncna Agropecuaria de Manabí. Calceta : [s.n.], 2007.

CEDEÑO Mercedes y Montenegro Margarita Plan Exportador, Logistico y de Comercializacion de Uchuva al Mercado de Estados Unidos para Frutexpo S.C.I LTDA. - Bototá : [s.n.], 2004.

CERON Ivvone, Higuita Juan C y Cardona Carlos Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina // Vector. - Manizales : [s.n.], 2011. - 7891 : Vol. 5. - págs. 7-16.

CERUTTI de Guglielmone G.I. Determinación de contenidos microbianos y cuantificación de dextranos en la Industria Azucarera Tucumana. // Revista Industrial y Agrícola de Tucumán. V77 #2. - 2000. - págs. 19 -27.

CHAMORRO Jairo y Villarreal Yesenia Estudio de factibilidad para el montaje de una empresa procesadora y comercializadora de zumos naturales en la ciudad de San Juan de Pasto. - Pasto : [s.n.], 2011.

COLLET, L.S.F.C.A; Shigeoka, D.S; Badolato, G.G; Tadini, C.C. A kinetic study on pectinesterase inactivation during continuos pasteurization of orange juice. - Sao Paulo : [s.n.], 2004.

CONTRERAS Monzón, Carolina // Influencia del método de secado en parámetros de calidad relacionados con la estructura y el color de manzana y fresa deshidratadas. - Valencia : [s.n.], 2006.

CORPOICA Manejo del cultivo de la uchuva en Colombia [Informe] : Boletín Técnico / Antioquia . - Rionegro : [s.n.], 2002.

CORPORACION COLOMBIA INTERNACIONAL Inteligencia de Mercados; 13 [Informe]. - [s.l.] : ISSN 0124-1338.

CORPORACIÓN COLOMBIA INTERNACIONAL, Universidad de los Andes y Departamento de Planeación Nacional. Análisis internacional del sector hortofrutícola para Colombia. ed. Corporación Colombia Internacional Universidad de los Andes y departamento de Planeación Nacional.. - 1994. - pág. 165.

CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA - Corpoica Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural [En línea]. - Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de la uchuva en fresco para exportación en Colombia, 2009. - 16 de Mayo de 2012. - http://www.minagricultura.gov.co/archivos/agenda_cadena_uchuva.pdf.

CORREA Randolpho da Silva y Fonseca José de Assis factores que influyen en la calidad del jugo de Naranja // Ciencia y Tecnología de Alimentos. - 1999.

CORTÉS, Carlos., GIL, Patricio., León, Tomas., Borrero, Mónica., GIL, Juan David., Durán, Claudia., Moreno, Luisa Fernanda., Barrera, Oscar., Esca Milla, Juan Pablo. Alianza productiva para la producción y comercialización de uchuva para el municipio de Ventaquemada. Universidad Nacional de Colombia. Ventaquemada-Boyacá.2007.

CORTÉS, María Hersilia., Arias, Antonio Plinio., Landínez, Lina Marcela., Moreno, Juan Manuel., Cardozo, Fernando., Suárez, Magda Sonia. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de la uchuva en Fresco para exportación en Colombia. Bogotá,D.C.2009.

CRISOSTO Developing Pre-conditioning Protocols for Plums, Nectarines. - 2003.

CRUZ R. M, Vieira M. C y Silva C. L Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*) // Journal of Food Engineering. - 2006. - págs. 8-15.

DA SILVA Cerqueira Leite A, Katia Maria., Tadiotti, Antonio Carlos., Baldochi, Debora., y Faria Oliveria, Olga Maria. Purification, heat stability and kinetic characterization of the pectinmethylesterase from Brazilian guava, Paluma cultivars. Food Chemistry. - 2006. Vol.94.núm.4, págs. 565–572.

DAOUDI Lamy Efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre el gazpacho y zumo de uva // Tesis doctoral. - Tecnología de los Alimentos de la Universidad Autónoma de Barcelona : [s.n.], 2004.

DAZA Ramirez Daniel. Evaluación de las propiedades antioxidantes de residuos y parte comestible de Pitahaya, Uchuva y Mangostino. - Armenia : Revista de la asociación colombiana de ciencias biológicas, 2010. - 25 : Vol. 1. - pág. 235.

DE ASSIS Sandra A., Lima Demerval C. y de Faria Oliveira Olga M.M Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development // Food Chemistry 74. - 2001. - págs. 133 -137.

DE CASTRO Heizer.F, Mendes Adriano.A y Dos Santos Julio C. BIOTRANSFORMACION // QUIMICA. - 2004. - págs. 146-156.

DE LA HOZ Joaquín y De la Hoz Vioria [En línea] // Economía del departamento de Nariño: Ruralidad y Aislamiento Geográfico. - Marzo de 2007. - <http://www.banrep.gov.co/documentos/publicaciones/regional/documentos/DTSER-87.pdf>.

DE SIO Francesco, Dipollina Giuseppe, Villari Gerardo, Loiudice Roberto, Laratta Bruna. Thermal resistance of pectin methylesterase in tomato juice in tomato juice. - 2001.

DELGADO Luis Armando PLAN DE DESARROLLO MUNICIPAL DE FUNES. - Pasto : [s.n.], 2011.

DIEDRICH Dirlei ENZIMAS. - Florianópolis : [s.n.], 2002.

DUARTE E. Análisis microbiológico de productos azucareros // Revista Científico-Técnica, La Habana, . - 1982. - pág. 29.

DUQUE Alba, Giraldo German y Quintero Victor. Caracterización de la fruta, pulpa y concentrado de Uchuva (Physalis peruviana L.). - Armenia : [s.n.], 2011.

