

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA PASTEURIZACIÓN EN LA
INACTIVACIÓN PARCIAL DE LA ENZIMA PECTINMETILESTERASA, Y SOBRE
ALGUNAS PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y SENSORIALES DEL ZUMO DE
TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)**

MAIRA PATRICIA MACA BARRIOS

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

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA PASTEURIZACIÓN EN LA
INACTIVACIÓN PARCIAL DE LA ENZIMA PECTINMETILESTERASA, Y SOBRE
ALGUNAS PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y SENSORIALES DEL ZUMO DE
TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)**

MAIRA PATRICIA MACA BARRIOS

**Trabajo de grado, presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniera Agroindustrial**

**Asesor:
DIEGO FERNANDO MEJIA ESPAÑA
Ingeniero Agroindustrial**

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

NOTA DE RESPONSABILIDAD

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo son responsabilidad exclusiva de su autora”

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

NOTA DE ACEPTACIÓN

MSc. OLGA LUCIA BENAVIDES CALVACHE

PH.D. OSWALDO OSORIO MORA

San Juan de Pasto, 13 de Febrero de 2012

DEDICATORIA

El tiempo me sorprende, hoy está hecha parte de mi historia al ver mi sueño cumplido, quiero agradecer a DIOS y dedicar mi trabajo de grado a las personas más importantes de mi vida, mi madre Nohra Estella, mis hermanos Jhon Fredy, Mario Fernando y mi sobrino Jhon Sebastián, los amo.

A mis tías, tíos y primos gracias por su el apoyo.

A una persona muy especial, mi novio Diego Guerrero A.

A mi amigo incondicional Diego Martin Trejo E.

A mi asesor y profesores, por cada una de sus enseñanzas.

A mis compañeros, amigos y a todas las personas que estuvieron conmigo a lo largo de este camino, quienes me regalaron experiencias enriquecedoras e hicieron de momentos y lugares los recuerdos más hermosos de mi vida.

Mil y mil gracias a todos.

Maíra Patricia Maca Barríos.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mis agradecimientos a:

Universidad de Nariño

Vicerrectoría de investigaciones postgrados y relaciones internacionales - VIPRI

Grupo de investigación TEA

Laboratorios Especializados Universidad de Nariño

Funcionarios Planta Piloto

Ing. Diego Fernando Mejía España

PH.D Oswaldo Osorio Mora

PH.D Andrés Hurtado

Ing. Olga Lucia Benavides Calvache

Ing. Francisco Muñoz

Ing. David Álvarez

Ing. William Díaz

Ing. Zully Ximena Suarez

Ing. Carlos Fernández

Grupo de evaluación sensorial

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

CONTENIDO

Pág.

INTRODUCCIÓN

1.	IDENTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
2.	JUSTIFICACIÓN.....	24
3.	OBJETIVOS.....	27
3.1	OBJETIVO GENERAL.....	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
4.	MARCO TEORICO.....	28
4.1	TOMATE DE ÁRBOL.....	28
4.2	ENZIMAS.....	29
4.2.1	Pectinmetilesterasa (PME).....	31
4.2.2	Cinética enzimática.....	32
4.3	TRATAMIENTOS TERMICOS PARA LA INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA..	33
4.4	METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA.....	35
4.4.1	Obtención del extracto enzimático.....	35
4.4.2	Inactivación térmica de PME.....	35
4.4.3	Medición de la actividad enzimática.....	36
4.5	EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS SENSORIALES, FÍSICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS.....	37
4.6	DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE BRADFORD..	38
5.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	39
5.1	ADQUISICIÓN DEL TOMATE DE ÁRBOL.....	39
5.2	EXTRACCIÓN DEL ZUMO.....	41

5.3	DISEÑOS EXPERIMENTALES	42
5.3.1	Diseño factorial multinivel, con metodología de superficie de respuesta ...	43
5.3.2	Diseño de composición central: 2 ² + puntos estrella, con metodología de superficie de respuesta	44
5.3.3	Optimización de los factores del proceso.....	45
5.3.4	Análisis estadístico.....	45
5.4	TRATAMIENTO TÉRMICO.....	46
5.5	PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA	46
5.6	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	47
5.7	EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y FÍSICOQUÍMICAS	49
5.7.1	Prueba sensorial efectiva – medición del grado de satisfacción – escala hedónica verbal.....	49
5.7.1.1	Análisis estadísticos.....	50
5.7.2	Pruebas sensoriales discriminativas complejas - pruebas de ordenamiento	50
5.7.2.1	Selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores	50
5.7.2.2	Reconocimiento de sabores básicos	51
5.7.2.3	Reconocimiento de olores básicos	51
5.7.2.4	Prueba de discriminación (pruebas de ordenamiento).....	52
5.7.2.5	Codificaciones para entrenamiento del equipo de evaluación sensorial....	54
5.7.3	Evaluación sensorial de zumos de tomate de árbol (Pruebas sensoriales discriminativas - pruebas de ordenamiento)	56
5.7.3.1	Análisis estadísticos.....	56
5.7.4	Pruebas fisicoquímicas	56
5.7.4.1	Análisis estadísticos.....	57

5.7.5	Análisis microbiológico.....	57
5.7.5.1	Análisis estadísticos.....	57
5.8	DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE BRADFORD ..	58
5.8.1	Protocolo de cuantificación de la proteína	58
5.8.2	Curva de calibración	58
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
6.1	EXTRACCIÓN DEL ZUMO	59
6.2	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ENZIMÁTICO	59
6.3	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE PME	60
6.3.1	Medición de la actividad enzimática en zumo fresco	60
6.3.2	Análisis estadístico de la actividad enzimática con el diseño factorial multinivel, metodología de superficie de respuesta.....	61
6.3.2.1	Análisis de varianza para la actividad residual de PME	62
6.3.3	Análisis estadístico de la actividad enzimática con el diseño de composición central, metodología de superficie de respuesta	66
6.3.3.1	Análisis de varianza para la actividad residual de PME	66
6.3.4	Optimización de los factores del proceso.....	69
6.3.5	Comparación de resultados de la actividad residual de PME	69
6.4	EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y FÍSICOQUÍMICAS	70
6.4.1	Prueba sensorial efectiva – medición del grado de satisfacción - escala hedónica verbal.....	70
6.4.1.1	Análisis estadístico.....	70
6.4.2	Pruebas sensoriales discriminativas - pruebas de ordenamiento	77
6.4.2.1	Análisis estadístico.....	77
6.4.3	Evaluación fisicoquímica.....	83

6.4.3.1	Análisis estadístico.....	84
6.5	EVALUACION MICROBIOLÓGICA	85
6.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA.....	86
6.6.1	Curva de calibración de proteína BSA	87
6.6.1	Determinación de la cantidad de proteína en los tratamientos de composición central	88
6.6.2	Análisis estadístico.....	89
6.7	SEGUIMIENTO DE LA REACTIVACIÓN DE LA ENZIMA PME Y	90
	CANTIDAD DE ENZIMA	90
6.7.1	Seguimiento de la actividad enzimática	90
6.7.2	Seguimiento de la cantidad de proteína.....	92
7.	CONCLUSIONES	94
8.	RECOMENDACIONES	95
	BIBLIOGRAFÍA.....	96
	ANEXOS.....	102

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1.	Composición fisicoquímica y valor nutricional tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)29
Cuadro 2.	Termo- resistencia de PME34
Cuadro 3.	Condiciones de obtención de extractos enzimáticos en diversos productos35
Cuadro 4.	Condiciones de inactivación térmica de PME en diversos productos36
Cuadro 5.	Condiciones para medición de la actividad enzimática de PME36
Cuadro 6.	Municipios de adquisición de muestra39
Cuadro 7.	Matriz del diseño experimental43
Cuadro 8.	Factores experimentales del DFM44
Cuadro 9.	Variable de respuesta del DFM44
Cuadro 10.	Matriz del diseño experimental.44
Cuadro 11.	Factores experimentales del DCC45
Cuadro 12.	Variable de respuesta del DCC y destino45
Cuadro 13.	Reactivos, cantidades y concentraciones para la determinación enzimática.48
Cuadro 14.	Ficha de presentación del equipo de evaluación sensorial.....51
Cuadro 15.	Materiales para reconocimiento de sabores básicos51
Cuadro 16.	Materiales para reconocimiento de olores básicos52
Cuadro 17.	Materiales para la prueba de discriminación53
Cuadro 18.	Codificación de muestras para entrenamiento54
Cuadro 19.	Parámetros de calificación del equipo de evaluación sensorial55
Cuadro 20.	Calificación de los jueces entrenados.....55
Cuadro 21.	Características fisicoquímicas57
Cuadro 22.	Características microbiológicas57
Cuadro 23.	Diluciones de proteína BSA rango 0 – 2000 µg/mL.....58
Cuadro 24.	Actividad enzimática y residual.....61
Cuadro 25.	ANOVA para la actividad residual de PME63
Cuadro 26.	Actividad enzimática y residual.....66
Cuadro 27.	ANOVA para actividad residual de PME66
Cuadro 28.	Factores establecidos y óptimos.....69
Cuadro 29.	Comparación de resultados de la actividad residual de PME69
Cuadro 30.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para olor.....70
Cuadro 31.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para color72
Cuadro 32.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para sabor.....73
Cuadro 33.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para aceptación en general.....75
Cuadro 34.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para color77
Cuadro 35.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para olor.....78
Cuadro 36.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para acidez80

Cuadro 37.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para sabor	81
Cuadro 38.	Evaluación fisicoquímica del Testigo y la muestra 60°Cx 20s	83
Cuadro 39.	Análisis estadístico para la evaluación fisicoquímica.....	84
Cuadro 40.	Evaluación microbiológica	85
Cuadro 41.	Diluciones de proteína BSA rango 100 – 300 µg/mL.....	86
Cuadro 42.	Cantidad de proteína en los tratamientos de composición central .	88
Cuadro 43.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para la cantidad de proteína en los tratamientos de composición central.....	89
Cuadro 44.	Seguimiento actividad enzimática y residual	90
Cuadro 45.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para el seguimiento de la actividad enzimática y residual	91
Cuadro 46.	Seguimiento de la cantidad de proteína	92
Cuadro 47.	Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para el seguimiento de la cantidad de enzima.....	92

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Fruto tomate de árbol cultivar manzano (<i>Solanum betaceum</i>)	28
Figura 2. Reacción catalizada enzimáticamente	30
Figura 3. Estructura de la enzima pectinmetilesterasa	32
Figura 4. Curva de avance de la reacción enzimática	33
Figura 5. Licuadora industrial.....	42
Figura 6. Baño Termostataado	46
Figura 7. Plancha agitadora.....	46
Figura 8. Centrifuga refrigerada	47
Figura 9. Reacción de la enzima PME	47
Figura 10. Espectrofotómetro Genesys 10 UV-VIS.....	48
Figura 11. Presentación de las muestras para la prueba sensorial efectiva	50
Figura 12. Muestras de reconocimiento de sabores básicos	52
Figura 13. Presentación de las muestras para la prueba sensorial discriminativa	55
Figura 14. Zumo de tomate de árbol.....	59
Figura 15. Extracto enzimático.....	59
Figura 16. Reacción de Bradford con BSA y extracto enzimático.....	86

LISTA DE GRÁFICAS

Pág.

Gráfica 1.	Parte lineal de la curva de cinética de PME.....	60
Gráfica 2.	Actividad Enzimática inicial de PME (sin tratamiento)	60
Gráfica 3.	Actividad residual Vs tiempo para cada tratamiento	62
Gráfica 4.	Efectos principales para actividad residual	64
Gráfica 5.	Interacción para actividad residual	64
Gráfica 6.	Superficie de respuestas estimada	65
Gráfica 7.	Efectos principales para actividad residual	67
Gráfica 8.	Interacción para actividad residual	68
Gráfica 9.	Superficie de respuestas estimada	68
Gráfica 10.	Gráfica de medias para el olor	71
Gráfica 11.	Gráfica de medias para el color	72
Gráfica 12.	Gráfica de medias para el sabor	74
Gráfica 13.	Gráfica de medias para la aceptación en general.....	75
Gráfica 14.	Valoración global de las calificaciones sensoriales	76
Gráfica 15.	Gráfica de medias para el color	77
Gráfica 16.	Gráfica de medias para el olor	79
Gráfica 17.	Gráfica de medias para la acidez	80
Gráfica 18.	Gráfica de medias para el sabor.....	81
Gráfica 19.	Valoración global de las calificaciones sensoriales	82
Gráfica 20.	Curva de calibración de proteína BSA rango 0 – 2000 µg/mL.....	87
Gráfica 21.	Curva de calibración de proteína BSA rango 100 – 300 µg/mL.....	87
Gráfica 22.	Curva de calibración de proteína BSA rango 100 – 300 µg/mL y concentración de proteína de tratamientos del diseño de composición central	88
Gráfica 23.	Actividad enzimática inicial y a 1, 15, 30 y 42 días.....	90
Gráfica 24.	Gráfica de medias para reactivación de PME	91
Gráfica 25.	Gráfica de medias para medición de proteína	93

LISTA DE DIAGRAMAS

	Pág.
Diagrama 1. Extracción de zumo de tomate de árbol	41
Diagrama 2. Diagrama de Pareto estandarizado para actividad residual	63
Diagrama 3. Diagrama de Pareto estandarizado para actividad enzimática.....	67

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Ficha de presentación.....	103
Anexo 2. Hoja de respuesta - prueba sensorial efectiva.....	104
Anexo 3. Hoja de respuesta - prueba de reconocimiento de sabores básicos.	105
Anexo 4. Hoja de respuesta - prueba de reconocimiento de olores básicos....	106
Anexo 5. Hoja de respuesta- prueba de discriminación - ordenamiento.....	107
Anexo 6. Hoja de respuesta - prueba de discriminación - ordenamiento.....	108
Anexo 7. Reporte de análisis fisicoquímicos muestra patron.....	109
Anexo 8. Reporte de análisis fisicoquímicos muestra 60°C x 20s.....	110
Anexo 9. Reporte de análisis microbiologicos muestra patron.....	111
Anexo 10. Reporte de análisis microbiologicos muestra 60°C x 20s.	112

LISTA ABREVIATURAS

Abs	Absorbancia
AR	Actividad residual
BSA	Albumina sérica bovina
DCC	Diseño de composición central
DFM	Diseño factorial multinivel
g	Gramo
h	Hora
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
UI	Unidades internacionales
v_0	Velocidad inicial de la reacción
°Brix	Sólidos solubles
°C	Grados Celsius
μg	Microgramo
μL	Microlitro

RESUMEN

El zumo de tomate de árbol se ve afectado por la enzima Pectinmetilesterasa (PME), presente de forma natural en el fruto. Su inactivación es importante dado que su actividad da lugar a la enzima poligalacturonasa (PG), y su acción combinada causa una reducción en las sustancias pécticas dando como resultado la separación de fases o pérdida de consistencia, característicos de este zumo. Un proceso efectivo para la inactivación de PME es la pasteurización, razón por la cual el objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de la pasteurización para la inactivación parcial de la enzima pectinmetilesterasa, y sobre algunas propiedades fisicoquímicas y sensoriales del zumo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). Para lo cual se plantearon dos diseño experimentales. De primer orden, en temperaturas 40°C-90°C y de segundo orden en temperaturas 50°C-60°C por tiempo de exposición de 5s-20s, pues dentro de este último diseño se encontraba el porcentaje de residualidad adecuado de la enzima (10%). Al optimizar el diseño se determinó que la combinación de los factores es de 60°Cx20s para mantener dicha actividad residual. La técnica empleada fue la espectrofotometría UV-Vis a 620nm. Además se determinó que el tratamiento óptimo conserva las propiedades fisicoquímicas, pues no posee diferencia significativa con una muestra de zumo fresco. Las pruebas sensoriales (color, olor, sabor y acidez) establecieron que no existe diferencia significativa entre el tratamiento óptimo y un zumo fresco pero si con un zumo pasteurizado a 90°Cx20s y finalmente las pruebas microbiológicas establecieron que los coliformes totales y fecales, levaduras/hongos y las esporas de Clostridium sulfito reductor, se encontraban bajo el valor admisible, mientras que no fue posible alcanzar este valor en los mesófilos. Adicional a esto se estudió la cantidad de enzima presente en el zumo por el método de Bradford y la reactivación de la enzima encontrando que no se reactiva durante 42 días bajo condiciones de refrigeración (4°C).

Palabras claves: Actividad enzimática, pectinmetilesterasa, tomate de árbol tratamiento térmico, propiedades fisicoquímicas.

ABSTRACT

The juice of tomato tree is affected by the enzyme pectin methyl esterase (PME), It is present by natural way in the fruit. Its inactivation is important because their activity results in the enzyme polygalacturonase (PG), and their combined action causes a reduction in pectic substances having as result the phase separation or loss of consistency, characteristics of this juice. An effective process for the inactivation of PME is the pasteurization, reason by which the objective of this investigation was to evaluate the effects of pasteurization for inactivation of the enzyme pectin methyl esterase partial, and some physicochemical properties and sensory tree tomato juice (*Solanum betaceum*). For which were realized two experimental design. First order at temperatures 40°C-90°C and second order at temperatures 50°C-60°C exposure time of 5s-20s, In this latest design was found the percentage of residual right of the enzyme (10%). When optimized the design is determined that the combination of factors is 60°Cx20s to maintain this residual activity. The technique used was the UV-Vis spectrophotometry at 620nm. Also determined that the optimal treatment preserves the physicochemical properties, There is not significant difference with a sample of fresh juice. Sensory testing (color, odor, flavor and acidity) established that there is not significant difference the optimal treatment and fresh juice but a fresh juice with juice pasteurized at 90°Cx20s and microbiological testing finally established that total and fecal coliforms, yeast / fungi and spores of Clostridium sulfite reducer, were under the value admissible, while it was not possible to reach this value in the mesophyll. In addition to this, we studied the amount of enzyme present in the juice by the method of Bradford and the reactivation of the enzyme is not reactivated finding for 42 days under refrigerated conditions (4°C).

Keywords: Enzyme activity, pectinmethylesterase, tree tomato, heat treatment, physicochemical properties.

INTRODUCCIÓN

El consumo de frutas en la dieta humana es de vital importancia por su aporte de vitaminas, minerales, fibra, agua, y otros nutrientes, además de la satisfacción de consumir un producto de características sensoriales tan variadas y agradables resultan un alimento ideal en niños, jóvenes, personas adultas o ancianas (Chamorro *et al.*, 2011).

En países tropicales como Colombia, la diversidad de frutas producidas es amplia, gracias a los diferentes climas y ecosistemas que naturalmente existen en la geografía. A pesar de la diversidad de frutas producidas en el país, su consumo promedio per cápita es de apenas 40 kg al año, cuando la organización mundial de la salud recomienda 120 Kg/año. El hecho se atribuye, básicamente, a cinco razones: a) baja producción, b) altas pérdidas post cosecha, estimadas en 30%, c) atraso tecnológico en el sector, d) bajo poder adquisitivo y e) deficiente formación nutricional de la mayor parte de la población (Gobernacion del Valle del Cauca, 2008).

En relación con la producción de frutas en Colombia, ésta aunque baja ha ido en aumento, este incremento en los últimos años puede atribuirse, en parte, al mayor consumo de jugos de frutas, gracias a que ha nacido un mayor interés de la población por bebidas a base de estas, como los jugos o néctares. Es de anotar que las mayores empresas de gaseosas del país, abrieron las líneas de producción de jugos, con el fin de atender esta creciente demanda (Universidad Nacional De Colombia, 2012).

El aumento de consumo de jugos y néctares ha generado una necesidad de desarrollo en el sector agroindustrial. Este desarrollo está ligado con el aumento de los cultivos tecnificados de aquellas especies de frutas con amplias posibilidades de ser comercializadas en fresco como en productos. (Universidad Nacional De Colombia, 2012). En el área andina se encuentra un grupo de frutales con potencial entre las frutas más cultivadas se encuentra cítricos, piña, papaya, guayaba, lulo, mora, mango, patilla las que coinciden con las empleadas en la obtención de derivados (Lobo, 2006)

Además el aumento del consumo ha demandado una diversificación de los zumos de frutas, de allí que los cultivos que disminuyeron su producción años atrás, en la actualidad se empiezan nuevamente a retomarse y a ser transformados, pues sus características fisicoquímicas y sensoriales los convierten en frutas potenciales en el mercado, este es el caso del tomate de árbol, el cual en la actualidad es objeto de investigaciones (Repo *et al.*, 2008).

El cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), es una alternativa productiva para algunos agricultores pues es una fruta muy aceptada por parte de los consumidores locales y de otras regiones del mundo (Repo *et al.*, 2008). En

Colombia y Ecuador el tomate de árbol ha adquirido cierto desarrollo. Siendo Colombia uno de los principales productores mundiales de esta fruta (Coorpoica *et al.*, 2005). Los departamentos en los que se cultiva son Antioquia, Cundinamarca, Boyacá, Tolima, Nariño y Huila, regiones cafeteras que poseen un clima templado (Repo *et al.*, 2008).

El zumo se obtiene después de exprimir el fruto fresco maduro y limpio, sin diluir, concentrar o fermentar. Una característica de los zumos de tomate de árbol y hoy objeto de investigación en otras frutas es la separación de fases o decoloración, pérdida de consistencia, debido a que este se ve afectado por enzimas pécticas como la pectinmetilesterasa (PME), presente de forma natural en esta fruta y que da lugar a la enzima poligalacturonasa (PG), cuya acción combinada causa una reducción en las sustancias pécticas presentes el zumo (Cruz *et al.*, 2006; Ferrer, 2007; Fernández, 2008; Odrizola, 2009).

Se ha determinado que este defecto ha causado en el zumo una baja comercialización, por lo que investigaciones han establecido que un proceso muy efectivo para la inactivación de PME es la pasteurización, su aplicación en zumos permite una buena apariencia, como además se ha establecido que dependiendo de la temperatura y tiempo de exposición es posible conservar las características fisicoquímicas y sensoriales similares a la materia prima de origen importante en este tipo de productos (Lewis *et al.*, 2005).

Por lo que las evaluaciones de las características físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales son de vital importancia en estos productos, pues permite establecer su estado después de haber aplicado un tratamiento térmico. Una limitante en muchos zumos de frutas es que no pueden ser estabilizados microbiológicamente solo por pasteurización, en estos casos se combinan otro tipo de tecnologías que permitan aumentar la vida útil del producto, evitando su deterioro y minimizando los riesgos de intoxicación (IFT, 2000).

La inactivación de PME permite obtener en la industria de los zumos un producto final con una buena presentación pues se evita la pérdida de las propiedades del zumo importante para el consumidor al momento de adquirir un producto. De allí que el objeto de esta investigación fue evaluar 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*), siendo objeto de investigación el cultivar manzano, debido a su mayor tamaño, cantidad de pulpa y por tanto mayor rendimiento, convirtiéndolo en un posible cultivar apto para la industria procesadora de zumos.

1. IDENTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los frutos exóticos colombianos se encuentran dentro de las nuevas preferencias mundiales debido a sus particulares características sensoriales y nutricionales, por lo que existe un gran mercado en países como los Estados Unidos, Canadá, Japón, Europa, Alemania España y Francia (Colombia MADR, 2008).

(Oliveros *et al.*, 2006), consideran que el tomate de árbol es un importante recurso andino tanto alimenticio como medicinal y que estudios futuros deberán atender su demanda como potencial cultivo comercial de gran aceptación. Sugieren además, que se deben orientar esfuerzos para la recuperación, producción, investigación y promoción de esta planta como una alternativa en la diversificación de los cultivos andinos (Oliveros *et al.*, 2006).

Una manera de buscar la inserción en mercados internacionales de las frutas, es mediante la producción de zumos (Subprograma de cooperación técnica, 2001). Algunos de los problemas que limitan la producción y comercialización de zumos son causados por la actividad enzimática, la cual puede prevalecer durante periodos posteriores al procesamiento de las frutas y ocasionando cambios que pueden influir en forma considerable sobre las características organolépticas, textura y presentación del producto terminado (Schmidt *et al.*, 2001)

Una de las enzimas más importantes presentes en el zumo de tomate de árbol es Pectinmetilesterasa (PME), responsable de la formación de fases o clarificación de los jugos debido a la solubilización de la pectina. Los productos de esta actividad sirven como sustrato para la enzima poligalacturonasa (PG), que también está presente en este fruto y da lugar a una disminución de la viscosidad del zumo (Jolie *et al.*, 2009).

La acción combinada de pectinmetilesterasa (PME) y poligalacturonasa (PG) conduce a una pérdida drástica de textura, viscosidad y separación de fases durante el procesamiento industrial y en consecuencia, disminuye la calidad de productos a base de tomate de árbol. Por lo que es lógico afirmar que con la inactivación de PME, se evitará la presencia de PG (Ferrer, 2007; Fernández, 2008; Odrizola, 2009; Cruz *et al.*, 2006).

Una característica importante de los zumos comerciales es su turbidez, ya que estos son sistemas bifásicos que están formados por una fase líquida y una fase sólida que es mantenida por las pectinas solubles y que es interrumpida debido a la presencia de la enzima PME (Schmidt *et al.*, 2001).

Para resolver el problema de la inactivación la PME se ha aplicado tratamientos térmicos, mediante el uso de altas temperaturas. Sin embargo, estos tratamientos drásticos dan lugar a una serie de problemas de calidad, tales como cambios de color, sabor y contenido nutricional del material procesado. Estas características

son fácilmente identificables en este tipo de productos (Fachin *et al.*, 2002). Por lo que los alimentos mínimamente procesados son en la actualidad demandados por el consumidor, los cuales garantice la mayor conservación de propiedades sensoriales y nutritivas propias del producto de origen (Lewis *et al.*, 2005).

El propósito de esta investigación es dar una mejor aspecto al producto haciéndolo más atractivo a la vista y dando una característica diferenciadora, un producto similar al natural. Vale la pena investigar el cómo dar solución a este problema presente en esta fruta y en todas las frutas que se comercialicen en forma de zumo, pues PME siempre va afectar la característica de calidad más importante para la adquisición del producto, su apariencia.

El problema que se presenta por la enzima PME, no es nuevo, ya que la enzima se encuentra de manera natural en la mayoría de las frutas, y siendo objeto de investigación en algunas de ellas, como la naranja, mandarina y tejocote, pero en cada una de las frutas las condiciones de inactivación cambian. En conclusión se hace necesario investigar la inactivación de la enzima, para cada fruta e incluso para cada variedad de fruta, si se desea obtener un producto tratado adecuadamente. Con esta investigación se desea inactivar la enzima con temperatura y tiempo mínimo, ya que además de la inactivación de PME se desea conservar la mayor cantidad de propiedades organolépticas y nutritivas propias del tomate de árbol. De esta manera se busca avanzar hacia la industrialización de este fruto promisorio, brindando así una alternativa tecnológica para su procesamiento.

Por lo cual se identificó en esta investigación cual de los tratamiento térmico entre los planteados inactivó parcialmente la enzima PME involucrada en el cambio de turbidez del zumo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y que efecto produjo dicho tratamiento térmico sobre las propiedades fisicoquímicas microbiológicas y sensoriales zumo.

2. JUSTIFICACIÓN

El tomate de árbol es una fruta exótica cultivada en varias partes del mundo. En el 2009 los principales productores de tomate de árbol fueron Nueva Zelanda, Kenia, Sri Lanka, India, Colombia, Zambia y Zimbabwe, aunque también existen cultivos comerciales en Ecuador y Chile (Colombia MADR, 2009). Los principales mercados son países como: Estados Unidos, Canadá, Japón, Europa, Alemania España y Francia, en los cuales la demanda ha ido incrementándose año tras año (Colombia MADR, 2008).

En Colombia los cultivos de frutales han adquirido un incremento considerable, el cual se evidencia con el aumento del área destinada a su siembra. Esta actividad agrícola se perfila como una alternativa económica dada la creciente demanda de frutas frescas y procesadas en los mercados nacionales e internacionales (Colombia MADR, 2009). En el país la producción de tomate de árbol anual asciende a 132.000 toneladas, siendo los principales productores los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Boyacá, Tolima, Nariño y Huila, quienes contribuyen con 90%, del total de la producción del país. La principal ventaja es la existencia de producción durante todo el año mientras que otros países como Nueva Zelanda solo disponen de la fruta en determinadas épocas del año (Colombia MADR, 2008).

Nariño es un departamento con gran producción en el sector hortofrutícola, aportando el 17.27% (\$653.542 millones) del PIB departamental y el 85.3% del total del sector agrícola. Entre los productos hortofrutícolas que hoy se destacan se encuentra el tomate de árbol, cultivado en 25 de 32 municipios del departamento, con un área sembrada de 437,9 Has. Los principales municipios productores son: Funes, El Tambo, Contadero, Cumbal, la Florida, Túquerres y Córdoba. La producción anual del departamento es de 3384,6 Ton. Siendo su principal comercialización en fresco (Colombia MADR, 2008).

La revalorización de frutas nativas, poco conocidas fuera de sus regiones de origen y de gran beneficio para la economía de Colombia, tales como el tomate de árbol, son una alternativa productiva para los agricultores, gracias a las ventajas competitivas que estos poseen como nichos ecológicos adecuados para la producción, posibilidades de creación de capital a nivel de los productores, potencial agroindustrial y aceptación de las frutas por parte de los consumidores locales y de otras regiones del mundo (Coorpoica et al., 2005).

Además el tomate de árbol, es apreciado por sus excelentes cualidades nutritivas que han sido poco difundidas, resaltando entre ellas especialmente sus propiedades de reducción de colesterol, su alto contenido de fibra, vitaminas A, E B, C y K, su bajo nivel de calorías. Es rico en minerales, especialmente calcio, hierro y fósforo; contiene niveles importantes de proteína, azúcares, materias gelificantes (pectinas), materias antioxidantes, ácidos, fortalece el sistema

inmunológico y la visión, además estudios realizados indican que contiene sustancias como el ácido gamma aminobutírico, que disminuye la tensión arterial (Oliveros *et al.*, 2006; Ramirez, 2008; Revista colombiana inteligente, 2009).

Desafortunadamente el tomate de árbol es una fruta que presenta escasa industrialización, a pesar de tener características físicas, químicas y sensoriales como las anteriormente nombradas y similares a las que poseen las mejores frutas que actualmente se consumen en el mundo, no se le da la importancia que merece dentro de la alimentación humana (Ramirez, 2008).

El tomate de árbol es una fruta muy versátil en cuanto a variedad de preparaciones. La forma de consumo de los frutos varía según la región. Principalmente se consume en fresco, es decir, sin mayor grado de procesamiento, aunque se presenta un problema de consumo directo, ya que la cáscara produce un sabor desagradable. De allí que se requiera comercializar este producto en otras presentaciones. Los usos más comunes es la preparación de ensaladas de frutas, helados, jaleas, mermeladas, néctares y una variedad de dulces, platos con sabores combinados, pero en mayor porcentaje en la preparación de jugos o zumos (Oliveros *et al.*, 2006).

Industrialmente, el tomate de árbol se puede procesar y comercializar en zumos y néctares con resultados muy satisfactorios, ofreciendo un rendimiento de 83 a 86% en zumo, en comparación a otras frutas como el mango, melón y la tuna, que ofrecen rendimientos de 64%, 59%, 45% respectivamente (Ramirez, 2008).

Según AGRONET con base en el DANE, en Colombia las exportaciones del zumo de tomate de árbol en el 2004, fueron de 40,78 ton, para el 2005 de 41,71 ton, pero desde el 2006 han disminuido hasta llegar en el 2009 a reportar 0,00 ton en sus exportaciones (Colombia MADR, 2009).

Es notorio el cambio de preferencias de los consumidores, pues los productos elaborados en Colombia no llenan las expectativas ni las tendencias de los consumidores hacia productos mínimamente procesados. Ya que la estabilización de los zumos en el país se realiza mediante tratamientos térmicos a altas temperaturas y tiempos prolongados de exposición, originando cambios desfavorables en las propiedades del zumo; en lugar de combinar la pasteurización con otros tipos de tecnologías (IFT, 2000).

Entre los agentes causales de deterioro en los jugos vegetales se encuentran las enzimas. Estas son de gran interés en la tecnología de alimentos, debido a su influencia sobre la calidad de frutas, vegetales crudos y procesados (Carbonell *et al.*, 2006; Cardarelli, 2002).

La actividad de PME es la responsable de la disminución de la calidad de los alimentos, incluyendo la decoloración o formación de fases, sabores

desagradables y la modificación de la viscosidad, por lo que varios autores coinciden que debe ser inactivada en el momento oportuno (Cruz *et al.*, 2006; Ferrer, 2007; Fernández, 2008; Odrizola, 2009). Los jugos de tomate, naranja, limón, toronja, entre otros, deben sus propiedades físicas a la pectina la cual se desestabiliza por la acción de la enzima, provocando su precipitación y pérdida de características, consecuentemente la aceptación del zumo por parte del consumidor es baja (Guerrero, 2008).

La investigación se caracterizó por ser un complemento de trabajos ya existentes sobre la enzima PME en otras frutas, así como una alternativa o base de información para posteriores trabajos, en donde se busque mejorar el desarrollo científico y tecnológico para el beneficio de la industria alimentaria.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar 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*).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar mediante diseños experimentales los factores óptimos (tiempo y temperatura) de pasteurización para la inactivación parcial de la enzima PME del zumo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*).
- Valorar los efectos del tratamiento térmico óptimo sobre algunas propiedades fisicoquímicas y sensoriales del zumo del tomate de árbol (*Solanum betaceum*).
- Determinar las características microbiológicas del zumo del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) posterior al tratamiento térmico óptimo aplicado.

4. MARCO TEORICO

4.1 TOMATE DE ÁRBOL

Esta fruta exótica semiácida es originaria de la vertiente oriental de los Andes, específicamente Perú, Ecuador y Colombia, disperso en otros países de la región andina como Chile, norte de Argentina, Ecuador y Bolivia donde es producido extensivamente, con la finalidad de exportar y aprovechar sus frutos comestibles. (Ocampo *et al.*, 2009; Oliveros *et al.*, 2006).

El tomate de árbol, se encuentra desde el nivel del mar hasta los 3000 m de altura. Es una planta de climas templados y fríos. Su temperatura está entre 13°C a 24°C, siendo la óptima entre 16°C y 19°C (Oliveros *et al.*, 2006).

Es una baya aromática de forma ovoidal, de cáscara gruesa, lisa, brillante y cerácea, en tonos ladrillo, rojos, naranjas y amarillos, pulpa naranja, rojo y amarillo según la variedad, con semillas planas, circulares, pequeñas, tiernas y comestibles, esta fruta es ligeramente firme, suave y jugosa, con un sabor agridulce. (Ocampo *et al.*, 2009; Repo *et al.*, 2008).

Figura 1. Fruto tomate de árbol cultivar manzano (*Solanum betaceum*)



Fuente: esta investigación

El zumo proviene principalmente de las vacuolas celulares en donde éste se encuentra naturalmente de forma opaca, al momento de extraer el jugo y romper las células los componentes de alto peso molecular que se encuentran originalmente en los organelos y el citoplasma pasan a formar parte del jugo junto con la membrana y la pectina. Este material de suspensión coloidal proporciona la turbidez del zumo (Hermann *et al.*, 2001).

Es utilizado en la preparación de mermeladas, helados, y jaleas, pero en mayor proporción para consumo en fresco, zumos y néctares (Oliveros *et al.*, 2006; Ramirez, 2008; Revista colombiana inteligente, 2009).

Cuadro 1. Composición fisicoquímica y valor nutricional tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

Componentes	Contenido por 100g de parte comestible
Acidez	1,93 – 1,60
° Brix	11,60 – 10,50
Calorias	30
pH	3,17 – 3,80
Humedad	86,03 – 87,07 %
Carbohidratos	7 g
Ceniza	0,60 g
Fibra	1,1 g
Materia seca	10g
Proteína	2,00 g
Sales minerales	
Calcio	9 mg
Fósforo	41 – 37 mg
Hierro	0,9mg
Vitaminas	
Niacina	1,07 mg
Riboflabina	0,03 mg
Tiamina	0,1 mg
Caroteno	1000 IU
Vitamina C	30 mg

Estos valores difieren según la variedad de tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

Fuente: (Ramirez, 2008)

4.2 ENZIMAS

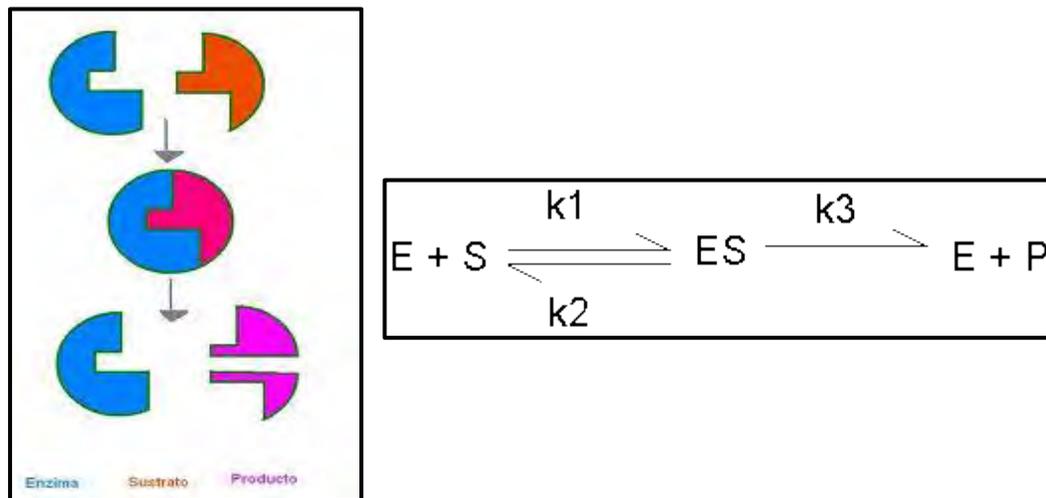
Una enzima es un catalizador biológico que lleva a cabo reacciones bioquímicas a muy altas velocidades y con un elevado grado de especificidad; en su ausencia, la mayoría de las transformaciones químicas requeridas para mantener activas las células tardarían mucho tiempo en efectuarse o simplemente no se realizarían (Badui, 1999).

Generalmente son proteínas globulares que pueden presentar tamaños muy variables, que catalizan reacciones químicas específicas, siempre que sea termodinámicamente posible, ya que para mantener su actividad, deben mantener su estructura. Casi todas las enzimas son mucho más grandes que los sustratos

sobre los que actúan, y solo una pequeña parte de la enzima (alrededor de 3 a 4 aminoácidos) está directamente involucrada en la reacción (Chen *et al.*, 1992).

Michaelis y Menten propusieron que las reacciones catalizadas enzimáticamente ocurren en dos etapas: En la primera etapa se forma el complejo enzima-sustrato y en la segunda, el complejo enzima-sustrato da lugar a la formación del producto y enzima libre (Figura 2) (Ribeiro, 2006).

Figura 2. Reacción catalizada enzimáticamente



Fuente: (Ribeiro, 2006)

El nombre de una enzima consta de 3 partes: el **sustrato** preferente + **acción** típica + terminación "**asa**" (Ribeiro, 2006).

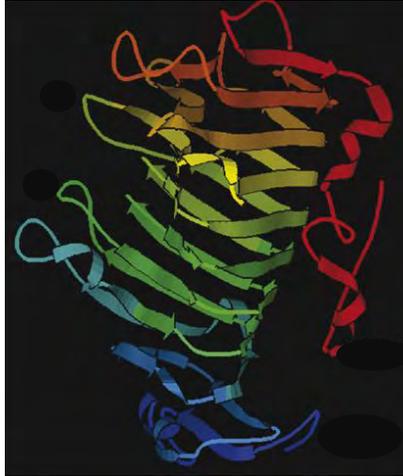
Ante la necesidad de establecer una nomenclatura inequívoca para las enzimas, se creó una Comisión Enzimática para establecer unas normas que permitan nombrar las enzimas. Así, el nombre de cada enzima consiste en un código alfanumérico, encabezado por las letras EC (*Enzyme Commission*), seguido de cuatro números separados por puntos (NC-IUBMB, 2011). El primer número corresponde a cada una de las seis grandes clases o grupos en que se han dividido las enzimas, en función de su acción catalítica específica. El segundo número hace referencia a las distintas subclases dentro de cada clase, y el tercero y el cuarto se refieren a los grupos químicos específicos que intervienen en la reacción (NC-IUBMB, 2011).