DUQUE Henry y Taborda Guillermo Estudio de prefactibilidad para la creación de una planta procesadora de frutas en el distrito agroindustrial del bajo occidente de Caldas. - Manizales : [s.n.], 2004. - Vol. <http://www.bdigital.unal.edu.co/1065/1/henryalbertoduquecardenas.2004.pdf>.

EXPORAGRO CCI [En línea]. - 8 de Mayo de 2006. - 16 de Septiembre de 2010. - <http://cci.org.co/ccinew/pdf/EXPORAGRO/EXPORAGRO%202.pdf>.

FADARIO Verónica Maria Estudio do aumento de escala do processo enzimático de hidrólise da celulose obtenida a partir de residuos lignocelulósicos do bagaco de cana (*Saccharum officinarum* L.). - 2011.

FICHER G, Ebert G y Ludders P Provitamin A Carotenoids, organic acids and ascorbic acid content of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) ecotypes grown at two tropical altitudes // *Acta Horticulturae*. - 2000. - 531 : Vol. 1. - págs. :263-268.

FINAGRO [En línea] // Fondo para el Financiamiento del Sector Agropecuario. - 22 de Mayo de 2012. - http://www.finagro.com.co/html/i_portals/index.php?p_origin=internal&p_name=content&p_id=MI-286&p_options=#UCHUVA.

FISCHER G, Flórez V y Sora A Producción, poscosecha y exportación de la uchuva; pág. 93. - Bogotá : Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía., 2000. - pág. 93.

GARCÍA Hugo, Brito Beatriz y García María Cristina Desarrollo tecnológico para el fortalecimiento del manejo poscosecha de frutas exóticas exportables de interés para los países andinos:Uchuva (*Physalis peruviana* L.), granadilla (*Passiflora ligularis* L.), y tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav) S.). - 2008.

GMEIN A. Cinética enzimática. S.L : <http://gmein.uib.es/otros/enzimas/Jmoldesarrollo/textos/enzima5.html>, 2009.

GOMEZ Cesar.,Dueñas, Johanna., Garzón, Maria Clara., Medina, Jazmine., Moreno, Zulma., Perdomo, Claudia., Pizarro, Jorge., Villareal, Alvaro. Inteligencia de Mercados.Corporación Colombia Internacional. Ministerio de Agricultura y Desarrollo. Publicación número 34. ISSN 0123-1338 - 2005.

GORDON, E. Anthon; Sekine, Yukio; Watanabe, Nobuo; Barrett, Diane, M. Thermal Inactivation of Pectin Methylesterase, Polygalacturonase, and Peroxidase in Tomato Juice // *Journal Agriculture and Food Chemistry*. - 2002. - págs. 6153–6159.

GUERRERO Andrea Influencia de la temperatura en la inactivación de la Pectinmetilesterasa durante tratamiento termico en la pulpa de badea(*p.quadranguaris*). - S.L : [s.n.], 2008.

GUTIERREZ Jorge, Perez Paul y Aguilar Angélica Conservación de alimentos mediante el empleo de temperaturas elevadas. - Tacná-Perú : Universidad Nacional Joge Basadree Grohmann, 2010.

GUTIÉRREZ Tania M., Hoyos Olga y Páez Martha I. Determinación del contenido de ácido ascórbico [Informe]. - 2007.

HERNANDEZ A. Elizabeth Evaluacion Sensorial. - Bogotá, D.C. : Centro Nacional de Medios para el aprendizaje, 2005.

HIDALGO J. La promoción del consumo de frutas y hortalizas. Iniciativa "5 al día". // Fruticultura Professional. - 2005. - 149. - págs. 79-85..

HIRSCH Angelika R., Kirsten Förch (Née Resch), Sybille Neidhart, Gudrun Wolf, Reinhold Carle. Effects of thermal treatments and storage on pectin methylesterase and peroxidase activity in freshly squeezed orange juice // Journal of Agricultural and Food Chemistry. - 2008. - Vol. 56. - págs. 5691-5699.

INGENIERIA Agrícola por Colombia. EL cultivo de la Uchuva. - 2001.

JIMENEZ MORA, Juan, Pablo y Villarreal Latorre, John, Henry. Estudio Químico De Pigmentos Tipo Antocianina Presentes En El Fruto Del Motilon (Hyeronima macrocarpa). 2008.

KUSKOSKI, E., Asuero, Agustín G., Troncoso, Ana M., Mancini-Filho, Jorge., Fett, Roseane. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciencia y tecnología alimentaria . 2005. Vol. 25. núm 4. - págs. 726-732.

Lafaux Christopher enzyme activity. - Stanford : [s.n.], 2004.

LANCHERO, Octavio., Velandia, Gonzalo., Fischer, Gerhard., Varela, Nidia Catherine., y García, Hugo. Comportamiento de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en poscosecha bajo condiciones de atmósfera modificada activa. Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria. - 2007. Vol.8. núm.1, págs. 61-68.

LETERME P. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes the rain forest of Colombia // Food Chemistry. - 2006. - 4 : Vol. 95. - págs. 644-652.

LOZANO Alexander. Plan Exportador de Uchuva y Pitahaya al mercado Estados Unidos para Expofruver LTDA. // Corporacion colombiana internacional. - 2010.

MACA, Maira. Evaluación de los efectos de la pasteurización en la inactivación parcial de la enzima Pectinmetilesterasa, y sobre algunas propiedades fisicoquímicas y sensoriales del zumo de tomate de árbol (*solanum betaceum*). - Pasto : [s.n.], 2012.

MAHECHA GODOY Juan Carlos. Determinación de los parámetros para la simulación matemática del proceso de deshidratación de la Uchuva (Physalis Peruviana L.). - Bogotá D.C : Universidad Nacional de Colombia, 2011.