4.2.1 Pectinmetilesterasa (PME). La pectinmetilesterasa, PME (EC 3.1.1.11) está presente en plantas superiores. Denominada pectinesterasa, pectasa, pectin demetoxilasa. Ataca a la cadena de pectina dejando residuos de ácido galacturónico. Esto provoca la liberación del metanol, pectinas de bajo metoxilo y formación de ácido péctico que afectan el pH. Consecuentemente, mejora la actividad de otras enzimas hidrolíticas, como poligalacturonasa (PG) y además da lugar a una disminución de la solubilidad de la pectina siendo la principal consecuencia la separación de fases o decoloración causándoles pérdida de turbidez, gelificación, formación de sabores desagradables, modificación de la textura y reducción en la viscosidad o pérdida de consistencia (Cruz *et al.*, 2006; Ferrer, 2007; Fernández, 2008; Odriozola, 2009).

Las enzimas pécticas se pueden clasificar dependiendo del tipo de actividad que catalizan, en dos grupos: desesterificantes que catalizan la hidrólisis de los ésteres metilos del ácido poligalacturónico liberando metanol al medio y convirtiendo a las pectinas en ácidos pécticos y las despolimerizantes que son capaces de desdoblar las cadenas de ácido poligalacturónico de diversos grados de esterificación, en moléculas de menor tamaño, la PME pertenece al primer grupo de enzimas pécticas (Odriozola, 2009).

Para dar solución a estos problemas el calor es uno de los medios más utilizados en la inactivación de la enzima, ya que la mayoría son termolábiles. El efecto desnaturizante de la temperatura se produce al desorganizar totalmente la estructura de la macromolécula, provocándole muchos cambios de solubilidad (coagulación), digestibilidad, etc. (Cruz *et al.*, 2006). Como también debido probablemente a la formación de un entrecruzamiento por cationes divalentes Ca^{2+} y Mg^{2+} que se descompartimentan dentro de las células durante el calentamiento. El pH óptimo para la pectinesterasa proveniente de plantas se encuentran en un rango ligeramente alcalino, pH 7- 9 (Fernández, 2008).

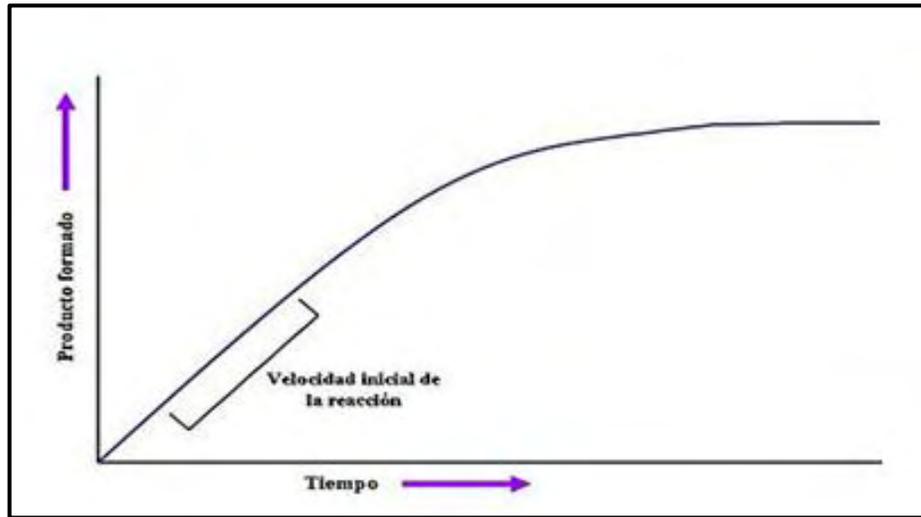
Figura 3. Estructura de la enzima pectinmetilesterasa



Fuente: (Pelloux *et al.*, 2007)

4.2.2 Cinética enzimática. La cinética enzimática estudia la velocidad de las reacciones catalizadas por las enzimas, proporcionando información acerca de su mecanismo de reacción catalítica y de su especificidad. Esta se determina al medir la velocidad de aparición de un producto o la desaparición de un sustrato en función del tiempo de donde se obtiene la llamada curva de avance de la reacción o la cinética de la reacción. Cuando la reacción transcurre, la velocidad de acumulación del producto va disminuyendo porque se va consumiendo el sustrato de la reacción. Por lo que se mide la velocidad inicial de la reacción (v_0), igual a la pendiente de parte lineal de la curva de avance desde el tiempo cero (Figura 4). De esta forma se puede considerar al sustrato como constante a lo largo de la reacción, no es necesario considerar la reacción siguiente ya que la cantidad de producto formada es tan pequeña que la reacción apenas ocurre (Ribeiro, 2006).

Figura 4. Curva de avance de la reacción enzimática



Fuente: (Ribeiro, 2006)

4.3 TRATAMIENTOS TERMICOS PARA LA INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA

Para prevenir cambios indeseables que ocurren durante las siguientes etapas de los procesos o durante el almacenamiento de productos a base de frutas como los zumos, estos son generalmente sujetos a algún tipo de tratamiento térmico como escaldado, pasteurización, o esterilización comercial, con el fin de inactivar enzimas y destruir microorganismos causantes de dichos cambios (Guerrero, 2008; Hermann *et al.*, 2001).

Cualquier temperatura superior a la máxima de crecimiento de un determinado microorganismo resulta fatal para el mismo, y cuanto más elevada es la temperatura en cuestión tanto más rápida es la pérdida de viabilidad. Sin embargo, la letalidad de cualquier exposición a una determinada temperatura por encima de la máxima de crecimiento depende de la termo-resistencia, característica fundamental del microorganismo considerado, por lo que se debe tener en cuenta la relación temperatura-tiempo (Abril *et al.*, 2004).

Se debe considerar que los tratamientos térmicos en alimentos pueden llevar a pérdidas de características organolépticas como color, textura, sabor y características nutricionales. Por ésta razón es necesario encontrar la relación temperatura - tiempo adecuado que inactive la enzima para conservar la mayor cantidad de características (Guerrero, 2008).

La pasteurización es un proceso relativamente suave, que contribuye con el aumento de la vida útil del alimento sobre el que se aplica, siempre que se mantenga posteriormente refrigerado o se complemente con otro método de

conservación (Pelayo, 2007). Emplea generalmente temperaturas por debajo del punto de ebullición (Temperaturas inferiores a 100°C), ya que en la mayoría de los casos las temperaturas por encima de este valor afectan irreversiblemente las características físicas y químicas del producto. Este método consiste en exponer durante un tiempo, la materia prima una temperatura determinada (Lewis *et al.*, 2005; Luiz *et al.*, 2007).

En el Cuadro 2 se puede observar que la cinética de inactivación de la enzima PME por pasteurización, dado por los valores D y z es variada, pues el tiempo (min) necesario para que el número de supervivientes caiga al 10% del valor inicial (valor D) y el incremento en la temperatura necesario para que este valor D reduzca (valor z), depende del tiempo y temperatura de inactivación y de la resistencia que le confiere el sustrato donde se encuentre la enzima (Silva *et al.*, 2004).

Cuadro 2. Termo- resistencia de PME

Fruta	pH	Solidos solubles (°Brix)	Temperatura (°C)	Valor D (min)	Valor z (°C)	Rango Temperatura (°C)
Mandarina	3.6	12	85	2.2	11.4	82-94
Mandarina	4.0	12	85	3.6	10.1	82-94
Papaya	4.0	10-12	85	3.9	15.0	82-102
Papaya	3.8	14	85	5.0	15.1	75-85
	3.5	7-9	85	4.8	14.8	-
	4.0	-	85	7.2	14.2	

Fuente: (Silva *et al.*, 2004)

En cuanto a la actividad residual varios autores coinciden en que el porcentaje de residualidad de la enzima para zumos pasteurizados debe ser de un 10% con respecto a su valor inicial, aunque que se debe tener en cuenta tanto los resultados sensoriales, físicos y químicos que se desea obtener. Así, los tratamientos de calor deben ser ajustados para producir un nivel adecuado de inactivación enzimática y mantener inalterado el sabor fresco como sea posible. (Espachs-Barroso *et al.*, 2006; Irwe *et al.*, 1994; Sentandreu *et al.*, 2007; Carbonell *et al.*, 2006; Gordon *et al.*, 2002; Rivas *et al.*, 2005; Ingallinera *et al.*, 2005; Osorio *et al.*, 2008; Torres *et al.*, 2008).

4.4 METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA

4.4.1 Obtención del extracto enzimático. La enzima PME ha sido estudiada en varios zumos de frutas para lo cual se ha tomado una alícuota de zumo, se mezclan con cloruro de sodio (NaCl) y polivinilpirrolidona (PVPP), esta solución se agita, centrifuga a 4°C y posteriormente se mide su actividad enzimática. En el Cuadro 3 se indica algunos estudios realizados.

Cuadro 3. Condiciones de obtención de extractos enzimáticos en diversos productos

Producto	Proporción			Agitación	Centrifugación		Ref.
	Zumo	NaCl	PPVP		rpm	Tiempo	
Frambuesa	10mL			1h	12000	2 min	(Jakób <i>et al.</i> , 2009)
Naranja	4,5 g	15 mL			15000	20 min	(Tiwari <i>et al.</i> , 2009)
Frutilla	5g	15 mL	0,05g	4h	10000	30 min	(Vicente, 2004)
Tejido vegetal	1g	3g	0,05g	1h	10000	50 min	(Hagerman <i>et al.</i>)

Fuente: esta investigación

4.4.2 Inactivación térmica de PME. Los tratamientos térmicos para inactivación de PME son variados y dependen del sustrato donde se encuentre la enzima. En el Cuadro 4 se resumen algunos ejemplos de inactivación de la enzima.

Cuadro 4. Condiciones de inactivación térmica de PME en diversos productos

Producto	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Ref.
Jugo de mandarina y naranja híbrido	70-95	5-20	(Sentandreu, et al., 2007)
Jugo de fresa	75-90	15-20	(Osorio, et al., 2008)
Jugo de zanahoria	20-70	10-20	(Talham, et al., 2004)

Fuente: esta investigación

4.4.3 Medición de la actividad enzimática. Para la medición de la actividad enzimática de PME se utilizó metodologías reportadas en bibliografía (Cuadro 5). La actividad de PME se determinó mediante espectrofotometría, midiendo el cambio de absorbancia causado por el descenso del pH que se produce cuando la enzima presente en el jugo, hidroliza pectina, formando de esta manera ácido péctico, este ocasiona que azul de bromotimol (indicador), cambie de color pasando de un azul a amarillo, lo que es medido y reportado como actividad de la enzima. (Jakób *et al.*, 2009; Tiwari *et al.*, 2009; Vicente, 2004).

Cuadro 5. Condiciones para medición de la actividad enzimática de PME

Producto	Zumo	Pectina cítrica 0,5%	Azul de bromotimol en buffer fosfato al 0,0003M	pH	Long. de onda (nm)	Agua destilada	Ref.
Frambuesa	500 µL	50 g/L	0,1g/L	7,5	620	-	(Jakób <i>et al.</i> , 2009)
Naranja	10 µL	1 mL	75 µL	7,5	620	500 µL	(Tiwari <i>et al.</i> , 2009)
Frutilla	100 mL	600 mL	150 mL	7,5	620	100 mL	(Vicente, 2004)

Fuente: esta investigación

La actividad enzimática se determinó como el cambio de absorbancia por min ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$) bajo las condiciones de ensayo a 25°C (Rudra *et al.*, 2008).

4.5 EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS SENSORIALES, FISCOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS

Es importante establecer en los zumos pasteurizados sus características sensoriales, físicas, químicas y microbiológicas después de realizar un tratamiento térmico pues son susceptibles a cambios debido al calor. Estas características son transcendentales ya que el consumidor las puede percibir y establecer la calidad de un producto. A continuación se mencionan algunos estudios realizados en frutas.

En la pulpa de badea pasteurizada se analizaron propiedades fisicoquímicas como el pH, °Brix, acidez y ácido ascórbico y se determinó que los tratamientos con calor inducen a cambios químicos y bioquímicos indeseables como el oscurecimiento no enzimático y deterioro de vitaminas, sabor, textura, color, concentración de azúcares y aminoácidos. Mientras que para la evaluación sensorial utilizó la prueba triangular. Llegando a la conclusión mediante análisis estadístico que existe diferencia significativa entre las muestras evaluadas (zumo pasteurizado y el natural) (Guerrero, 2008).

Estudios realizados en jugos de naranja y de zanahoria mezclado, sobre el efecto causado por los campos de pulsos eléctricos y 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 HTST y las características sensoriales del zumo tratado con pulsos eléctricos fueron similares al jugo fresco. Sin embargo, la pasteurización por calor fue más eficiente en inactivación de la flora microbiana y PME, pues su reactivación se estudió a 2 y 12°C durante 10 semanas. Mientras que la vida útil de los zumos tratados con pulsos eléctricos se estableció como 4 semanas (Rivas et al., 2005).

(Koffi *et al.*, 2010), realizó un análisis sensorial en jugos de palma palmyrah (*Borassus aethiopum*) para lo cual efectuó una capacitación sistemática empleando 16 estudiantes, utilizó una escala de aceptabilidad de tres (Sabe muy bien, inaceptable y aceptable). La mayoría de los paneles consumidores (93%) encuentran el jugo aceptable. También analizó las azúcares predominante, y determinó que la sacarosa estaba en 47 mg / mL, seguido de la glucosa 24,6 mg / mL y la fructosa 16,5 mg / mL (Koffi *et al.*, 2010).

Existen diversas pruebas sensoriales, en esta investigación se utilizaran dos: la pruebas sensoriales discriminativas (pruebas de ordenamiento), las cuales permiten definir propiedades y medirlas una manera objetiva, estas proporcionan información valiosa 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 5 y máximo 17 jueces. Y la prueba

sensorial afectiva, (prueba de medición del grado de satisfacción con escala hedónica verbal) la cual indican si un producto gusta o disgusta, para este tipo de pruebas se utilizan mínimo 30 personas, llamadas jueces consumidores, se trata de personas que no tienen nada que ver con las pruebas sensoriales y que son tomadas al azar en ambientes cotidianos (Anzaldúa-Morales, 1994; NTC 4129; NTC 3925; NTC 3930).

4.6 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE BRADFORD

El método de Bradford ha sido ampliamente utilizado para la cuantificación de enzimas como polifenol oxidasa (PPO), peroxidasa (POD) y pectinmetilesterasa (PME), como lo indican los siguientes estudios:

Estudios realizados para la determinación de pectinmetilesterasa extraída de la pulpa de pomelo se realizó de acuerdo con la metodología reportada por Bradford (1976) para la cuantificación de proteínas, utilizó el kit de ensayo de proteínas, BioRad, Hercules, CA, un ensayo de placa de microtitulación, de acuerdo con las instrucciones del fabricante y una curva de calibración con el estándar IgG (Corredig *et al.*, 2000).

(Hirsch *et al.*, 2008), estudió el efecto de tratamientos térmicos y el almacenamiento sobre las enzimas pectinmetilesterasa y peroxidasa en el jugo de naranja. Determinó la cantidad de proteína por el método de Bradford, usando albúmina de suero bovino como referencia para la curva de calibración y estableció que el aumento de temperatura mejora la retención de la turbidez pero causa un impacto inverso en estabilidad de la proteína, pues posterior al tratamiento térmico esta se encontró un 50% menos (Hirsch *et al.*, 2008).

El método de Bradford y BSA como estándar no solo se ha utilizado en zumos, la presencia de la enzima 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. Se encontró que la cantidad de pectinmetilesterasa y glucosidasa se redujo con la producción de etileno en la maduración post-cosecha (Cardarelli, 2002).

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 ADQUISICIÓN DEL TOMATE DE ÁRBOL

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*) cultivar Manzano fue adquirido en diferentes zonas del departamento, para obtener un resultado global de la actividad de PME en este cultivar, en el Cuadro 6 se indican los datos de los municipios donde se obtuvo la muestra.

Cuadro 6. Municipios de adquisición de muestra

Municipio	Lugar	ASNM	Latitud	Longitud
Buesaco	Pajajoy	2100	1°8'7.05"	77°10'52.2"
	Pajajoy	2139	1°21'15.22"	77°10'55.1"
	Pajajoy	2159	1°21'55.58"	77°10'56.4"
	Vda. Veracruz	2073	1°21'56.3"	77°09'50"
	El Bado	2109	1°19'41"	77°09'1.3"
	El Bado	2109	1°19'41"	77°09'1.3"
	Casco Urbano	2020	1°22'20.1"	77°09'33.8"
	Casco Urbano	2029	1°22'16,2"	77°09'33.3"
Arboleda	La Cocha	2040	1°31'26.4"	77°06'11.9"
San pedro de Cartago	La Rinconada	2112	1°30'29"	77°06'40.4"
	La Rinconada	2112	1°30'29.8"	77°06'40.08"
	La Rinconada	2112	1°30'29.51"	77°06'40.15"
	La Rinconada	2112	1°30'30.01"	77°06'40.32"
	Botanilla	2125	1°30'36.8"	77°06'32.9"
	Botanilla	2132	1°31'1.2"	77°05'46.6"
	Martín	2194	1°32'18"	77°08'31.6"
Pasto	La Caldera	2118	1°20'08,6"	77°20'09,5"
	La Caldera	2028	1°20'41,8"	77°19'37,2"
	La Caldera	2066	1°19'58"	77°20'29,6"
	La Caldera	2056	1°20'00,4"	77°20'30,2"
	Pradera Alta	2361	1°17'35,1"	77°21'33,0"
	Pradera Alta	2361	1°17'35,1"	77°21'33"
	Pradera Alta	2361	1°17'35,1"	77°21'33"
	Pasto	2660	1°08'42,7"	77°16'40,6"
	Pasto	2648	1°14'14,9"	77°16'21,2"
	Pasto	2616	1°12'10,6"	77°15'41,2"
Guaitarilla	La Ciénaga	2760	1°07'06,2"	77°33'05,0"
	La Ciénaga	2749	1°07'09,6"	77°33'08,8"
	La Ciénaga	2658	1°07'08,0"	77°33'14,5"
	Casco Urbano	2633	1°08'01,3"	77°32'54,9"

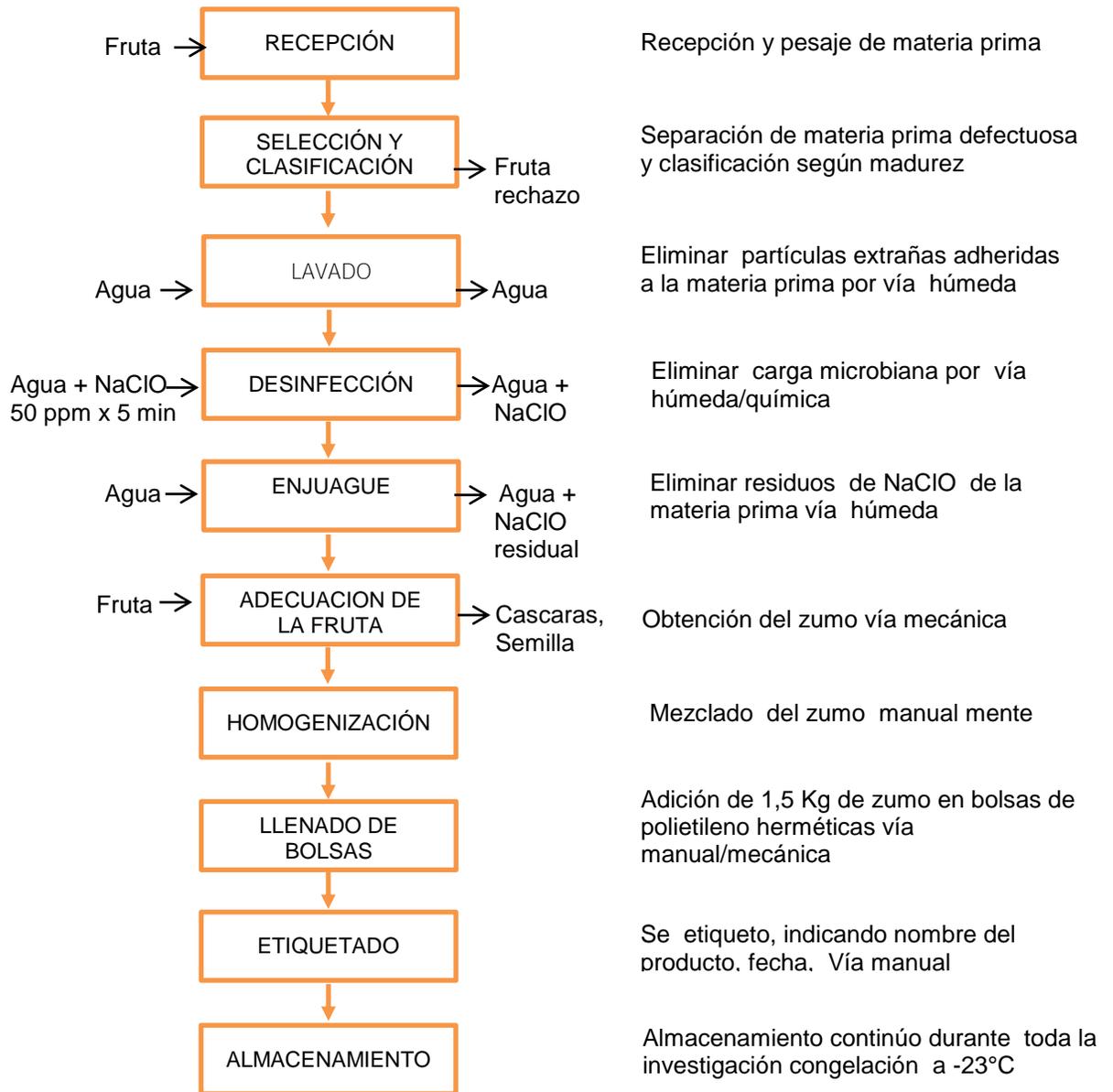
	Motilón	2520	1°08'30,1"	77°32'20,0"
	San Antonio Alto	2554	1°08'44,3"	77°32'15,3"
Contadero	La Proviencia	2391	00°54'32,8"	77°31'50,6"
	La Proviencia	2391	00°54'32,8"	77°31'50,6"
San Juan	El Rosal	2532	00°53'14"	77°33'23,8"
	Chair	2432	00°52'57"	77°32'5"
	Chair	2526	00°52'21,5"	77°33'23,9"
	Chair	2525	00°52'21,7"	77°33'23,4"
Córdoba	Chair	2556	00°51'51,1"	77°33'14,7"
	El Mirador	2730	00°52'31"	77°32'56,8"
	El Mirador	2703	00°52'23"	77°33'3,8"
	El Mirador	2703	00°51'48,2"	77°33'14,2"
	Chair	2590	00°51'47,5"	77°33'13,2"
	Chair	2602	00°51'40,9"	77°33'22,3"
	Guitungal	262	00°50'48,5"	77°33'15,9"
	Cordoba	2580	00°50'8,2"	77°33'13,7"
Potosí	Potosí	2648	00°49'58,9"	77°33'32,7"
	Potosí	2670	00°49'20"	77°37'58,7"
Ipiales	Ipiales	2938	00°50'48,1"	77°33'16,1"
	Ipiales	2938	00°50'48,1"	77°33'16,1"
	Ipiales	2938	00°50'48,1"	77°33'16,1"

Fuente: (Lagos, 2009)

5.2 EXTRACCIÓN DEL ZUMO

El diagrama 1 indica los pasos que se llevaron a cabo para la extracción del zumo de tomate de árbol.

Diagrama 1. Extracción de zumo de tomate de árbol



Fuente: esta investigación

Estos procedimientos se llevaron a cabo en la Planta Piloto de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño.

Figura 5. Licuadora industrial



Fuente: esta investigación

5.3 DISEÑOS EXPERIMENTALES

Debido a que no se han reportado estudios en tomate de árbol para encontrar las condiciones óptimas de pasteurización (tiempo y temperatura) e inactivar parcialmente la enzima, se planteó un diseño experimental, basado en temperaturas y tiempos de estudio realizados en: Frutilla (Vicente, 2004), Jugo de mandarina (Sentandreu et al., 2007), Jugo de naranja (Carbonell et al., 2006), Tejocote (Vivar et al., 2005), fresa (Osorio, et al., 2008) y Tomate de mesa (Fachin et al., 2002),

Se planteó un diseño factorial multinivel, con metodología superficie de respuestas, con temperaturas desde los 40°C y 90°C, por tiempos de exposición entre los 5s-20s y como variable de respuesta la actividad residual. El análisis estadístico de los datos fue realizado con ayuda del programa estadístico STATGRAPHICS CENTURION XVI.

Con este diseño se encontró un rango de temperaturas más reducido para posteriormente plantear un diseño de composición central y finalmente encontrar el punto óptimo de inactivación de la enzima PME en tomate de árbol.

5.3.1 Diseño factorial multinivel, con metodología de superficie de respuesta. En este diseño se consideran los diferentes factores o eventos que influyen sobre la variable de respuesta a optimizar.

Cuadro 7. Matriz del diseño experimental

Bloque	Temperatura (°C)	Tiempo (s)
1	40	20
1	40	5
1	40	12
1	50	5
1	50	12
1	50	20
1	60	12
1	60	5
1	60	20
1	70	5
1	70	12
1	70	20
1	80	20
1	80	5
1	80	12
1	90	20
1	90	12
1	90	5

Fuente: esta investigación

Los atributos del diseño factorial multinivel son los siguientes:

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 4

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 72

Aleatorizado: Sí

Cuadro 8. Factores experimentales del DFM

Factores	Unidades	Bajo	Alto	Niveles
A:Temperatura	°C	40,0	90,0	6
B:Tiempo	s	5,0	20,0	3

Fuente: esta investigación

Cuadro 9. Variable de respuesta del DFM

Respuesta	Unidades
Actividad Residual	%

Fuente: esta investigación

5.3.2 Diseño de composición central: 2²+ puntos estrella, con metodología de superficie de respuesta. El diseño de composición central: 2²+puntos estrella, (DCC) se utilizó en la etapa de búsqueda del segundo orden debido a su flexibilidad. 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 o fraccionados.
- Γ_0 puntos o repeticiones al centro del diseño, con $\Gamma_0 \geq 1$.
- Dos puntos sobre cada eje, llamados porción axial.

Cuadro 10. Matriz del diseño experimental.

Bloque	Temperatura (°C)	Tiempo (s)
1	50	5
1	60	20
1	62	12
1	55	23
1	55	12
1	50	20
1	48	12
1	55	2
1	60	5
1	55	12

Fuente: esta investigación

Los atributos del Diseño de composición central: 2^2 +punros estrella utilizado son:

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 3

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 30

Aleatorizado: Sí

Cuadro 11. Factores experimentales del DCC

Nombre	Unidades	Bajo	Alto
A:Temperatura	°C	50,0	60,0
B:Tiempo	s	5,0	20,0

Fuente: esta investigación

5.3.3 Optimización de los factores del proceso. La utilización del diseño factorial con metodología superficie de respuesta permitió encontrar las condiciones de operación óptimas de un proceso que implica la mejor combinación posible de los factores, mediante la opción optimizar.

Cuadro 12. Variable de respuesta del DCC y destino

Respuesta	Unidades	Destino
Actividad Residual	%	10

Fuente: esta investigación

5.3.4 Análisis estadístico. La significancia estadística de los factores sobre la variable de respuesta y características estudiadas se estableció por medio de los siguientes análisis:

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

5.4 TRATAMIENTO TÉRMICO

Para el tratamiento térmico se tomaron 6g de zumo en tubos de ensayo, los cuales se sometieron a los diferentes tiempos y temperaturas de acuerdo a la matriz del diseño de experimentos.

El equipo utilizado para el tratamiento térmico fue un baño termostático (Figura 7), y un baño de hielo para realizar el choque térmico.

Figura 6. Baño Termostático



Fuente: esta investigación

5.5 PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA

Se utilizó la metodología reportada por (Vicente, 2004) y modificado para esta investigación.

Se tomaron 5 g de tomate de árbol con 15 mL de cloruro de sodio (NaCl) 1 M y 0,04 g de polivinilpirrolidona (PVPP). La suspensión obtenida se agitó por 1 h a 200 rpm a temperatura ambiente y luego se centrifugó a 10.000 rpm por 1 hora a 4°C, se utilizó tubos fálcon de 15 mL. Se recogió el sobrenadante el cual es el extracto enzimático (Figura 8) esta muestra se mantuvo en refrigeración. Se obtiene un extracto enzimático a pH 3 y antes de ser utilizada se ajusta el pH 7,5.

Figura 7. Plancha agitadora



Fuente: esta investigación

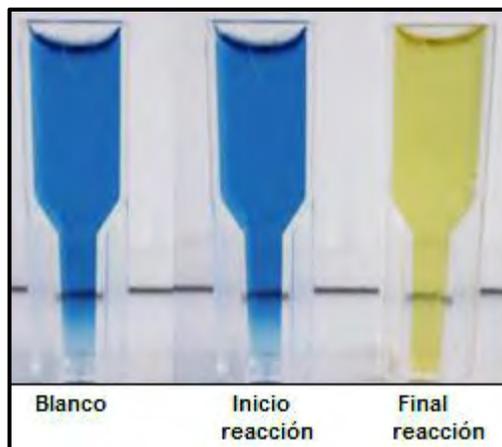
Figura 8. Centrifuga refrigerada



Fuente: esta investigación

5.6 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Figura 9. Reacción de la enzima PME



Fuente: esta investigación

La metodología utilizada para la determinación de la actividad enzimática fue reportada por (Hagerman and Austin 1986; Giner, et al. 2000), utilizado por (Jakób et al., 2009; Tiwari et al., 2009; Vicente, 2004). En el Cuadro 13, se indican los reactivos, cantidades y concentraciones que componen la solución para la medición espectrofotométrica.

Cuadro 13. Reactivos, cantidades y concentraciones para la determinación enzimática.

Reactivos	Cantidad	
	Patrón (μL)	Muestra (μL)
Agua	590	95
Pectina cítrica MRS 351 al 0.5%	1765	1765
Azul de bromotimol al 0.01% en buffer fosfato de sodio 0,006M	445	445
Extracto enzimático	-----	495

Fuente: esta investigación

Todos los reactivos fueron ajustados a pH 7,5 con ayuda de NaOH al 0,1N y 1N.

La determinación enzimática se realizó por el método espectrofotométrico a una longitud de onda de 620 nm, durante 50 minutos con intervalos de tiempo de 30 segundos a temperatura ambiente. Los resultados se expresaron según el cambio en la densidad óptica (ΔDO) en un minuto bajo las condiciones de ensayo, (cambio de absorbancia por min - $\Delta Abs/min$).

Figura 10. Espectrofotómetro Genesys 10 UV-VIS



Fuente: esta investigación

Para el cálculo de la actividad enzimática se usó la regresión lineal, tomando como actividad enzimática, la pendiente (m) de la parte lineal de la curva. (Rudra et al., 2008).

La actividad residual (AR) se determinó con la Ecuación 1 (Tiwari et al., 2009; Matsui et al., 2007).

$$\%RA = \frac{A_t}{A_o} \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Dónde:

A_t = Actividad de PME después del tratamiento térmico

A_o = Actividad de PME antes del tratamiento térmico

5.7 EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y FÍSICOQUÍMICAS

La prueba sensorial se llevó a cabo de acuerdo a la metodología reportada por: (Anzaldúa-Morales, 1994); (Chamorro et al., 2011); NTC 4129; NTC 3925; NTC 3930.

5.7.1 Prueba sensorial efectiva – medición del grado de satisfacción – escala hedónica verbal:

Tipo de juez: Consumidor

Número de jueces: 60

Salas de cata: planta piloto Ingeniería Agroindustrial

Se utilizó la metodología propuesta por (Anzaldúa-Morales, 1994)

Se dieron muestras de néctar de tomate de árbol fresco y pasteurizado a 60 jueces, la preparación de la muestra se llevó a cabo de la siguiente forma:

- Se aplicó el tratamiento térmico al zumo de tomate de árbol siguiendo el procedimiento anteriormente mencionado.
- Se refrigeró alcanzando una temperatura aproximada de 10°C.
- Posteriormente se diluyó en agua, en una relación 1:3 (agua-fruta) a 8°Brix, esta concentración según (Guerrero, 2008) evita que se enmascaren los sabores.
- Se presentó a los jueces tres muestras codificadas y se les solicitó señalar cuanto le gusta o le disgusta cada muestra. Se utilizó agua para eliminar sabores antes de iniciar la prueba y entre muestra. La hoja de respuesta (ver anexo 2) y la forma en que se presentó la muestra se observa en la figura 11.

Figura 11. Presentación de las muestras para la prueba sensorial efectiva



Fuente: esta investigación

5.7.1.1 Análisis estadísticos. El análisis de resultados fue realizado con ayuda del programa Statgraphics centurión XVI. El método empleado para discriminar entre las medias fue la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. 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.

Para realizar el análisis estadístico se hizo necesario dar una numeración a cada característica evaluada por los jueces, así:

- 1= Me disgusta mucho
- 2=Me disgusta
- 3=Me es indiferente
- 4=Me gusta
- 5=Me gusta mucho

5.7.2 Pruebas sensoriales discriminativas complejas - pruebas de Ordenamiento

5.7.2.1 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 enmarcan en las NTC 4129, NTC 3925 y NTC 3930, donde se plantea la información básica y los compuestos necesarios para emplear en la evaluación sensorial.

Se inició con la ficha de presentación de los jueces (ver anexo 1), se resume en el Cuadro 14.

Cuadro 14. Ficha de presentación del equipo de evaluación sensorial

Participante	Edad	Teléfono	Ocupación	Dificultad para realizar la prueba	Alergia	Fuma
Jiovany Rosero	22	3148406066	Estudiante	No	No	No
Ariel Vallejo H	37	3175124853	Estudiante	No	No	No
Camilo Pantoja E	21	7367674	Estudiante	No	No	No
Carolina Cervantes C	23	3184877676	Estudiante	No	No	No
Daira Lucia Fuertes M	22	3012782871	Estudiante	No	No	No
Jhon Jairo Barrios	27	3177316476	Estudiante	No	No	No
Juan Camilo Angulo	20	3152460624	Estudiante	No	No	No
William Díaz	-	3133104684	Estudiante	No	No	No

Fuente: esta investigación

5.7.2.2 Reconocimiento de sabores básicos. Son pruebas que determinan si el juez tiene agudeza sensorial normal, reconociendo sabores y olores básicos. Las muestras se identificaron con códigos aleatorios de tres dígitos.

Cuadro 15. Materiales para reconocimiento de sabores básicos

Sabor	Material	Concentración en agua a temperatura ambiente (g/L)
Dulce	Sacarosa	16
Acido	Ácido cítrico	1
Amargo	Cafeína	0,5
Salado	Cloruro de sodio	5

Fuente: NTC 4129

Los jurados prueban las muestras, y diligencian en la hoja de respuestas el nombre del sabor que corresponde a cada muestra (Ver anexo 3).

5.7.2.3 Reconocimiento de olores básicos. Cada panelista debe percibir el olor de cada muestra que se expone en la mesa, hasta que encuentre identificado el olor o algo que se acerque al olor real. Cada juez diligencia el formato (Ver anexo 4).

Cuadro 16. Materiales para reconocimiento de olores básicos

Olor	Material	Concentración en etanol a temperatura ambiente (g/L)
Limón fresco	Citral (C ₁₀ H ₁₆ O)	1 X 10 ⁻³
Vainilla	Vainilla (C ₈ H ₈ O ₃)	1 X 10 ⁻³
Chicle ¹	Chicle	1 X 10 ⁻³
Floral	Acetato de bencilo (C ₈ H ₁₂ O ₂)	1 X 10 ⁻³

¹ Timol no se encontró en el mercado por lo que fue reemplazado por chicle

Fuente: NTC 4129

Figura 12. Muestras de reconocimiento de sabores básicos



Fuente: esta investigación

5.7.2.4 Prueba de discriminación (pruebas de ordenamiento). Determinan la habilidad de los jueces, para medir diferencias y saberlas **cuantificar**, determinando el nivel de concentración. En esta prueba se da a cada juez una serie de muestras de olor, color y sabor de diferentes grados de concentración, cada panelista debe ordenarlos de forma descendente (Ver anexo 5).

Cuadro 17. Materiales para la prueba de discriminación

Prueba	Producto¹	Concentración en agua a temperatura ambiente
Discriminación del gusto	Sacarosa	0,1 g/l; 0,15 g/l; 0,22 g/l; 0,34 g/l;
Discriminación de olor	Limón	5 g/l; 10 g/l; 20 g/l; 40 g/l;
Discriminación del color	Naranja	Escalas de color
¹ También se pueden utilizar otros productos apropiados que representen una graduación en las características		

Fuente: NTC 4129

5.7.2.5 Codificaciones para entrenamiento del equipo de evaluación sensorial

Cuadro 18. Codificación de muestras para entrenamiento

Identificación de sabores	Característica	Codificación¹
Sabor	Dulce	622
	Acido	826
	Amargo	942
	Sal	577
	Agua	680
Identificación de olores	Característica	Codificación
Olores	Limón	402
	Floral	319
	Vainilla	768
	Chicle	823
Identificación de colores	Característica	Codificación
Color naranja	Escala de color	921
		458
		620
		324
		280
		823
		181
		592
		768
Discriminación de olores	Característica	Codificación
Limón	5 mL/L	267
	10 mL/L	415
	20 mL/L	944
	40 mL/L	508
Discriminación de sabores	Característica	Codificación
Sacarosa	10 g/L	402
	25 g/L	458
	32 g/L	286
	44 g/L	468

¹ Números obtenidos con calculadora programable

Fuente: esta investigación

Figura 13. Presentación de las muestras para la prueba sensorial discriminativa



Fuente: esta investigación

Cuadro 19. 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 *et al.*, 2011)

Cuadro 20. Calificación de los jueces entrenados

Participantes	Reconocimiento de sabores	Reconocimiento de olores	Prueba de discriminación	Puntaje total	Nivel
Alexander Jiovany Rosero	100	100	82	94	1
Ariel Vallejo H	100	75	88	88	1
Camilo Pantoja E	100	75	82	86	1
Carolina Cervantes C	100	100	100	100	1
Daira Lucia Fuertes M	100	50	88	79	1
Jhon Jairo Barrios	100	100	35	78	1
Juan Camilo Angulo	100	75	88	88	1
William Díaz	100	50	88	79	1

Fuente: esta investigación.

En el Cuadro 20, muestran las calificaciones obtenidas por los jueces seleccionados.

5.7.3 Evaluación sensorial de zumos de tomate de árbol (Pruebas sensoriales discriminativas - pruebas de ordenamiento). Es usando para estimar el orden, tamaño de diferencias, categorías o clases en las cuales las muestras deben ser colocadas. Esta metodología se la describe en la NTC 3930

Tipo de juez: Entrenado

Número de jueces: > 5 y <17

Salas de cata: Salón Ingeniería Agroindustrial

- La evaluación se realizó en una sola sesión.
- La preparación de la muestra se realizó igual a la descrita en la prueba sensorial efectiva.
- A cada juez se le ubicaron las muestras codificadas con números.
- Los jueces evaluaron color, olor, sabor y acidez (Ver anexo 5).

5.7.3.1 Análisis estadísticos. El análisis de resultados fue realizado con ayuda del programa Statgraphics centurión XVI. El método empleado para discriminar entre las medias fue la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. 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.

Para realizar el análisis estadístico se hizo necesario dar una numeración a cada característica evaluada por los jueces, así:

1=Menor y malo

2=Medio

3=Mayor y bueno

5.7.4 Pruebas fisicoquímicas. Para la caracterización del zumo de tomate de árbol fresco y pasteurizado a 60°Cx20s se realizó los siguientes análisis:

Cuadro 21. Características fisicoquímicas

PARAMETRO	MÉTODO
Humedad	Secado en estufa
Materia seca	Secado en estufa
Ceniza	Incineración mufla
Fibra cruda	Digestión ácido-base
Proteína cruda	Kjeldahl
Energía	Bomba Calorimetría
Calcio	Oxidación húmeda, EAA
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría
Hierro	Oxidación húmeda, EAA
Carbohidratos totales	Hidrolisis directa
Acidez titulable ácido cítrico	NTC 4623
°Brix	Refractométrico
pH	pH-metro

Fuente: Ramirez, 2008, Laboratorios especializados Universidad de Nariño, 2010.