MÁRQUEZ Julio Carlos Caracterización fisiológica, físico-química, reológica, nutraceútica, estructural y sensorial de la guanábana. - Medellín : [s.n.], 2009.

MARTINEZ, Olga., Roman, Maria., Gutiérrez, Ester., Medina, Gilma., Flórez, Oscar. Caracterización sensorial de fibras de algunas frutas comunes en Colombia. Revista De La Facultad De Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia, Medellín..ISSN 0121-4004.-2003.Vol.10.núm.2, págs.9-19.

MATSUI K., Granado L., de Oliveira P., Tadini C. C. Peroxidase and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. [Journal] // LWT 40. - 2007. - pp. 852 – 859.

MEDINA E. El cultivo de la Uchuva tipo exportación. // Revista Agricultura Tropical.. - 1991. - págs. 55-58.

MEDINA Isabel Victoria FUNDAMENTOS DE BIOTECNOLOGIA. - MEDELLIN : s.n, 2004.

MILLER N.J. y Rice-Evans C.A. The relative contributions of ascorbic acid and Phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink Food Chem., 1997, - Vol. 60. - págs. 331-337.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL // Agenda de investigación de cadenas productivas. - 2009.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL [En línea]. - noviembre de agenda de investigación de cadenas productivas, 2009. - http://www.minagricultura.gov.co/archivos/boletin-_agenda_004.pdf.

MONTGOMERY Douglas C Diseño y análisis de experimentos. - México : LIMUSA, S.A, 2008.

Moo Puc Juan Alberto TRATAMIENTO TERMICO. - S.L : <https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:L4BO8X7taCMJ:www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r2065.DOC+El+uso+de+los+diversos+tratamientos+t%C3%A9rmicos,+junto+con+otras+tecnolog%C3%ADas+como+la+refrigeración+C3%B3n,+facilita+la+existencia+de+>, 2009.

MURRAY Ricardo Estrés como Protector de la Calidad Organoléptica de Frutas y Hortalizas susceptibles a daño por frío [Informe]. - Argentina : [s.n.], 2004.

NELSON D.L y Cox M.M. Lehninger Principles of Biochemistry. - [s.l.] : W. H. Freeman and Company, NY., 2008.

NOVOA Rafael, Bojaca Mauricio, Galvis Jesus Antonio, Fisher Gerhard. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen en el comportamiento poscosecha de la Uchuva, almacenada a 12 °C (*Physalis peruviana* L.). - Bogotá : [s.n.], 2006.

NTC 3925. Análisis Sensorial. Metodología. Guía general. - Bogotá D.C : Instituto Colombiano de Normas Técnicas (ICONTEC), 1996.

NTC 3930. Análisis Sensorial. Metodología. Ordenamiento de acuerdo con un criterio específico - Bogotá. D.C : Instituto Colombiano de Normas Técnicas, 2009.

NTC 4129. Análisis sensorial. Metodología. Ordenamiento de acuerdo con un criterio científico. - Bogotá. D.C : Instituto Colombiano de Normas Técnicas (ICONTEC), 1997.

NTC 4130 Análisis sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores. Parte 2. Expertos. - Bogotá D.C : Instituto Colombiano de Normas Técnicas (ICONTEC), 1997.

NTC 5468 Zumos (Jugos), Néctares, Pures (Pulpas) y Concentrados de Frutas - Bogotá, D.C : [s.n.], 2007.

Nutbro Universidad de Murcia [En línea] // Nutrición y Bromatología. - Grupo de Investigación de Nutrición y Bromatología de la UM, 2012. - http://www.um.es/nutbro/docs/hica/Microorganismos_marcadores.pdf.

OMRAN H.T y Askar A Heat-inactivation of mango pectinesterase and polygalacturonase. - Ismailia : [s.n.], 1994.

ORJUELA Javier, Calderon Maria Eugenia y Buitrago Sandra Patricia La cadena Agroindustrial de frutas-Uchuva y tomate de árbol. - Bogotá : Sección de publicaciones Universidad distrital Francisco José de Caldas, 2006.

OSORIO Oswaldo. Influencia de tratamientos térmicos en la calidad y estabilidad del puré de fresa (*Fragaria x ananassa*, cv Camarosa). - Valencia, España : Universidad Politécnica de Valencia., 2008.

OWUSO R.K Food protein analysis, quantitative effects on processing. - Pennsylvania : [s.n.], 2002.

PALMA Judith PEfecto del Escaldado a Temperaturas Bajas y Adiciones del Cloruro de Calcio sobre Propiedades Estructurales en Chiles Jalapeños en Salmuera. - 2006.

PANTOJA, Ana y Latorre, Laura. Evaluación de tratamientos térmicos para la inactivación de las enzimas polifenol oxidasa y peroxidasa en el jugo de fique (*furcraea gigantea* vent.) Producido en el departamento de nariño. 2010.

Pierce Intructions Coomassie plus protein assay reagent kit. - 2010.

Procesamiento y conservación de frutas Universidad Nacional de Colombia sede Bogota [En línea]. - Dirección Nacional de Servicios Académicos Virtuales, 1 de mayo de 2012. - <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2006228/teoria/obpulpfru/p2.htm>.

QUIJANO Jairo y Arango Gabriel Metodos para medir la actividad tirosinasica de Algunos Frutos:Una Practica De Enzimologia. - 1981.

RAMADAN M, Sitohy M y Moersel J Solvent and enzymeaided aqueous extraction of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) pomace oil: impact of processing on composition and quality of oil and meal// European Food Research and Technology. - 2008. - 226 : Vol. 6. - págs. 1445-1458 .