5.7.4.1 Análisis estadísticos. Análisis de varianza con un nivel de confianza del 95% por el test de LSD Fisher.

5.7.5 Análisis microbiológico. Según la NTC 5468 las pruebas microbiológicas reportadas en el Cuadro 22 se emplean para hortalizas procesadas, jugos (zumos) y pulpas (purés) de frutas pasteurizados, congelados o no congelados.

Cuadro 22. Características microbiológicas

PARAMETRO	MÉTODO
Aerobios mesófilos	Recuento En Placa
Coliformes totales	NMP
Coliformes fecales	NMP
Esporas de Clostridium sulfito reductoras	Recuento En Placa
Mohos - Levaduras	Recuento En Placa

Fuente: NTC 5468, Laboratorios especializados Universidad de Nariño, 2010

5.7.5.1 Análisis estadísticos. El análisis estadístico de las características microbiológicas no se realizó ya que para cada uno de los parámetros analizados ya existen límites establecidos por lo que solo se determinó si la muestra se encontraba o no dentro de este rango admisible.

La comparación de los datos se realizó con los límites establecidos por Instituto Nacional De Vigilancia De Medicamentos Y Alimentos (INVIMA).

5.8 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE BRADFORD

La metodología utilizada para la cuantificación de proteína, (enzima PME) fue la reportada por: (Bollag et al., 1996; Pierce, 2010), mediante espectrofotométrica. Por lo cual se hizo uso de un kit de Bradford compuesto por:

- Coomassie Plus Protein Assay Reagent (Reactivo de Bradford)
- Albumin Standard Ampules (BSA)

Con que se inició realizando la curva de calibración.

5.8.1 Protocolo de cuantificación de la proteína. Se tomaron 50 μL de BSA o del extracto enzimático de tomate de árbol, (dependiendo si se va a realizar la curva de calibración o la cuantificación de la enzima PME), se adicionaron 1500 μL del reactivo de Bradford, se dejó incubar por 10 min a temperatura ambiente y se midió en el espectrofotómetro a 595 nm (Bollag, et al., 1996; Pierce, 2010).

5.8.2 Curva de calibración. La curva de calibración se realizó en una concentración de proteína de 0 a 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ utilizando como estándar la BSA, realizando diferentes diluciones (agua – BSA) como se indica en el Cuadro 23.

Cuadro 23. Diluciones de proteína BSA rango 0 – 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$

VIAL	VOLUMEN DE AGUA (μL)	VOLUMEN DE BSA	CONCENTRACIÓN FINAL DE BSA ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
A	0	300 μL de BSA	2000
B	125	375 μL de BSA	1500
C	325	325 μL de BSA	1000
D	175	175 μL de la dilución B	750
E	325	325 μL de la dilución C	500
F	325	325 μL de la dilución E	250
G	325	325 μL de la dilución F	125
H	400	100 μL de la dilución G	25
I	400	0	0=Blanco

Fuente: (Pierce, 2010)

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 EXTRACCIÓN DEL ZUMO

En la extracción de zumo de tomate de árbol se utilizaron 17 kg de materia prima con lo cual se obtuvieron 15kg de muestra, es decir que alcanzó un rendimiento de 85%, lo que se encuentra dentro del rango de rendimiento de tomate de árbol teórico que se encuentra entre un 83-86%.

La muestra de zumo se almaceno a una temperatura de congelación (-23°C) en excelentes condiciones durante el desarrollo de la investigación.

Figura 14. Zumo de tomate de árbol



Fuente: esta investigación

6.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ENZIMÁTICO

Se utilizó 21 mL entre zumo, NaCl y PVPP, de donde se obtuvo 20,5 mL de extracto enzimático después de la agitación y la centrifugación, es decir que se alcanzó un rendimiento del 98%.

Figura 15. Extracto enzimático

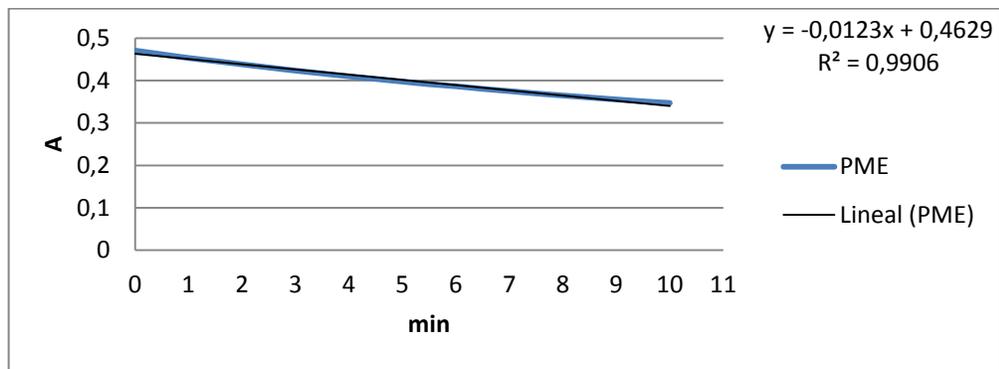


Fuente: esta investigación

6.3 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE PME

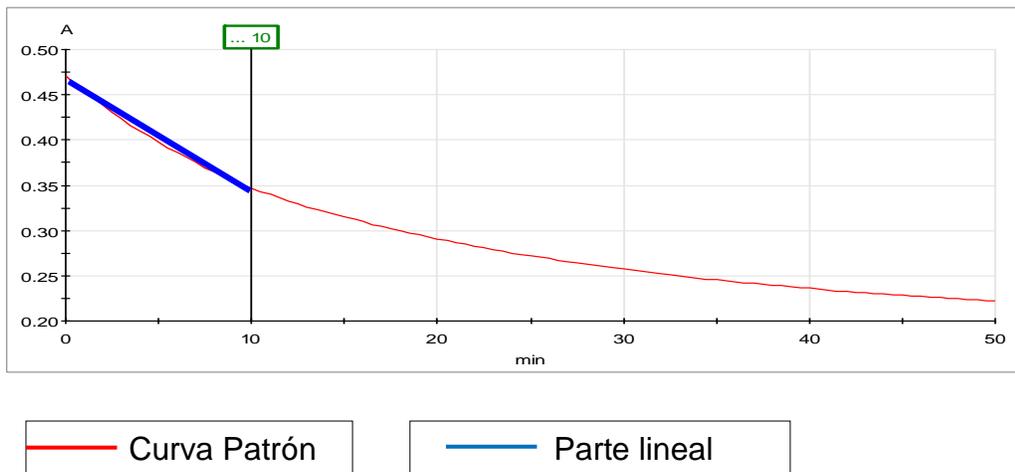
6.3.1 Medición de la actividad enzimática en zumo fresco. Para el cálculo de la actividad enzimática se usó la regresión lineal, tomando como actividad enzimática la pendiente (m) de la parte lineal de la curva, encontrada en un tiempo de 10 min, determinado por la mayor correlación de los datos los cuales se ajustan a una recta (ver Gráfica 1-2), la pendiente es igual a $0.0123 \Delta\text{abs}/\text{min}$, siendo la actividad inicial de la enzima PME (A_0) que a su vez es indispensable para el cálculo de la actividad residual de cada tratamiento.

Gráfica 1. Parte lineal de la curva de cinética de PME



Fuente: esta investigación

Gráfica 2. Actividad Enzimática inicial de PME (sin tratamiento)



Fuente: esta investigación

6.3.2 Análisis estadístico de la actividad enzimática con el diseño factorial multinivel, metodología de superficie de respuesta. El Cuadro 24 muestra el promedio de la actividad enzimática y residual obtenida en los diferentes tratamientos, los resultados fueron analizados en el programa estadístico STATGRAPHICS CENTURION XVI.

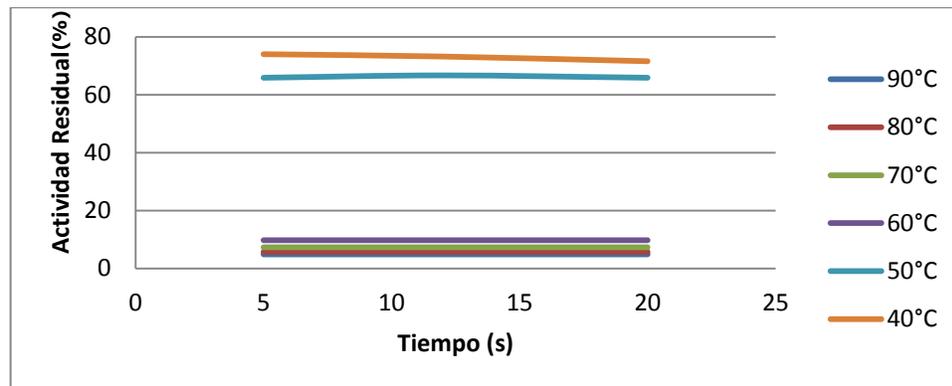
Cuadro 24. Actividad enzimática y residual

Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Actividad Enzimática (ΔAbs/min)	Actividad residual (%)
Sin tratamiento	-	0,0123	100
40	20	0,0088	71,54
40	5	0,0092	74,79
40	12	0,0090	73,17
50	5	0,0081	65,85
50	12	0,0079	64,22
50	20	0,0077	62,60
60	12	0,0012	9,75
60	5	0,0012	9,75
60	20	0,0012	9,75
70	5	0,0009	7,31
70	12	0,0009	7,31
70	20	0,0009	7,31
80	20	0,0007	5,70
80	5	0,0007	5,70
80	12	0,0007	5,70
90	20	0,0006	4,87
90	12	0,0006	4,87
90	5	0,0006	4,87

Fuente: esta investigación

La Gráfica 3 muestra la reducción de la actividad enzimática de PME desde el 71% hasta 4% de su actividad inicial en un rango de temperaturas de 40°C a 90°C y en los tiempos de 5, 12 y 20 s.

Gráfica 3. Actividad residual Vs tiempo para cada tratamiento



Fuente: esta investigación

La actividad residual de PME se describe mediante la ecuación 2, la cual se ajusta a los datos y permite modelar posteriores experimentos con las mismas condiciones, es decir es válida únicamente para los rangos de temperaturas y tiempo estudiados.

$$\text{Actividad residual} = 299,536 - 7,22566 \cdot \text{Temperatura} - 0,0732767 \cdot \text{Tiempo} + 0,0439311 \cdot \text{Temperatura}^2 + 0,00127762 \cdot \text{Temperatura} \cdot \text{Tiempo} - 0,00210741 \cdot \text{Tiempo}^2 \quad (\text{Ecuación 2})$$

6.3.2.1 Análisis de varianza para la actividad residual de PME. En el Cuadro 25, se observa que el factor que causa un efecto significativo sobre la actividad residual es la temperatura y la interacción entre temperatura-temperatura pues su p-valor es menor que 0,05.

El estadístico R-cuadrado indica que el modelo explica en un 86% 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.

El estadístico de Durbin-Watson indica que no existe autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5,0%, puesto que el valor- p es mayor que 5,0%, garantizando una buena aleatorización de los experimentos.

Cuadro 25. ANOVA para la actividad residual de PME

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	47164,5	1	47164,5	310,62	0,0000
B:Tiempo	4,97297	1	4,97297	0,03	0,8570
AA	8646,14	1	8646,14	56,94	0,0000
AB	1,28544	1	1,28544	0,01	0,9270
BB	0,224834	1	0,224834	0,00	0,9694

R-cuadrada = 86%

Estadístico Durbin-Watson = 2,06973 (P=0,4834)

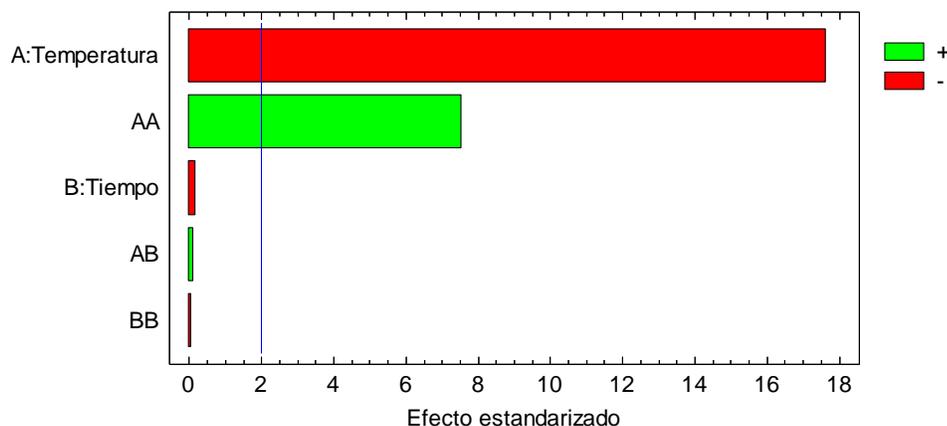
Fuente: esta investigación

El diagrama 2 muestra los estimados del Cuadro 24 en orden decreciente y contiene una barra para cada efecto. La longitud de cada barra es proporcional al efecto estandarizado. La línea transversal en $p = 0,05$ muestra que todas las barras que se extiendan a su derecha, tienen un efecto estadísticamente significativo a un nivel de significancia del 5%.

El efecto de la temperatura (A) y la interacción de la misma (AA) son los que ejercen el efecto significativo sobre la actividad enzimática, mientras el efecto que causa el tiempo (B), la interacción tiempo-temperatura (AB) y la interacción entre el tiempo (BB) no es significativo sobre la actividad enzimática.

Además muestra que con un nivel de confianza del 95%, la temperatura es la que ejerce un efecto negativo sobre la actividad residual, es decir que la disminuye. Por lo que un leve cambio en la temperatura causarí mayor efecto que un cambio en el tiempo.

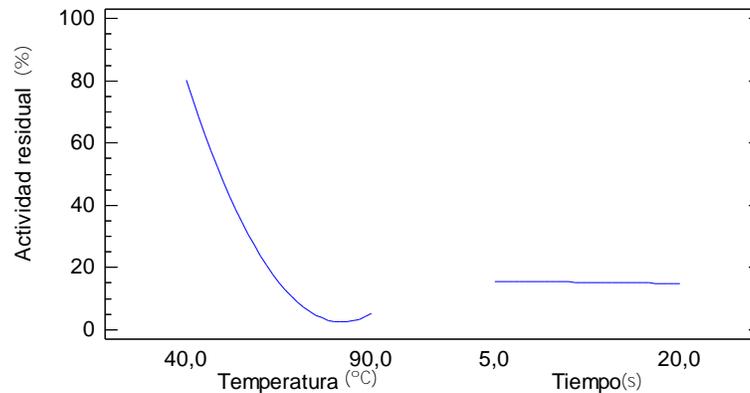
Diagrama 2. Diagrama de Pareto estandarizado para actividad residual



Fuente: esta investigación

La gráfica 4 indica que la disminución de la actividad enzimática es producida por el efecto de la temperatura, mostrando claramente el efecto negativo a medida que esta se incrementa. También indica que el tiempo no causa efecto sobre la disminución de la actividad enzimática, ya que se representa como una línea recta.

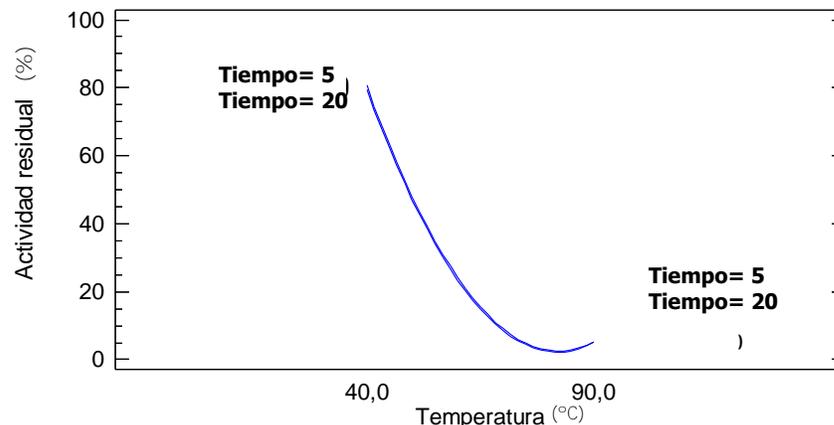
Gráfica 4. Efectos principales para actividad residual



Fuente: esta investigación

En la gráfica 5, actividad enzimática Vs temperatura, se observan dos curvas superpuestas que representan los tiempos de 5s y 20s, indicando que no existe diferencia entre los tiempos aplicados y que la disminución de la actividad residual está dada por el efecto de la temperatura.

Gráfica 5. Interacción para actividad residual



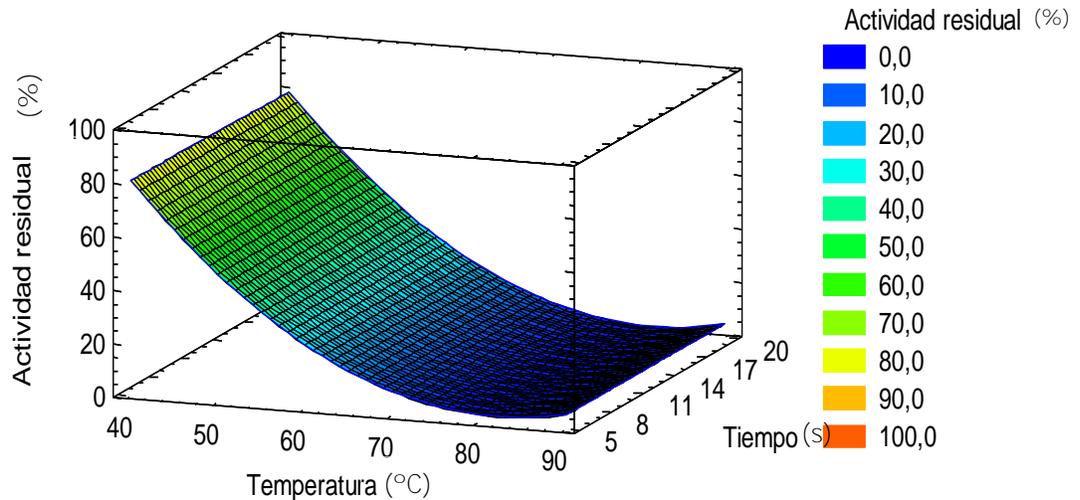
Fuente: esta investigación

La superficie de respuestas de la Gráfica 6, representa un modelo de primer orden y se observa que su superficie es un plano. Muestra las combinaciones de los factores (tiempo y temperatura) y el comportamiento de la variable de

respuesta (actividad residual). Encontrándose el mejor tratamiento dentro de la región operativa o experimental.

También indica que el tiempo no presenta efecto sobre la actividad residual, pero si la influencia de la temperatura, lo cual es inversamente proporcional, a mayor temperatura menor actividad residual.

Gráfica 6. Superficie de respuestas estimada



Fuente: esta investigación

En la gráfica 4 de efectos principales para actividad enzimática se observa que el punto más bajo de la actividad se encuentra a una temperatura de 80°C y 90°C con actividades residuales de 5,70% y 4,87% respectivamente, teniendo en cuenta que el porcentaje de actividad residual aceptable es del 10% y al observar el Cuadro 21 y la gráfica 6, se puede determinar que el punto óptimo se encuentra entre las temperaturas 50°C y 60°C, pues existe una actividad residual de 62,60% y 9,75% respectivamente, por lo que se lanzó en este rango el diseño de composición central para optimizar los factores de proceso.

6.3.3 Análisis estadístico de la actividad enzimática con el diseño de composición central, metodología de superficie de respuesta. En el Cuadro 26 se indican los datos promedio de la actividad enzimática y residual obtenida en los diferentes tratamientos, los resultados fueron analizados en el programa estadístico STATGRAPHICS CENTURION XVI.

Cuadro 26. Actividad enzimática y residual

Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Actividad Enzimática (Δ Abs/min)	Actividad residual (%)
50	5	0,0081	65,85
60	20	0,0012	9,75
62	12,5	0,0010	8,67
55	23	0,0025	20,32
55	12,5	0,0044	35,77
50	20	0,0077	62,6
48	12,5	0,0084	68,29
55	2	0,0005	44,98
60	5	0,0012	9,75
55	12,5	0,0041	33,33

Fuente: esta investigación

6.3.3.1 Análisis de varianza para la actividad residual de PME

Cuadro 27. ANOVA para actividad residual de PME

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	14480,9	1	14480,9	261,06	0,0000
B:Tiempo	375,12	1	375,12	6,76	0,0163
AA	45,0738	1	45,0738	0,81	0,3771
AB	5,52163	1	5,52163	0,10	0,7554
BB	16,6068	1	16,6068	0,30	0,5898
bloques	22,345	2	11,1725	0,20	0,8191

R-cuadrada = 93%

Estadístico Durbin-Watson = 2,68227 (P=0,9423)

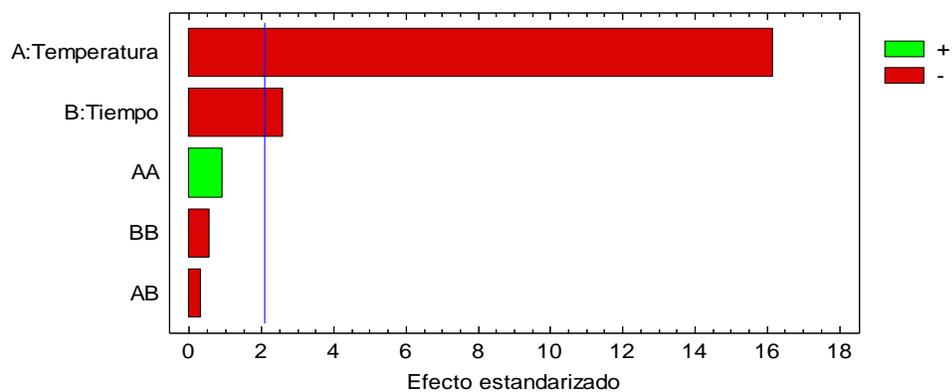
Fuente: esta investigación

El diagrama 3 muestra que el efecto de la temperatura (A) y el tiempo (B), son factores significativos sobre la actividad residual, mientras que los efectos que

causa la interacción de la temperatura (AA), la interacción entre el tiempo y temperatura (AB) y la interacción entre el tiempo (BB) no son representativo sobre la actividad residual.

Además con un nivel de confianza del 95%, se establece que la temperatura y el tiempo ejercen un efecto negativo sobre la actividad residual, es decir que el tiempo en este caso al encontrarse en un rango tan reducido pero con una diferencia de actividad enzimática tan alta, y al combinarse con la temperatura determinan la actividad de enzima residual.

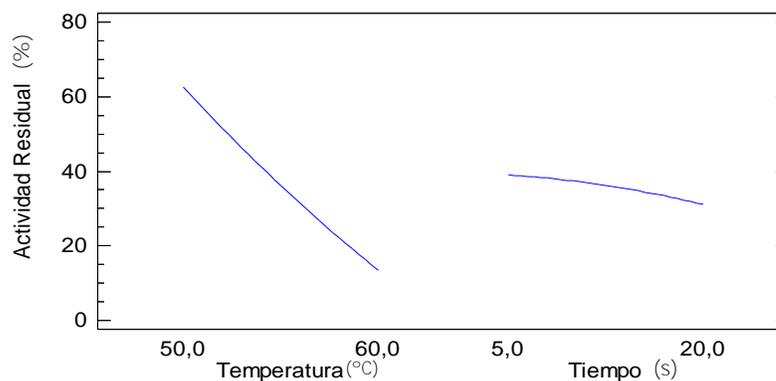
Diagrama 3. Diagrama de Pareto estandarizado para actividad enzimática



Fuente: esta investigación

En la gráfica 7 se observa claramente el efecto negativo sobre la actividad residual que causa la temperatura y el tiempo a medida que estos se incrementan.

Gráfica 7. Efectos principales para actividad residual

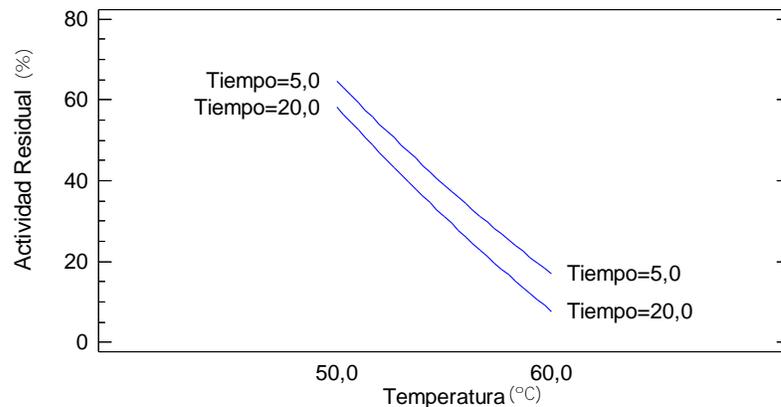


Fuente: esta investigación

En la gráfica 8, actividad enzimática Vs temperatura, se observan dos líneas que representan los tiempos de 5s y 20s. Estas líneas paralelas corroboran la

diferencia entre los tiempos aplicados respecto a la actividad. Indicando que la menor actividad residual se obtiene en un tiempo 20s a una temperatura aproximada 60°C, y la mayor actividad residual se obtiene a un tiempo de 5s a una temperatura aproximada 50°C.

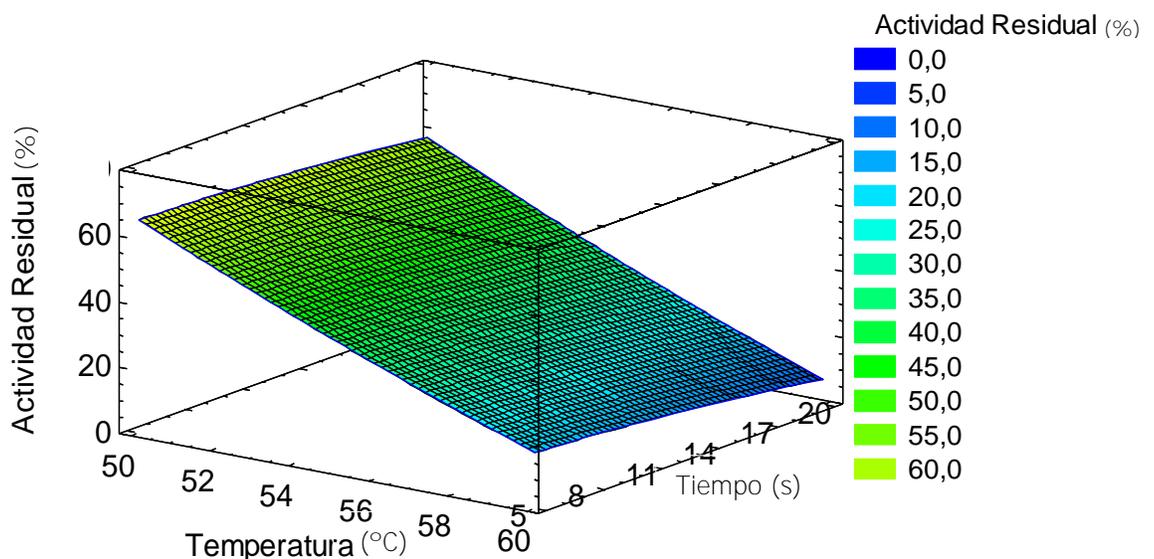
Gráfica 8. Interacción para actividad residual



Fuente: esta investigación

La gráfica 9 de la superficie de respuestas muestra el comportamiento de la actividad residual respecto a los dos factores evaluados tiempo y temperatura, los que causan un efecto significativo en su disminución. Estos son inversamente proporcionales con la reducción de la actividad residual.

Gráfica 9. Superficie de respuestas estimada



Fuente: esta investigación

6.3.4 Optimización de los factores del proceso

Cuadro 28. Factores establecidos y óptimos

Meta: Mantener Actividad Residual en 10,0%

Valor óptimo = 10,0%

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Temperatura (°C)	50,0	60,0	59,517
Tiempo (s)	5,0	20,0	19,7778

Fuente: esta investigación

El Cuadro 28 muestra la combinación de los factores óptimos, con valores aproximados a 60°Cx20s, con el cual se mantiene una actividad Residual en 10,0%.

La ecuación 3 se ajusta a los datos que describe la actividad residual de PME, y es válida solo para estos rangos de temperaturas y tiempo. Además que permite modelar posteriores experimentos a las mismas condiciones.

$$\text{Actividad Residual} = 516,834 - 12,6633 \cdot \text{Temperatura} + 0,956832 \cdot \text{Tiempo} + 0,0725158 \cdot \text{Temperatura}^2 - 0,0180889 \cdot \text{Temperatura} \cdot \text{Tiempo} - 0,019563 \cdot \text{Tiempo}^2 \quad (\text{Ecuación 3})$$

6.3.5 Comparación de resultados de la actividad residual de PME

Cuadro 29. Comparación de resultados de la actividad residual de PME

Producto	Tratamiento Térmico		Actividad Residual (%)	Fuente
	Temperatura (°C)	Tiempo (s)		
Mandarina Clementina	74	10	10	(Carbonell , et al., 2005)
Naranja	80	5	10	(Sentandreu, et al., 2007)
Fresa	90	20	5.4	(Osorio , et al., 2008)
Jugo de tomate de árbol	60	20	10	Esta investigación

Fuente: esta investigación

El Cuadro 29 indica que los resultados obtenidos en esta investigación se relacionan con los resultados reportados por los autores citados. Es decir que la temperatura y tiempo establecido se encuentran acorde con la inactivación de la enzima PME realizadas en otras frutas.

6.4 EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y FÍSICOQUÍMICAS

6.4.1 Prueba sensorial efectiva – medición del grado de satisfacción - escala hedónica verbal.

6.4.1.1 Análisis estadístico

Cuadro 30. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para olor.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Calificación	180	0,75	0,74	18,29

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	222,54	2	111,27	260,81	<0,0001
Tratamiento	222,54	2	111,27	260,81	<0,0001
Error	75,52	177	0,43		
Total	298,06	179			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,23534

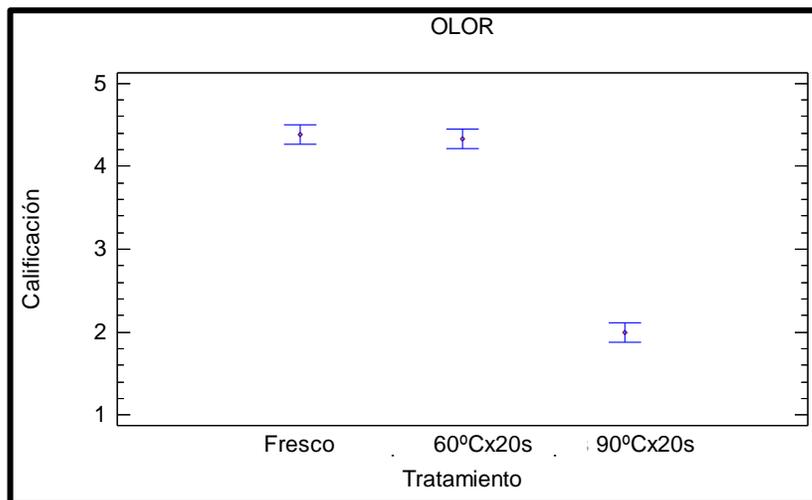
Error: 0,4266 gl: 177

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
90°Cx20s	2,00	60	0,08	A
60°Cx20s	4,33	60	0,08	B
Fresco	4,38	60	0,08	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Fuente: esta investigación

Gráfica 10. Gráfica de medias para el olor



Fuente: esta investigación

El Cuadro 30 y la gráfica 10, indican que las medias de los tratamientos poseen una diferencia altamente significativa con un valor $p < 0,0001$. Esta diferencia se presenta desde los tratamientos fresco y 60°Cx20s respecto al tratamiento 90°Cx20s. Lo que indica que los jueces asignan una calificación media de 4,3 (me gusta) al olor de los tratamientos fresco y 60°Cx20s, mientras que asignan una calificación de 2 (me disgusta) al olor del tratamiento 90°Cx20s.

Cuadro 31. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para color

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Calificación	180	0,17	0,16	22,07

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	26,81	2	13,41	18,36	<0,0001
Tratamiento	26,81	2	13,41	18,36	<0,0001
Error	129,25	177	0,73		
Total	156,06	179			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,30789

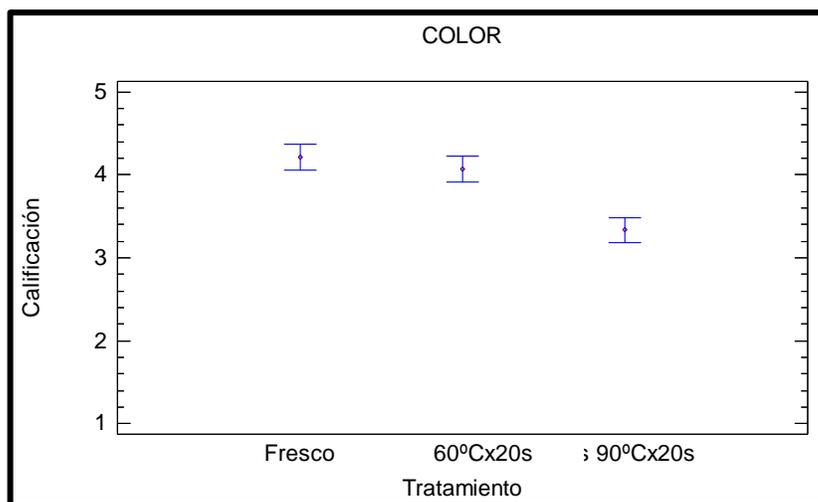
Error: 0,7302 gl: 177

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
90°Cx20s	3,33	60	0,11	A
60°Cx20s	4,07	60	0,11	B
Fresco	4,22	60	0,11	B

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

Fuente: esta investigación

Gráfica 11. Gráfica de medias para el color



Fuente: esta investigación

El Cuadro 31 y la gráfica 11, muestran que las medias de los tratamientos poseen un diferencia altamente significativa con un valor $p < 0,0001$. Con lo cual se

determina que los tratamientos fresco y 60°Cx20s no poseen diferencia significativa, su calificación media fue igual a 4 (me gusta), pero sí existió diferencia con respecto al tratamiento 90°Cx20s, donde la calificación media es igual a 3 (me es indiferente).

Cuadro 32. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para sabor

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Calificación	180	0,28	0,28	23,74

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	60,43	2	30,22	35,24	<0,0001
Tratamiento	60,43	2	30,22	35,24	<0,0001
Error	151,77	177	0,86		
Total	212,20	179			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,33363

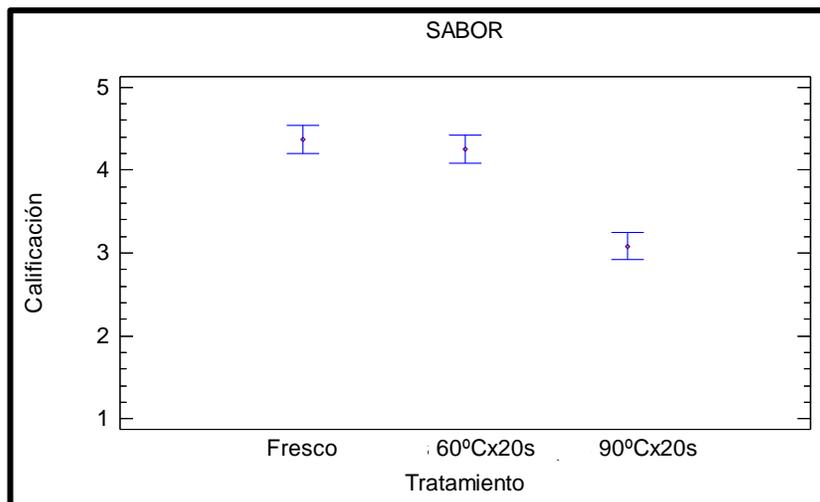
Error: 0,8574 gl: 177

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
90°Cx20s	3,08	60	0,12	A
60°Cx20s	4,25	60	0,12	B
Fresco	4,37	60	0,12	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Fuente: esta investigación

Gráfica 12. Gráfica de medias para el sabor



Fuente: esta investigación

El Cuadro 32 y la gráfica 12, muestran que las medias de los tratamientos poseen una diferencia altamente significativa con un valor $p < 0,0001$. Con lo cual se determina que las medias de los tratamientos fresco y 60°Cx20s no poseen diferencia significativa, su calificación media fue igual a 4 (me gusta), pero sí existió diferencia con respecto al tratamiento 90°Cx20s, donde la calificación media es igual a 3 (me es indiferente).

Cuadro 33. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para aceptación en general

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Calificación	180	0,39	0,38	22,96

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	81,63	2	40,82	56,04	<0,0001
Tratamiento	81,63	2	40,82	56,04	<0,0001
Error	128,92	177	0,73		
Total	210,55	179			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,30749

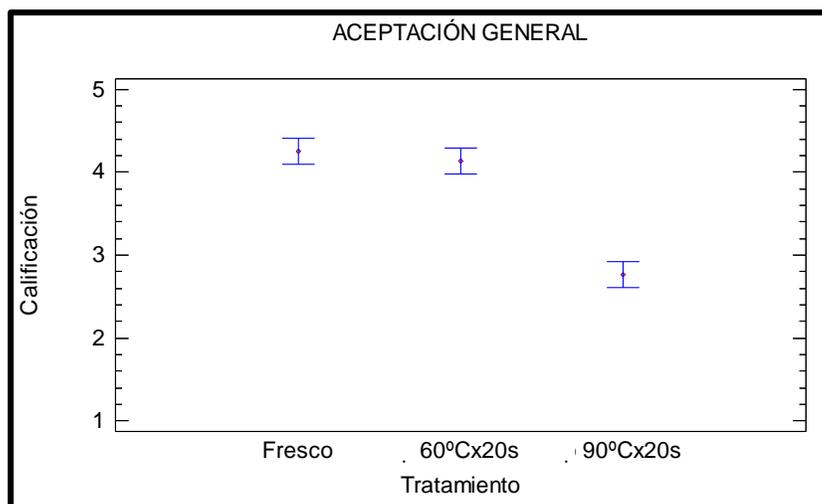
Error: 0,7283 gl: 177

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
90°Cx20s	2,77	60	0,11	A
60°Cx20s	4,13	60	0,11	B
Fresco	4,25	60	0,11	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Fuente: esta investigación

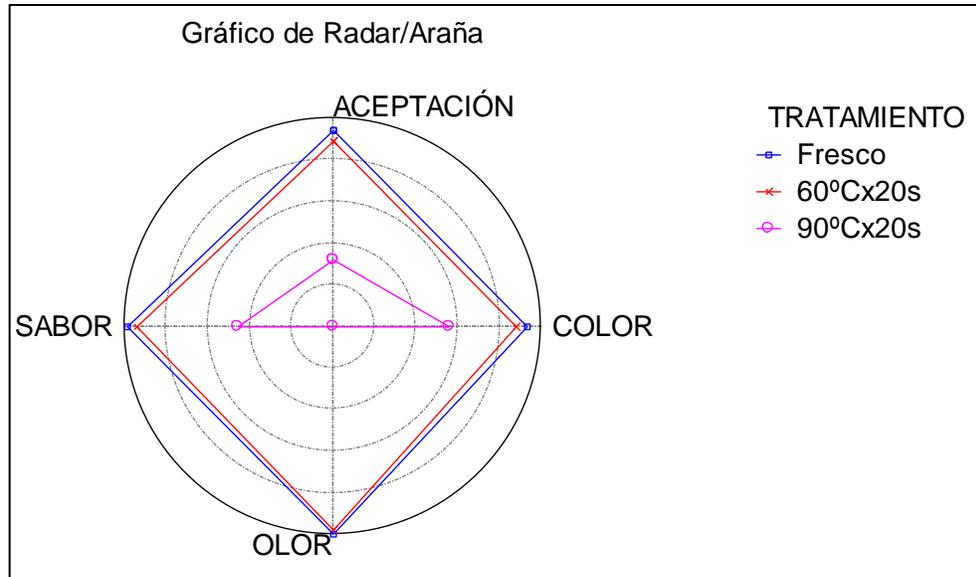
Gráfica 13. Gráfica de medias para la aceptación en general.