RAVENTOS Mercé Tratamientos por alta presion en la industria alimentaria. - https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:u2qR_eziOY0J:www.acenologia.com/presentaciones/Raventos.pdf+la+inactivaci%C3%B3n+de+la+PME+tiene+una+resistencia+t%C3%A9rmica+m%C3%A1s+alta+que+las+bacterias+y+las+levaduras+existentes&hl=es-419&gl=co&pid=bl&srci : [s.n.], 2010.

RAVIYAN P., Zhang Z. y Feng H. Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: effect of cavitation intensity and temperature on inactivation // Journal of Food Engineering 70 . - 2005. - págs. 189–196.

RE R. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay // Free Radic. Biol. Med.. - 1999. - 9/10 : Vol. 26. - págs. 1231-1237.

REY RODRIGUEZ Camilo Armando Modelo para el diseño y pruebas de empaques para uchuva en Las empresas exportadoras de bogota y cundinamarca. - Bogotá : Universidad Nacionla de Colombia, 2011.

RIVAS Rodrigo y Barbosa Rodrigo Effect of PEF and heat pasteurization on the physical-chemical characteristics of blended orange and carrot juice.// Elsevier. - [s.l.] : Elsevier, 2006. - págs. 1163-1170.

ROBLES Francisco Javier Obtención de zumo de Berenjena (*Solanum Melangena*) Mediante Eluso De La Enzima Poligalacturonasa. - s.l : s.n, 2006.

ROMERO, Nelly Rosa., Sánchez, Prometeo., Rodríguez, Jorge., Saucedo, Crescenciano. Aplicación foliar de calcio y su relación con la calidad en frutos de

mango cv. Haden.México:Programa de Fructicultura, Instituto de recursos Genéticos y Productividad y Programa de Edafología, Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgrados.- 2006.Vol.32.núm.1,pág.8.

ROUSE A. H. y Atkins C. D. Pectinesterase and pectin in commercial orange juice as determined by methods used at the Citrus Experiment Station // Bulletin of the University of Florida Agricultural Experiment Station, Lake Alfred, FL, 570. - 1955. - págs. 1- 19.

RUBIO,Camilo., Alvarez, Francisco., Medina, Jazmine., Jaller,Sergio., Ruiz, Maria., Gomez, Luz Fabiola., Rodriguez, Maritza., Torres, Andres., Saenz, Patricia., Orozco,Martha., Espinal, Santiago., y Moreno, Zulma Liliana. Sistema de inteligencia de Mercados. Corporación Colombia Internacional. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. - 2001. [Informe]. - [s.l.] : ISSN 0124-1338.

RUMPHAN KOSLANUNd, Douglas Archbold y Kirk Pomper Pawpaw [Asimina triloba (L.) Dunal] Fruit Ripening.II. Activity of Selected Cell-wall Degrading Enzymes. - 2005.

SENTANDREU, E., Carbonell, L., Carbonell, J.V., Izquierdo, L. Effects of Heat Treatment Conditions on Fresh Taste and on Pectinmethylesterase Activity of Chilled Mandarin and Orange Juices. - [s.l.] : Food Science and Technology International, 2005.Vol.11.núm.3,págs.217-222.

SILA, Daniel N., Smout, Chantal., Satara, Yusuf., Truong, Vu., Loey, Ann., Hendrick, Marc.Combined thermal and high pressure effect on carrot pectinmethylesterase stability and catalytic activity. Journal of Food Engineering. - 2007. Vol.78.núm.3,págs.755 - 764.

SILVA V.M y Gibbs Paul Targent selection in Designing Pasteurization Processes for Shelf-Stable High-Acid Fruit Products. - 2004. - Vol. 44. - págs. 353-360.

SOYSAL Cigde y Soylemez Zerrin. Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. // Journal of Food Engineering.. - 2005. - 3 : Vol. 68. - págs. 349 – 356.

STOFOROS N. G., Crelier S., Robert, M. C. y Taoukis. Kinetics of tomato pectin methylesterase inactivation by temperature and high pressure // Journal of Food Science, 67(3). - 2002. - págs. 1026–1031.

TANIA M. Gutiérrez Olga L. Hoyos Y Martha I. Páez Determinación del contenido de ácido ascórbico [Informe]. - 2007.

Tiwari B K Inactivation Kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. - Irland : Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2009. - 1 : Vol. 10.

Tratamientos térmicos

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/celis_h_t/capitulo3.pdf. - En línea : [s.n.], 2009.

TREJO y GUERRERO. Evaluacion de dos tratamientos térmicos para la inactivacion de la enzima peroxidasa en brócoli (*Brassicaoleracea* L), variedad lagacy. - San Juan de Pasto : [s.n.], 2012.

TRIBESS Tatiana B y Tadini Carmen C Inactivation kinetics of pectin methylesterase in orange juice as a function of pH and temperature/time process conditions // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. - 2006. - págs. 1328-1335.

_____. The effect of refrigerated storage on sensory profile and physical-chemical characteristics of minimally pasteurized orange juice. - *Sau Paulo : Journal*, 2008.

UNDURRAGA P, Olaeta J. A. y San Martin J. Efecto del quiebre de temperatura en el comportamiento de palta (*Persea americana* Mill.) CV. HASS en almacenamiento refrigerado. - San Francisco. La Palma Quillota(Chile) : [s.n.], 2007.

VELASQUEZ CHAVERRA, Eudes de Jesús y Arias Walteros, Carlos Humberto Anuario estadístico de frutas y hortalizas 2004-2008 y sus calendarios de siembras y cosechas [En línea] // Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. - 2009. - http://www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/20101715620_AnuarioEstadisticodefrutasyhortalizas2004-2008.pdf.