Fuente: esta investigación

El Cuadro 33 y la gráfica 13, indican una diferencia altamente significativa entre las medias de los tratamientos, con un valor $p < 0,0001$. Donde los tratamientos fresco y $60^{\circ}\text{C} \times 20\text{s}$ no poseen diferencia significativa y su calificación media fue igual a 4 (me gusta), mientras que el tratamiento $90^{\circ}\text{C} \times 20\text{s}$ si presenta una diferencia significativa, y su calificación media es igual a 2 (me disgusta)

Gráfica 14. Valoración global de las calificaciones sensoriales



Fuente: esta investigación

La gráfica 14, indica la valoración global de las calificaciones sensoriales (olor, color, sabor, aceptación) evaluadas por los jueces consumidores, en la cual los mejores resultados ocupan la mayor área, por tanto se observa que el tratamiento fresco obtuvo las mayores calificaciones, similares al tratamiento $60^{\circ}\text{C} \times 20\text{s}$ y finalmente se encuentra el tratamiento $90^{\circ}\text{C} \times 20\text{s}$. Con lo cual se determina que la temperatura a la cual se expone un zumo ocasiona cambios en las propiedades sensoriales del producto y estas a su vez son detectadas y rechazadas por el consumidor.

6.4.2 Pruebas sensoriales discriminativas - pruebas de ordenamiento

6.4.2.1 Análisis estadístico

Cuadro 34. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para color

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Calificación	24	0,25	0,18	37,80

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4,00	2	2,00	3,50	0,0488
Tratamiento	4,00	2	2,00	3,50	0,0488
Error	12,00	21	0,57		
Total	16,00	23			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,78602

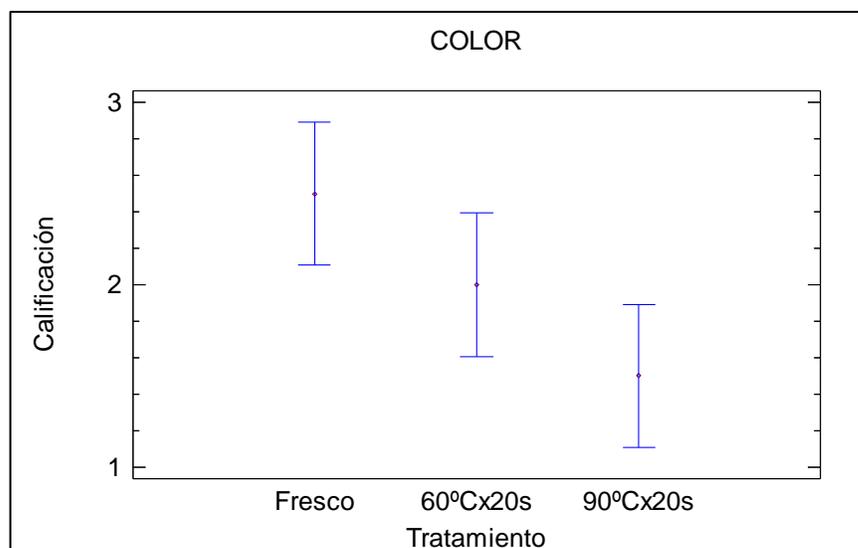
Error: 0,5714 gl: 21

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
90°Cx20s	1,50	8	0,27	A
60°Cx20s	2,00	8	0,27	A B
Fresco	2,50	8	0,27	B

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

Fuente: esta investigación

Gráfica 15. Gráfica de medias para el color



Fuente: esta investigación

El Cuadro 34 y la gráfica 15, muestran que existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos con un valor p menor a 0,05. Donde el tratamiento fresco tiene la mayor intensidad de color y el tratamiento 90°Cx20s la menor intensidad, mientras que la muestra tratada a 60°Cx20s es intermedia.

Cuadro 35. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para olor
Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Calificación	24	0,25	0,18	37,80

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4,00	2	2,00	3,50	0,0488
Tratamiento	4,00	2	2,00	3,50	0,0488
Error	12,00	21	0,57		
Total	16,00	23			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,78602

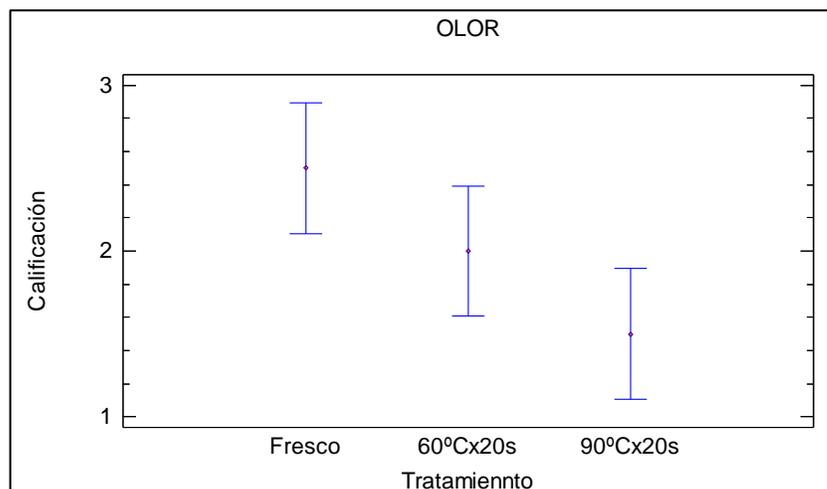
Error: 0,5714 gl: 21

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
90°Cx20s	1,50	8	0,27	A	
60°Cx20s	2,00	8	0,27	A	B
Fresco	2,50	8	0,27		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Fuente: esta investigación

Gráfica 16. Gráfica de medias para el olor



Fuente: esta investigación

El Cuadro 35 y la gráfica 16, indican que existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos con un valor p menor a 0,05. Donde el tratamiento fresco presento la mayor calificación (olor bueno), el tratamiento 90°Cx20s la menor calificación (olor malo) y el tratamiento 60°Cx20s conservo su calificación intermedia.

Cuadro 36. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para acidez

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Calificación	24	0,33	0,26	35,77

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5,25	2	2,63	5,13	0,0154
Tratamiento	5,25	2	2,63	5,13	0,0154
Error	10,75	21	0,51		
Total	16,00	23			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,74396

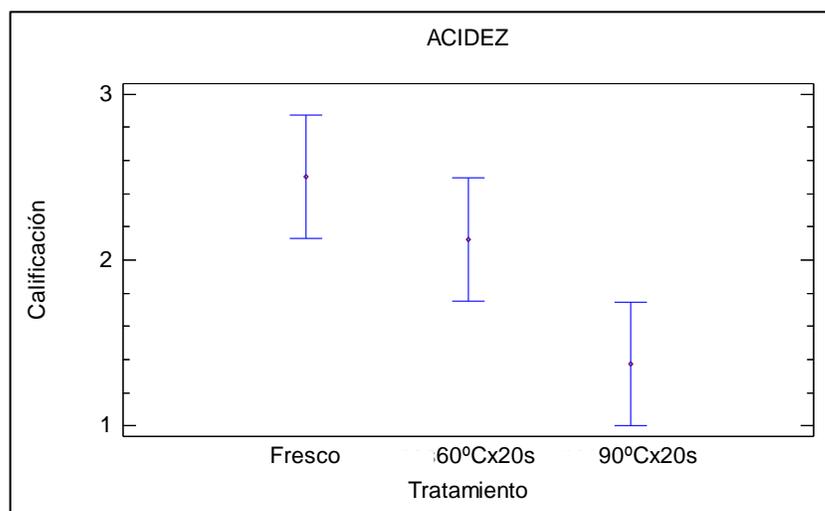
Error: 0,5119 gl: 21

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
90°Cx20s	1,38	8	0,25	A
60°Cx20s	2,13	8	0,25	B
Fresco	2,50	8	0,25	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Fuente: esta investigación

Gráfica 17. Gráfica de medias para la acidez



Fuente: esta investigación

El Cuadro 36 y la gráfica 17, indican que existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos con un valor p menor a 0,05. Esta diferencia se presenta desde los tratamientos fresco y 60°Cx20s respecto al tratamiento

90°Cx20s, donde las calificaciones asignadas a los tratamientos fresco y 60°Cx20s fueron las más representativas, lo que indica que los jueces perciben una mayor intensidad en la acidez de estos tratamientos y menor en el tratamiento 90°Cx20s.

Cuadro 37. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para sabor

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Calificación	24	0,39	0,33	34,07

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6,25	2	3,13	6,73	0,0055
Tratamiento	6,25	2	3,13	6,73	0,0055
Error	9,75	21	0,46		
Total	16,00	23			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,70851

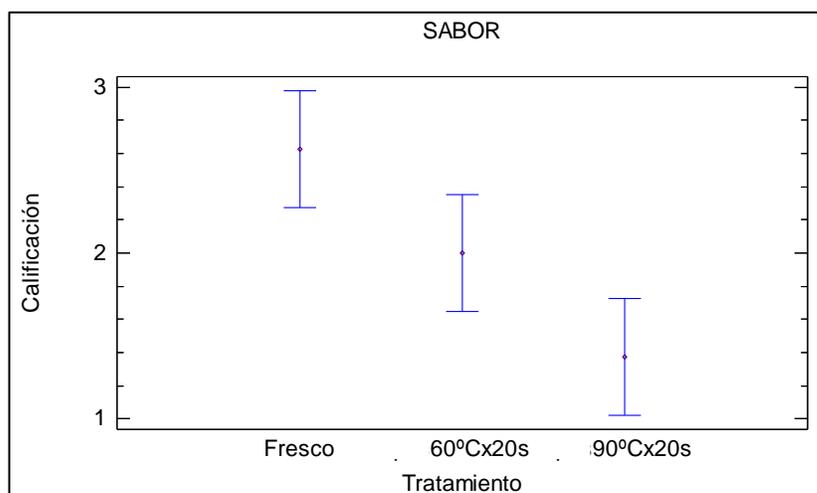
Error: 0,4643 gl: 21

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
90°Cx20s	1,38	8	0,24	A	
60°Cx20s	2,00	8	0,24	A	B
Fresco	2,63	8	0,24	B	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Fuente: esta investigación

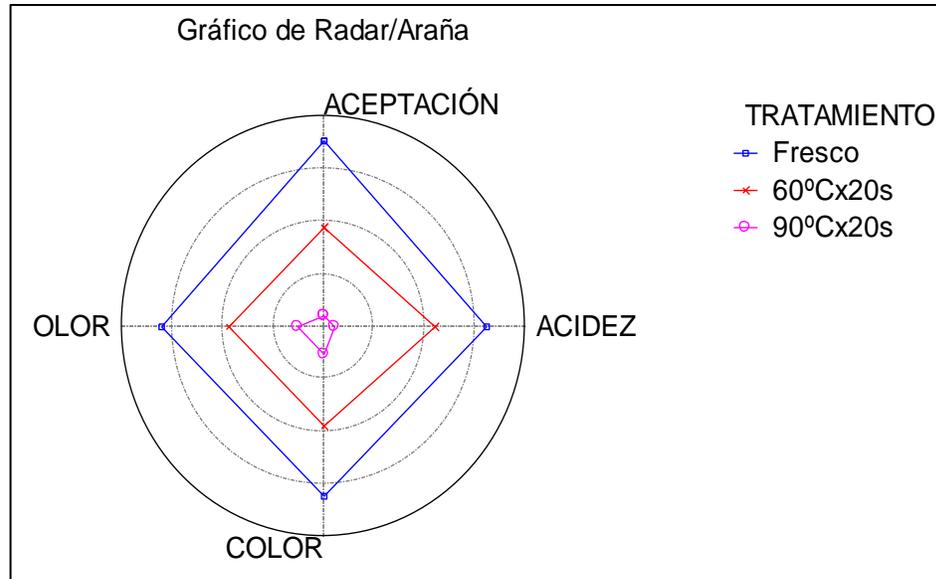
Gráfica 18. Gráfica de medias para el sabor.



Fuente: esta investigación

El Cuadro 37 y la gráfica 18, muestran que existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos con un valor p menor a 0,05. Donde el tratamiento fresco presento la mayor calificación (sabor bueno), el tratamiento 90°Cx20s la menor calificación (sabor malo) y el tratamiento 60°Cx20s obtuvo su calificación intermedia.

Gráfica 19. Valoración global de las calificaciones sensoriales



Fuente: esta investigación

La gráfica 19 muestra una valoración global de las calificaciones sensoriales (olor, color, sabor y acidez) evaluadas por los jueces entrenados y al igual que la valoración global realizada a los jueces consumidores, se observa que el tratamiento fresco obtiene la mayor calificación por lo que alcanza la mayor área, seguido del tratamiento 60°Cx20s, finalmente se encuentra el tratamiento 90°Cx20s con el área más pequeña. Con lo cual se ratifica que los jueces detectan los cambios en las propiedades sensoriales causadas por la temperatura a la cual se expone un zumo.

6.4.3 Evaluación fisicoquímica. En el Cuadro 38 se muestran los promedios de la evaluación fisicoquímica realizadas a las muestras

Cuadro 38. Evaluación fisicoquímica del Testigo y la muestra 60°Cx 20s

PARAMETRO	Testigo	60°Cx 20s
Humedad (g/100g)	89,3	90,43
Materia seca (g/100g)	10,7	9,57
Ceniza (g/100g)	0,77	0,71
Fibra cruda (g/100g)	0,81	0,80
Proteína (g/100g)	1,18	1,15
Energía (kcal/100g)	41,9	38,79
Calcio (mg/100g)	9,76	7,31
Fosforo (mg/100g)	22,5	20,83
Hierro (mg/100g)	0,34	0,44
Carbohidratos (g/100g)	4,61	5,23
Acidez (mg/100g)	2,06	1,99
°Brix	10	9,00
pH	3,35	3,35

Fuente: Laboratorios especializados Universidad de Nariño, 2010 - Esta investigación

6.4.3.1 Análisis estadístico:

Cuadro 39. Análisis estadístico para la evaluación fisicoquímica

PARAMETRO	Análisis de varianza (p-valor)	Medias	
		Patrón	60°Cx 20s
Humedad (g/100g)	0,5914	89,30 ^A	90,43 ^A
Materia seca (g/100g)	0,5909	10,70 ^A	9,57 ^A
Ceniza (g/100g)	0,7080	0,77 ^A	0,71 ^A
Fibra cruda (g/100g)	0,9784	0,81 ^A	0,80 ^A
Proteína (g/100g)	0,4639	1,18 ^A	1,15 ^A
Energía (kcal/100g)	0,6992	41,90 ^A	38,79 ^A
Calcio (mg/100g)	0,3632	9,76 ^A	7,31 ^A
Fosforo (mg/100g)	0,7174	22,50 ^A	20,83 ^A
Hierro (mg/100g)	0,5540	0,34 ^A	0,44 ^A
Carbohidratos (g/100g)	0,1117	4,61 ^A	5,23 ^A
Acidez (mg/100g)	0,4738	2,06 ^A	1,99 ^A
°Brix	0,4517	10 ^A	9 ^A
pH	0,4424	3,35 ^A	3,35 ^A

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

Fuente: esta investigación

El Cuadro 39 de análisis de varianza indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos evaluados, pues su valor p es mayor a 0,05. Lo que se ratifica con la comparación de medias LSD Fisher, las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Por tanto un zumo al que se le ha aplicado un tratamiento térmico 60°Cx20s no posee diferencia significativa en relación a un zumo fresco conservando las propiedades fisicoquímicas del producto.

6.5 EVALUACION MICROBIOLÓGICA

Cuadro 40. Evaluación microbiológica

Parámetro	Vr. Admitido jugo tomate RESOL 15790/84	Zumo tomate de árbol. Muestra 0. Testigo	Zumo tomate de árbol. Muestra 1. 60°Cx20s
Aerobios mesófilos (ufc/g)	100-300	21.000	10.000
Coliformes totales (totales/g)	Menor de 3	Menor de 3	Menor de 3
Coliformes fecales (fecales /g)	Menor de 3	Menor de 3	Menor de 3
Esporas de Clostridium sulfito reductoras(ufc/g)	Menor de 10	Menor de 10	Menor de 10
Mohos – Levaduras (ufc/g)	20-50	120	10

Fuente: Laboratorios especializados de la Universidad de Nariño, 2010

Después ser aplicado el tratamiento térmico óptimo la mayoría de los parámetros analizados se encontraron bajo el valor admitido para el jugo de tomate de árbol, el único parámetro que no se encontró bajo estos valores admitidos corresponde a los aerobios mesófilos, esto se explica debido al tiempo de exposición y a la pastosidad de la materia prima.

6.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

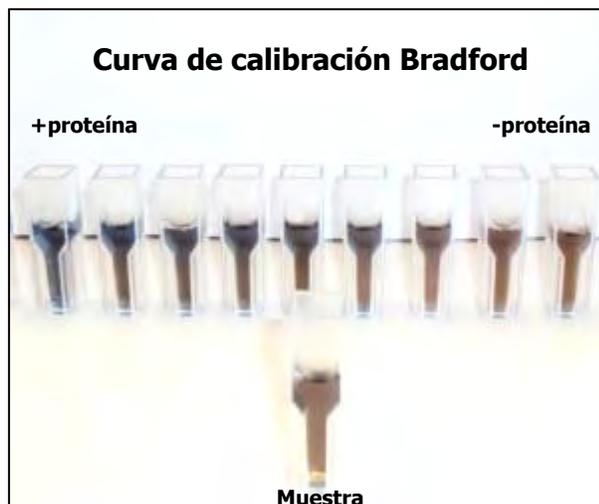
Para obtener resultados más precisos se fraccionó la curva de calibración inicial entre los rangos cercanos a las absorbancias obtenidas con la enzima PME, como se indica en el Cuadro 41.

Cuadro 41. Diluciones de proteína BSA rango 100 – 300 µg/mL

VOLUMEN DE AGUA (µL)	VOLUMEN DE BSA (µL)	CONCENTRACIÓN FINAL DE BSA (µg/mL)
47,5	2,5	300
47	3	280
46,5	3,5	260
46	4	240
45,5	4,5	220
45	5	200
44,5	5,5	180
44	6	160
43,5	6,5	140
43	7	120
42,5	7,5	100

Fuente: esta investigación

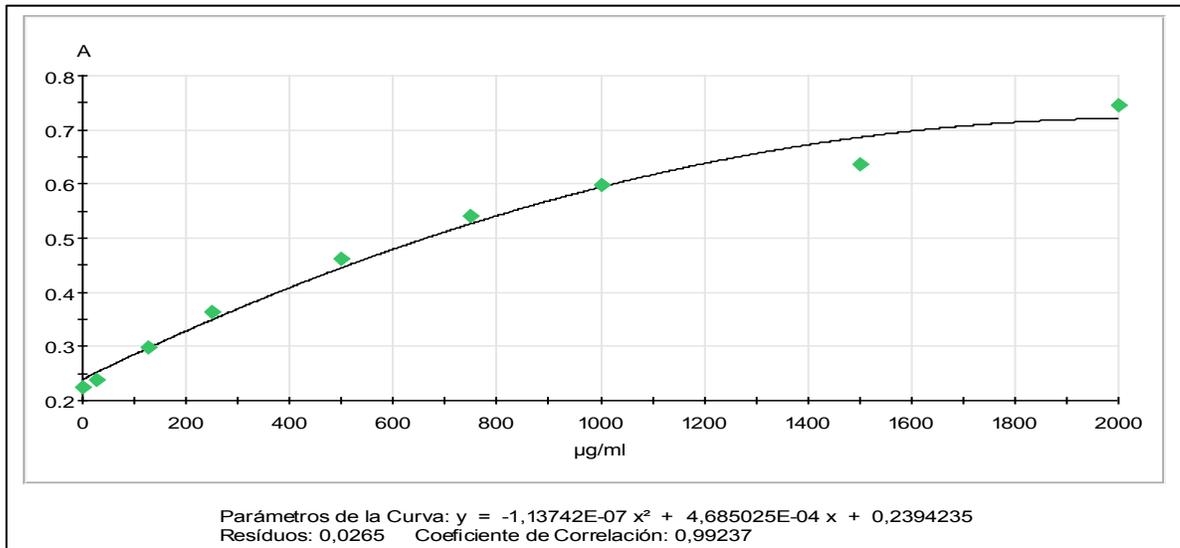
Figura 16. Reacción de Bradford con BSA y extracto enzimático.