VILA LÓPEZ, Rosario. Caracterización físicoquímica del membrillo japonés desarrollo fisiológico y conservación frgerífica. - 2006.

VIVAR- VERA Maria A. [y otros] Extraction, thermal stability and kinetic behavior of pectinmethylesterase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit // *Sciencedirect*. - 2007. - págs. 278–284.

WICKER L., Ackerley J. L. y Correding M. Clarification of Juice by Thermolabile Valencia Pectinmethylesterase Is Accelerated by Cations. // *J. Agric. Food Chem.* - 2002. - págs. 4091–4095.

WILLATS, William., Mccartney, Lesley., Mackie, William., y Knox, J.Paul. Pectin cell biology and prospects for functional analisis. Plant Mol. Biol. - 2001. Vol. 47, núm.1-2, págs. 9-27

WISEMAN Alan Manual de biotecnologia de las enzimas. - ZARAGOZA : [s.n.], 1991.

ANEXOS

Anexo 1. REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA

	SECCION DE LABORATORIOS INFORME RESULTADOS DE MICROBIOLOGÍA	Código: LBE-PRS-FR-103
		Página: 1 de 1
		Versión: 1
		Vigente a partir de: 2010-09-30

AREA : LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Fecha toma muestra:	Yamid Alexis Pinchao	Acta número:	007
Hora toma muestra:	11:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA12-21
Fecha de Recepción:	10 de Abril de 2012	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	03:25 p.m.	Representante legal:	Yamid Alexis Pinchao
Fecha de Reporte:	17 de Abril de 2012	Nit/C.C.:	1085904036
Producto:	Zumo de Uchuva sin Tratamiento	Dirección y Tel:	3167886572
Muestra tomada por:	Yamid Alexis Pinchao	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Microbiológico	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:		Motivo de Análisis:	Estudio

RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO
Número más probable de Coliformes Totales /g	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3
Recuento de microorganismos Mesófilos ufc/g	8.000
Recuento de Hongos y Levaduras	21.500
Recuento Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10


Laboratorio Microbiología
 Universidad de Nariño
NANCY GALINDO SANTANDER
 Bacterióloga Lab. Microbiológico de Alimentos
 Registro No 125

Anexo 2. REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 60 °C x 10 s

 Universidad Nariño	SECCION DE LABORATORIOS	Código: LBE-PRS-FR-103
	INFORME RESULTADOS DE MICROBIOLOGIA	Página: 1 de 1
		Versión: 1
		Vigente a partir de:
		2010-09-30

AREA : LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Fecha toma muestra: Yamid Alexis Pinchao	Acta número: 007
Hora toma muestra: 11:00 a.m.	Código de la muestra: LMA12-20
Fecha de Recepción: 10 de Abril de 2012	Establecimiento: -
Hora de Recepción: 03:25 p.m.	Representante legal: Yamid Alexis Pinchao
Fecha de Reporte: 17 de Abril de 2012	Nit/C.C: 1085904036
Producto: Uchuva 60°Cx10seg	Dirección y Tel: 3167886572
Muestra tomada por: Yamid Alexis Pinchao	Municipio - Depto: Pasto - Nariño
Análisis solicitado: Microbiológico	Sitio de toma: Planta Piloto
Observaciones:	Motivo de Análisis: Estudio

RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO
Número más probable de Coliformes Totales /g	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3
Recuento de microorganismos Mesófilos ufc/g	3000
Recuento de Hongos y Levaduras	Menor de 10
Recuento Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10


Laboratorio Microbiología de Alimentos
 Universidad de Nariño
NANCY GALINDEZ SANTANDER
 Bacterióloga Lab. Microbiológico de Alimentos
 Registro No 125

Anexo 3. REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 60 °C x 30 s

 Universidad Nariño	SECCION DE LABORATORIOS INFORME RESULTADOS DE MICROBIOLOGIA	Código: LBE-PRS-FR-103 Página: 1 de 1 Versión: 1 Vigente a partir de: 2010-09-30
--	---	--

AREA : LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Fecha toma muestra: Yamid Alexis Pinchao Hora toma muestra: 11:00 a.,m. Fecha de Recepción: 10 de Abril de 2012 Hora de Recepción: 03:25 p.m. Fecha de Reporte: 17 de Abril de 2012 Producto: Uchuva 60°Cx30 Muestra tomada por: Yamid Alexis Pinchao Análisis solicitado: Microbiológico Observaciones:	Acta número: 007 Código de la muestra: LMA12-22 Establecimiento: - Representante legal: Yamid Alexis Pinchao Nit/C.C.: 1085904036 Dirección y Tel: 3167886572 Municipio - Depto: Pasto - Nariño Sitio de toma: Planta Piloto Motivo de Análisis: Estudio
--	--

RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO
Número más probable de Coliformes Totales /g	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3
Recuento de microorganismos Mesófilos ufc/g	700
Recuento de Hongos y Levaduras	Menor de 10
Recuento Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10


**Laboratorio
Microbiología
de Alimentos**
 Universidad de Nariño
NANCY GALINDEZ SANTANDER
 Bacterióloga Lab. Microbiológico de Alimentos
 Registro No 125

Anexo 4. REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA

	SECCION DE LABORATORIOS INFORME RESULTADOS DE MICROBIOLOGÍA	Código: LBE-PRS-FR-103
		Página: 1 de 1
		Versión: 1
		Vigente a partir de: 2010-09-30

AREA : LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Fecha toma muestra:	Yamid Alexis Pinchao	Acta número:	007
Hora toma muestra:	11:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA 12-23
Fecha de Recepción:	10 de Abril de 2012	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	03:25 p.m.	Representante legal:	Yamid Alexis Pinchao
Fecha de Reporte:	17 de Abril de 2012	Nit/C.C.:	1085904036
Producto:	Uchuva 75°Cx10seg	Dirección y Tel:	3167886572
Muestra tomada por:	Yamid Alexis Pinchao	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Microbiológico	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:		Motivo de Análisis:	Estudio

RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO
Número más probable de Coliformes Totales /g	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3
Recuento de microorganismos Mesófilos ufc/g	900
Recuento de Hongos y Levaduras	Menor de 10
Recuento Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10


Laboratorio Microbiología
 Universidad de Alimentos
NANCY GALINDEZ SANTANDER
 Bacterióloga Lab. Microbiológico de Alimentos
 Registro No 125

Anexo 5. REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 75 °C x 30 s

 Universidad Nariño	SECCION DE LABORATORIOS INFORME RESULTADOS DE MICROBIOLOGIA	Código: LBE-PRS-FR-103 Página: 1 de 1 Versión: 1 Vigente a partir de: 2010-09-30
--	---	--

AREA : LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Fecha toma muestra: Yamid Alexis Pinchao Hora toma muestra: 11:00 a.m. Fecha de Recepción: 10 de Abril de 2012 Hora de Recepción: 03:25 p.m. Fecha de Reporte: 17 de Abril de 2012 Producto: Uchuva 75°Cx30seg Muestra tomada por: Yamid Alexis Pinchao Análisis solicitado: Microbiológico Observaciones:	Acta número: 007 Código de la muestra: LMA12-24 Establecimiento: - Representante legal: Yamid Alexis Pinchao Nit/C.C: 1085904036 Dirección y Tel: 3167886572 Municipio - Depto: Pasto - Nariño Sitio de toma: Planta Piloto Motivo de Análisis: Estudio
--	---

RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO
Número más probable de Coliformes Totales /g	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3
Recuento de microorganismos Mesófilos ufc/g	800
Recuento de Hongos y Levaduras	Menor de 10
Recuento Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10



**Laboratorio
Microbiología
de Alimentos**
NANCY GALINDEZ SANTANDER
 Bacterióloga Lab. Microbiológico de Alimentos
 Registro No 125

Anexo 6. REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 90 °C x 10 s

 Universidad Nariño	SECCION DE LABORATORIOS INFORME RESULTADOS DE MICROBIOLOGIA	Código: LBE-PRS-FR-103 Página: 1 de 1 Versión: 1 Vigente a partir de: 2010-09-30
--	---	--

AREA : LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Fecha toma muestra: Yamid Alexis Pinchao Hora toma muestra: 11:00 a. m. Fecha de Recepción: 10 de Abril de 2012 Hora de Recepción: 03:25 p.m. Fecha de Reporte: 17 de Abril de 2012 Producto: Uchuva 90°x10seg Muestra tomada por: Yamid Alexis Pinchao Análisis solicitado: Microbiológico Observaciones:	Acta número: 007 Código de la muestra: LMA 12-25 Establecimiento: - Representante legal: Yamid Alexis Pinchao Nit/C.C.: 1085904036 Dirección y Tel: 3167886572 Municipio - Depto: Pasto - Nariño Sitio de toma: Planta Piloto Motivo de Análisis: Estudio
--	---

RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO
Número más probable de Coliformes Totales /g	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3
Recuento de microorganismos Mesófilos ufc/g	500
Recuento de Hongos y Levaduras	Menor de 10
Recuento Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10


**Laboratorio
Microbiología
de Alimentos**
 Universidad de Nariño
NANCY GALINDEZ SANTANDER
 Bacterióloga Lab. Microbiológico de Alimentos
 Registro No 125

Anexo 7. REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO MUESTRA DE UCHUVA 90 °C x 30 s

 Universidad Nariño	SECCION DE LABORATORIOS INFORME RESULTADOS DE MICROBIOLOGIA	Código: LBE-PRS-FR-103 Página: 1 de 1 Versión: 1 Vigente a partir de: 2010-09-30
--	---	--

AREA : LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Fecha toma muestra: Yamid Alexis Pinchao Hora toma muestra: 11:00 a. m. Fecha de Recepción: 10 de Abril de 2012 Hora de Recepción: 03:25 p.m. Fecha de Reporte: 17 de Abril de 2012 Producto: Uchuva 90°Cx30seg Muestra tomada por: Yamid Alexis Pinchao Análisis solicitado: Microbiológico Observaciones:	Acta número: 007 Código de la muestra: LMA 12-26 Establecimiento: - Representante legal: Yamid Alexis Pinchao Nit/C.C: 1085904036 Dirección y Tel: 3167886572 Municipio - Depto: Pasto - Nariño Sitio de toma: Planta Piloto Motivo de Análisis: Estudio
---	--

RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO
Número más probable de Coliformes Totales /g	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3
Recuento de microorganismos Mesófilos ufc/g	500
Recuento de Hongos y Levaduras	Menor de 10
Recuento Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10


**Laboratorio
Microbiología
de Alimentos**
 Universidad de Nariño
NANCY GALINDEZ SANTANDER
 Bacterióloga Lab. Microbiológico de Alimentos
 Registro No 125

Anexo 8. FICHA DE PRESENTACIÓN

Nombre: _____ Edad: _____

Teléfono: _____

Dirección: _____

Ocupación: _____

Dificultad para hacer pruebas: _____

Alergias a algún alimento: _____

Fuma:

Si ___ No ___

Observaciones:

Gracias por su colaboración.

**Anexo 9. HOJA DE RESPUESTAS - PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DE
OLORES BÁSICOS**

Nombre: _____

Fecha: _____

INSTRUCCIONES

Las soluciones pueden tener un gusto dulce, ácido. También puede haber una o más muestras que tiene solamente agua. Identifique el sabor de la solución de cada uno de los vasos codificados. Elimine sabores antes de empezar y entre cada muestra con agua.

Código	Olor
875	_____
711	_____
539	_____
134	_____

COMENTARIOS:

Gracias por su colaboración.

**Anexo 10. HOJA DE RESPUESTAS PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN-
ORDENAMIENTO**

Nombre: _____ **Fecha:** _____

INSTRUCCIONES

Se le han entregado 18 muestras, indique sus respuestas usando el código asignado en cada una. Elimine sabores antes de empezar y entre cada muestra con agua.

SABOR: Indique el código de las muestras de menor a mayor intensidad.

	Menor			Mayor
Código				

OLOR: Indique el código de las muestras de menor a mayor intensidad.

	Menor			Mayor
Código				

COLOR: Indique el código de las muestras de menor a mayor intensidad.

	Menor									Mayor
Código										

COMENTARIOS:

Gracias por su colaboración

**Anexo 11. HOJA DE RESPUESTA PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN-
ORDENAMIENTO**

Nombre: _____

Fecha: _____

EVALUACION DE ZUMO DE UCHUVA

1. Ante usted hay 16 muestras codificadas de zumo de Uchuva, clasificadas en cuatro grupos (acidez, color, olor, sabor) ordénelas **de menor a mayor** intensidad de sabor escribiendo el código en el espacio en blanco señalado para cada grupo. Enjuáguese la boca con agua después de probar cada muestra, escupa en el recipiente que se le dio.

ACIDEZ: ESCRIBA LOS CODIGOS DE MENOR A MAYOR INTENSIDAD

COLOR: ESCRIBA LOS CODIGOS DE MENOR A MAYOR INTENSIDAD

OLOR: ESCRIBA LOS CODIGOS DE MENOR A MEJOR OLOR

SABOR: ESCRIBA LOS CODIGOS DE MENOR A MEJOR SABOR

3. Comentarios:

Gracias por su colaboración

Anexo 12. HOJA DE RESPUESTA PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN-TRIANGULAR

Nombre: _____ Fecha: _____

EVALUACION SABOR DE ZUMO DE UCHUVA

1. Ante usted hay tres muestras de zumo de Uchuva. Dos de ellas tienen sabor idéntico _____ entre _____ sí. **Indique cuál es la muestra con sabor diferente.** Enjuáguese la boca con agua después de probar cada muestra, escupa en el recipiente que se le dio.

Marque con una **X**

9914

3662

6934

2. En el caso de la muestra diferente, diga cuanta es la diferencia con respecto a las muestras duplicadas: (Marque con una **X**).

- () Ligera diferencia
- () Moderada diferencia
- () Mucha diferencia

3. Comentarios:

Gracias por su colaboración

**Anexo 13. HOJA DE RESPUESTA PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN-
PREFERENCIA**

Nombre: _____ Fecha: _____

PRUEBA DE PREFERENCIA DE ZUMO DE UCHUVA

1. Ante usted hay dos muestras de zumo de Uchuva. Pruébelas y marque con una **X** la que le gusta más. Enjuáguese la boca con agua después de probar cada muestra, escupa en el recipiente que se le dio.

Marque con una **X**

2867

4680

3. Comentarios:

Gracias por su colaboración.

Anexo 14. TABLA DE NUMEROS ALEATORIOS DE ANZALDÚA MORALES

APENDICE I

TABLA DE NUMEROS ALEATORIOS

6224	3500	3831	5590	3749	6934
8261	9512	6386	7969	3173	3662
9421	5438	8389	1013	3212	9914
2082	5683	6553	9265	6330	6455
5770	0772	0813	7361	4227	0906
0802	9477	6458	3684	5954	9961
4027	5923	1430	9965	6966	7021
3199	5961	1703	5947	4258	6152
7686	9235	7379	6239	9440	3265
8239	4158	6588	4626	6377	6247
7463	3284	6007	3101	8721	9707
8396	7547	3679	6814	3966	9402
9724	1002	6461	8037	0739	3649
3913	0087	2751	6593	7442	9216
9211	7721	9303	8733	5651	0378
4587	9205	0470	5179	7210	9892
4354	9776	2158	3226	4146	5399
9592	1974	8643	7672	6813	1057
2671	1216	6164	7022	0370	2755
4153	6989	4936	0352	4889	2200
9442	8025	4198	9841	9339	0769
5089	9070	8700	4507	1388	5946
4029	6456	6202	5598	4242	9598
4589	0479	7089	2575	5270	8015
2867	4853	6750	7729	9926	0661
4680	5797	0680	0406	1847	8360
6610	1613	4230	9401	7015	4747
9344	7649	5579	7786	3964	6828

*Números obtenidos con una calculadora programable.

**Anexo 15. TABLAS DE SIGNIFICANCIA PARA PRUEBAS DE PREFERENCIA-
ANZALDÚA MORALES**

APENDICE II

TABLA DE SIGNIFICANCIA PARA PRUEBAS DE DOS MUESTRAS

NUMERO DE JUICIOS	PRUEBAS DE «DOS COLAS»*			PRUEBAS DE «UNA COLA»**		
	Nivel de probabilidad			Nivel de probabilidad		
	5%	1%	0,1%	5%	1%	0,1%
5	—	—	—	5	—	—
6	—	—	—	6	—	—
7	7	—	—	7	7	—
8	8	8	—	7	8	—
9	8	9	—	8	9	—
10	9	10	—	9	10	10
11	10	11	11	9	10	11
12	10	11	12	10	11	12
13	11	12	13	10	12	13
14	12	13	14	11	12	13
→15	12	13	14	12	13	14
16	13	14	15	12	14	15
17	13	15	16	13	14	16
18	14	15	17	13	15	16
19	15	16	17	14	15	17
20	15	17	18	15	16	18
21	16	17	19	15	17	18
22	17	18	19	16	17	19
23	17	19	20	16	18	20
24	18	19	21	17	19	20
25	18	20	21	18	19	21
26	19	20	22	18	20	22
27	20	21	23	19	20	22
28	20	22	23	19	21	23
29	21	22	24	20	22	24
30	21	23	25	20	22	24

(continúa)

**Anexo 16. TABLA PARA INTERPRETAR RESULTADOS ESTADISTICOS
PRUEBA TRIANGULAR-ANZALDÚA MORALES**

APENDICE V

**TABLA PARA INTERPRETACION DE RESULTADOS
DE LA PRUEBA TRIANGULAR**

Número de respuestas correctas necesario para establecer diferencia significativa			
Número de jueces	NIVEL DE SIGNIFICANCIA		
	5%	1%	0,1%
7	5	6	7
8	6	7	8
9	6	7	8
10	7	8	9
11	7	8	9
12	8	9	10
13	8	9	10
14	9	10	11
15	9	10	12
16	10	11	12
17	10	11	13
18	10	12	13
19	11	12	14
20	11	13	14
21	12	13	15
22	12	14	15
23	13	14	16
24	13	14	16
25	13	15	17

(continúa)

Anexo 17. REPORTE DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS ZUMO DE UCHUVA SIN TRATAMIENTO

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS	Código: LBE-PRS-FR-76
		Página: 1 de 1
		Versión: 1
	REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA	Vigente a partir de: 26/04/2010

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA		Reporte No.
Solicitante:	Yamid Alexis Pinchao	Muestra	Zumo Uchuva <i>Physalis peruviana</i> .	LB-R-052A-12
Dirección:	Calle 18 A No. 44 - 49 B/ Pandiaco. Pasto	Sin tratamiento		Código lab 196
cc / nit:	1.085.904.036	Procedencia	Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial	
Teléfono:	316 788 6572	Fecha de Muestreo	DD 07 MM 05 AA 12	
e-mail	yamidalexis@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra	DD 07 MM 05 AA 12	
		Fecha Reporte	DD 27 MM 05 AA 12	
ANÁLISIS SOLICITADO		Humedad, Ceniza, Fibra, Proteína, Azúcares totales, Calcio, Fósforo, Hierro, Vitamina C, Acidez		

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Zumo Uchuva sin tratamiento
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	85,7
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	14,3
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,88
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	0,51
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	10,8
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	11,6
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	32,0
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,2
Acidez (ácido cítrico)	NTC 4623	Volumétrica	g/100g	-	5,65
Vitamina C	Mohr	Espectrofotométrica	mg/100g	-	13
Fibra cruda	Digestión ácida-básica. Crisol Gooch	Gravimétrica	g/100g	-	0,35

OBSERVACIONES	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA
Aseguramiento de Calidad de Resultados	Resolución ICA 3699 del 26 de Septiembre de 1994 como Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico para el Control de Calidad de Alimentos para animales. Resolución ICA 003540 de Noviembre 8 de 2010 como Laboratorio de Control de Calidad de Fertilizantes y Acondicionadores de suelo de uso agrícola. Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449


 Gloria Sanabria Espinosa Nariño
 Téc. Laboratorio Bromatología y
 Orgánicos
 Universidad de Nariño

Elaboró: GSE 27/05/2012
 Revisó: GSE 27/05/2012

Anexo 18. REPORTE DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS ZUMO DE UCHUVA 80 °C x 10 s

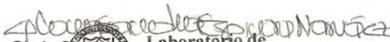
 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS	Código: LBE-PRS-FR-76
	REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA	Página: 1 de 1
		Versión: 1
		Vigente a partir de: 26/04/2010

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA		Reporte No.	LB-R-052B-12
Solicitante:	Yamid Alexis Pinchao	Muestra:	Zumo Uchuva <i>Physalis peruviana</i> .	Código lab	197
Dirección:	Calle 18 A No. 44 - 49 B/ Pandiaco. Pasto	Con tratamiento			
cc / nit:	1.085.904.036	Procedencia	Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial		
Teléfono:	316 788 6572	Fecha de Muestreo	DD 07 MM 05 AA 12		
e-mail	yamidalexis@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra	DD 07 MM 05 AA 12		
		Fecha Reporte	DD 27 MM 05 AA 12		

ANÁLISIS SOLICITADO	Humedad, Ceniza, Fibra, Proteína, Azúcares totales, Calcio, Fósforo, Hierro, Vitamina C, Acidez
----------------------------	---

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Zumo Uchuva con tratamiento
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	85,8
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	14,2
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,89
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	0,48
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	10,1
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	10,2
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	33,3
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,3
Acidez (ácido cítrico)	NTC 4623	Volumétrica	g/100g	-	5,66
Vitamina C	Mohr	Espectrofotométrica	mg/100g	-	12,9
Fibra cruda	Digestión ácida-básica. Crisol Gooch	Gravimétrica	g/100g	-	0,30

OBSERVACIONES	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA
Aseguramiento de Calidad de Resultados	Resolución ICA 3699 del 26 de Septiembre de 1994 como Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico para el Control de Calidad de Alimentos para animales. Resolución ICA 003540 de Noviembre 8 de 2010 como Laboratorio de Control de Calidad de Fertilizantes y Acondicionadores de suelo de uso agrícola. Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449


 Gloria Sandra Espinosa Narváez
 Téc. Laboratorio Bromatología y Alimentos
 Universidad de Nariño

Elaboró: GSE 27/05/2012
 Revisó: GSE 27/05/2012