Fuente: esta investigación.

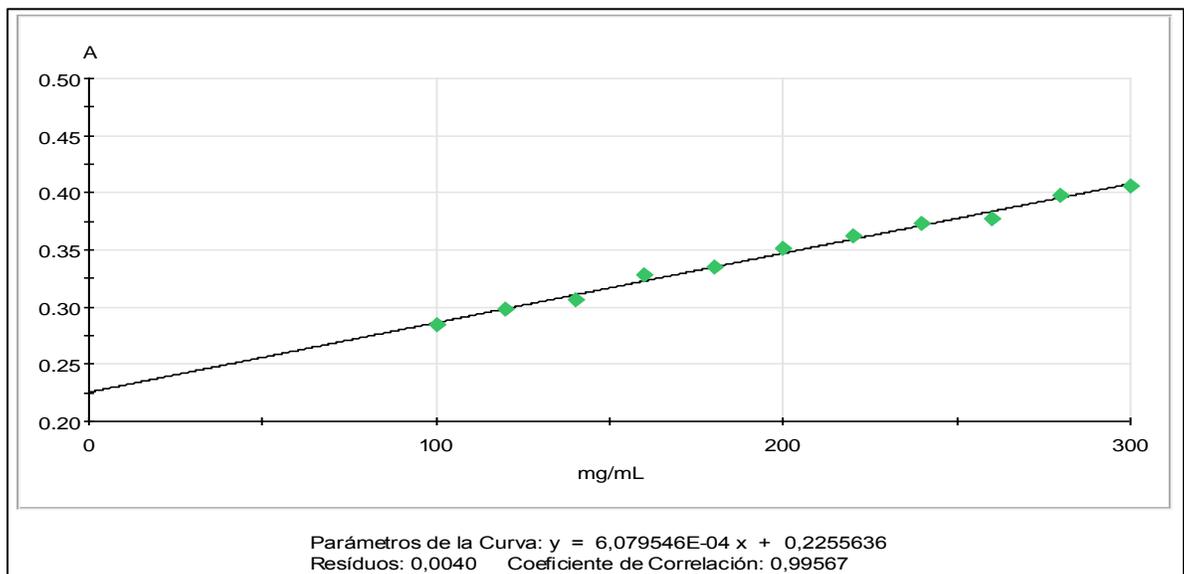
6.6.1 Curva de calibración de proteína BSA

Gráfica 20. Curva de calibración de proteína BSA rango 0 – 2000 µg/mL



Fuente: esta investigación

Gráfica 21. Curva de calibración de proteína BSA rango 100 – 300 µg/mL

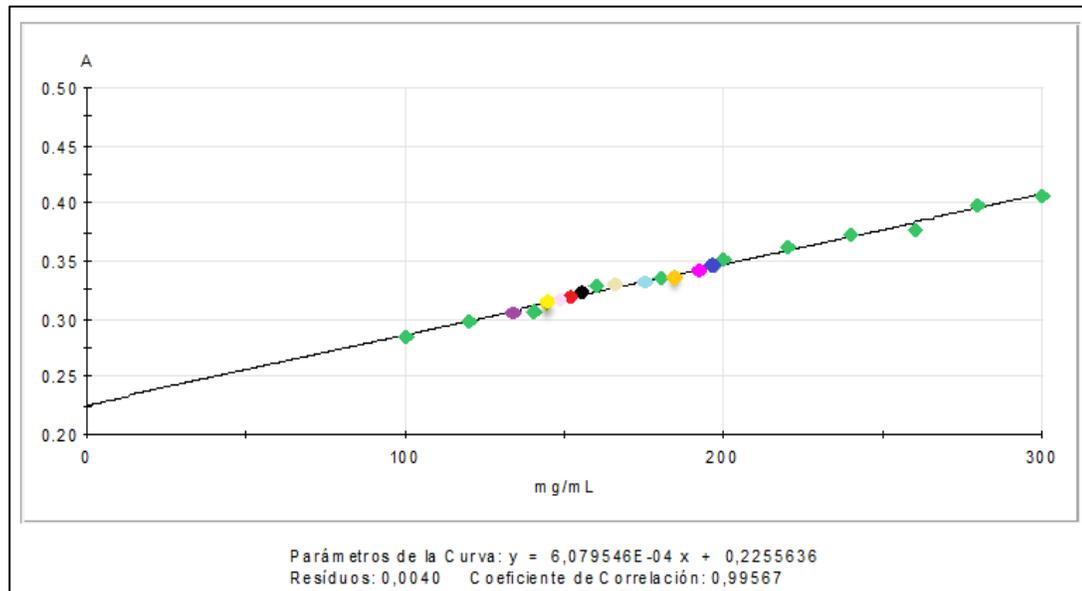


Fuente: esta investigación

Es importante resaltar el excelente coeficiente de correlación obtenidos en las dos curvas de calibración, pues ello asegura que la calidad de datos obtenidos a partir de las curvas sean confiables.

6.6.2 Determinación de la cantidad de proteína en los tratamientos de composición central:

Gráfica 22. Curva de calibración de proteína BSA rango 100 – 300 µg/mL y concentración de proteína de tratamientos del diseño de composición central



Fuente: esta investigación

Cuadro 42. Cantidad de proteína en los tratamientos de composición central

	Tratamiento	Absorbancia (nm)	Cantidad de proteína (µg/mL) $x = (y - 0,2255636) / 0,0006079646$
◆	Patrón	0,347	199,2
◆	50°C x 5s	0,337	183,6
◆	60°C x 20s	0,312	142,2
◆	55°C x 12s	0,320	155,7
◆	62°C x 12s	0,309	137,7
◆	55°C x 23s	0,319	153,6
◆	55°C x 12s	0,320	155,7
◆	50°C x 20s	0,334	178,8
◆	48°C x 12s	0,343	193,8
◆	55°C x 2s	0,325	163,5
◆	60°C x 5s	0,317	150,3

Fuente: esta investigación

6.6.3 Análisis estadístico:

Cuadro 43. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para la cantidad de proteína en los tratamientos de composición central

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CANTIDAD	33	0,97	0,96	2,52

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	12764,85	10	1276,49	73,78	<0,0001
TRA	12764,85	10	1276,49	73,78	<0,0001
Error	380,64	22	17,30		
Total	13145,49	32			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=7,04337

Error: 17,3017 gl: 22

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
Patrón	199,75	3	2,40	A
48°C x12s	193,17	3	2,40	A
50°Cx5s	182,75	3	2,40	B
50°C x20s	178,36	3	2,40	B
55°C x2s	163,01	3	2,40	C
55°Cx12s	155,88	3	2,40	D
55°C x12s	155,88	3	2,40	D
55°C x23s	153,14	3	2,40	D
60°C x 5s	150,40	3	2,40	D
60°C x20s	142,73	3	2,40	E
62°C x12s	137,79	3	2,40	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Fuente: esta investigación

En Cuadro 43, análisis de varianza el estadístico R-Cuadrado indica que el modelo, explica en un 97% la variabilidad en proteína. Con lo cual se puede deducir que el diseño cuenta con un buen ajuste, permitiendo hacer un análisis confiable sobre la variable implicada.

También se muestra que existe una diferencia altamente significativa entre las medias de los tratamientos analizados ya que su p-valor es <0,0001; para determinar cuáles son los tratamientos diferentes se recurrió a realizar un test de LSD Fisher, indicando que las medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05) y se estableció que las medias de los

tratamientos analizados disminuyen al aumentar la temperatura. Es decir que el aumento de la temperatura influye en la disminución de la cantidad de proteína (enzima PME), en el zumo de tomate de árbol.

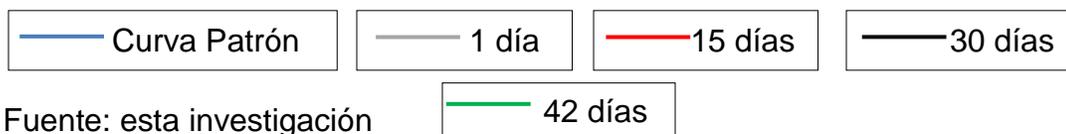
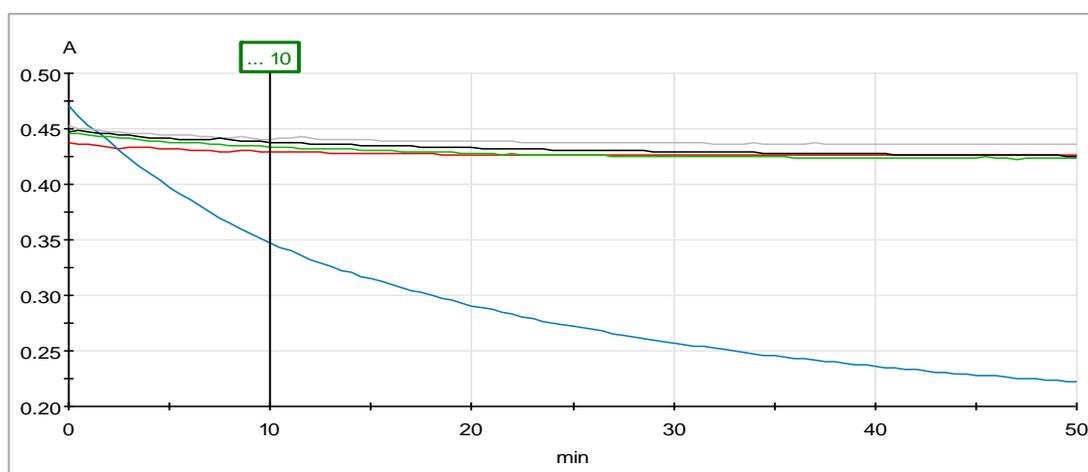
6.7 SEGUIMIENTO DE LA REACTIVACIÓN DE LA ENZIMA PME Y CANTIDAD DE PROTEÍNA

6.7.1 Seguimiento de la actividad enzimática:

El seguimiento de reactivación de la enzima PME se realizó al tratamiento óptimo encontrado, 60°Cx20s.

Gráfica 23. Actividad enzimática inicial y a 1, 15, 30 y 42 días

Cálculo Cinético 0 - 10 min



Fuente: esta investigación

Cuadro 44. Seguimiento actividad enzimática y residual

Muestra	Coef. Corrl.	Pendiente (dA/min)	Actividad Enzimática (Δ Abs/min)	Actividad residual (%)
Patrón	0,995	-0,0123	0,0123	100
1 día	0,987	-0,0012	0,0012	10
15 días	0,994	-0,0012	0,0012	10
30 días	0,988	-0,0012	0,0012	10
42 días	0,993	-0,0012	0,0012	10

Fuente: esta investigación

Cuadro 45. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para el seguimiento de la actividad enzimática y residual

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
REACTIVACION	15	0,99316	0,99042	12,98971

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,00029	4	0,00007	362,99010	<0,0001
TIEMPO	0,00029	4	0,00007	362,99010	<0,0001
Error	2,0E-06	10	2,0E-07		
Total	0,00030	14			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00082

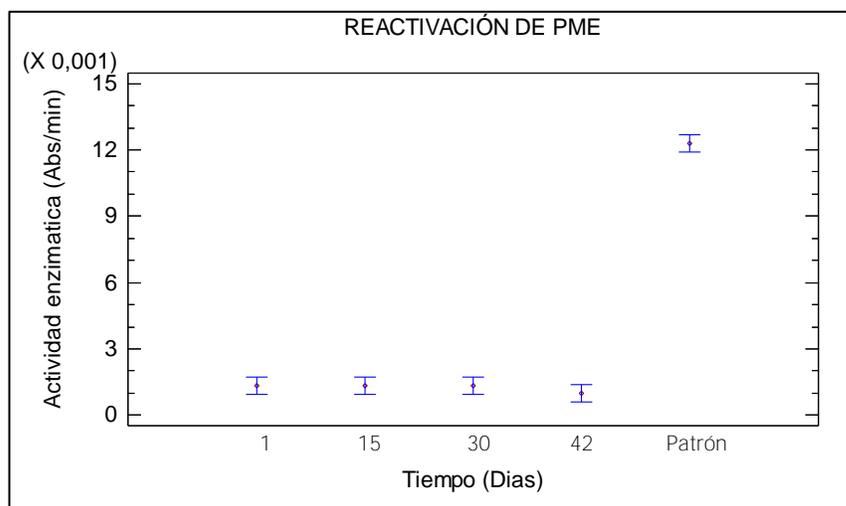
Error: 0,0000 gl: 10

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
Patrón	0,0123	3	0,00026	A
1	0,0013	3	0,00026	B
15	0,0013	3	0,00026	B
30	0,0013	3	0,00026	B
42	0,0010	3	0,00026	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Fuente: esta investigación

Gráfica 24. Gráfica de medias para reactivación de PME



Fuente: esta investigación

6.7.2 Seguimiento de la cantidad de proteína:

Cuadro 46. Seguimiento de la cantidad de proteína

Muestra	Absorbancia (nm)	Proteína (µg/mL)
Patrón	0,347	199,74
1 día	0,314	146,01
15 días	0,313	144,91
30 días	0,313	143,27
42 días	0,312	142,17

Fuente: esta investigación

Cuadro 47. Análisis de la varianza y Prueba LSD Fisher para el seguimiento de la cantidad de enzima

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CANTIDAD	15	0,99	0,99	1,27

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	7458,12	4	1864,53	478,04	<0,0001
TIEMPO	7458,12	4	1864,53	478,04	<0,0001
Error	39,00	10	3,90		
Total	7497,12	14			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=3,9294

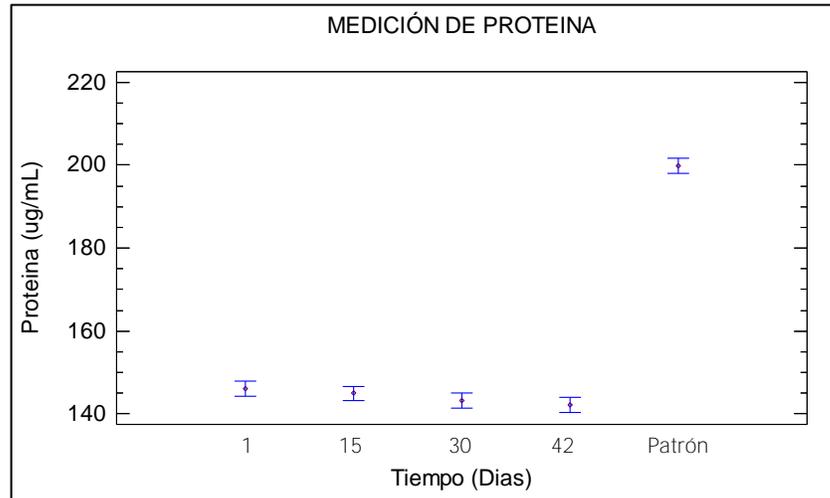
Error: 3,9004 gl: 10

TIEMPO	Medias	n	E.E.
0	199,74	3	1,14 A
1	146,01	3	1,14 B
15	144,91	3	1,14 B
30	143,27	3	1,14 B
42	142,17	3	1,14 B

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

Fuente: esta investigación

Gráfica 25. Gráfica de medias para medición de proteína



Fuente: esta investigación

Los análisis de varianza de los Cuadros 45 y 47 muestran que los estadísticos R-Cuadrado explican el modelo en un 99%, la variabilidad de la reactivación de PME y la cantidad de proteína en un periodo de seguimiento de 42 días. Con lo cual se puede realizar un análisis confiable sobre las variables implicadas.

También indican que existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos analizados ya que su p-valor es $<0,0001$, y para poder determinar cuáles de los tratamientos son diferentes se realizó un test de LSD Fisher, este indica que las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$), lo que también se puede observar en las gráficas 24 y 25. Donde la muestra patrón difiere de los tratamientos 1, 15, 30 y 42 días. Es decir que la cantidad y actividad de la enzima PME permanece constante o que posee una actividad residual del 10% durante el tiempo evaluado.

7. CONCLUSIONES

Los protocolos para la extracción, medición y cuantificación de la enzima PME establecieron la presencia, actividad y la cantidad de la enzima en el zumo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*).

La combinación de los factores óptimos (tiempo y temperatura) de pasteurización para la inactivación parcial de la enzima PME fue de 60°Cx20s, con el cual se alcanza una inactivación del 90% y evita la separación de fases en el zumo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*).

El análisis fisicoquímico realizado a un zumo fresco y a un zumo pasteurizado a 60°Cx20s, indica que todas las características evaluadas se conservan después de la aplicación del tratamiento térmico óptimo.

Las pruebas sensoriales realizadas a los jueces entrenado y consumidores establecieron que un zumo fresco y un pasteurizado a 60°Cx20s posee mayor aceptación que un zumo pasteurizado a 90°Cx20s, indicando que las altas temperaturas y tiempos largos de exposición en los zumos afectan las propiedades organolépticas.

El análisis microbiológico realizado al tratamiento 60°Cx20s permitió establecer que no existe la presencia de esporas de clostridium sulfito reductor, coliformes fecales/totales y que los mohos/levaduras se encuentran dentro del límite permitido, mientras que no se logró alcanzar este límite en mesófilos aerobios.

El zumo de tomate de árbol pasteurizado a 60°Cx20s y almacenado durante 42 días a una temperatura de refrigeración (4°C), presentó una actividad residual de un 10%, con lo que establece que no existe una reactivación de la enzima PME durante el tiempo de estudio.

8. RECOMENDACIONES

Continuar con las investigaciones enfocándose en combinar la pasterización con un segundo tratamiento, el cual debe permitir conservar lo obtenido en esta investigación y ganar otras características, como la eliminación de mesófilos hasta el rango permitido, para aumentar la vida útil del zumo.

Realizar un seguimiento de la vida útil, propiedades fisicoquímicas y sensoriales del producto bajo las condiciones encontradas en los tratamientos combinados.

BIBLIOGRAFÍA

Abril Vanadoche Ana Casp and Requena José. Procesos de conservación de alimentos [Book]. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. (2ª edición). - 2004.

Anzaldúa-Morales Antonio. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría en la teoría y la práctica [Book]. - Zaragoza : Acribia,S.A., 1994.

Badui S. Química de los Alimentos [Libro]. - Mexico : Editorial Alambra Mexicana, 1999.

Bollag Daniel, Michael Rozycki And Stuart Edelstein. Protein methods [Book]. - New York : Copyright, 1996.

Carbonell José V, Contreras Patricia, Carbonell Leire, Navarro José Luis. Pectin methylesterase activity in juices from mandarins, oranges and hybrids [Journal]. // Eur Food Res Technol. - 2006. - Vol. 222. - pp. 83–87.

Castro Yenny. Proyecto de tomate de árbol [En línea] // Yenny Castro. - 25 de 11 de 2008. - 8 de 10 de 2011. - <http://yennycastro.blogspot.com/2008/11/proyecto-tomate-de-arbol.html>.

Cardarelli M Botondi, Vizovitis K, and Mencarelli f. Effects of Exogenous Propylene on Softening, Glycosidase, and Pectinmethylesterase Activity during Postharvest Ripening of Apricots [Journal].// J. Agric. Food Chem. - 2002 - Vol. 50 - pp. 1441-1446

Colombia ministerio de agricultura y desarrollo rural. www.agronet.gov.co. [En línea]. - 1 de Diciembre de 2008. - 20 de marzo de 2010. - <http://www.agronet.gov.co/agronetweb/>.

_____. **Consolidado Agropecuario- Nariño** [Publicación periódica]. - 2008.

Colombia ministerio de agricultura y desarrollo rural. La cadena de los frutales de exportación en Colombia. Una Mirada Global de su Estructura y Dinámica 1991-2005 [Publicación periódica]. - 2009. - págs. 47-48

Coorpoica, INIAP and INIA. Tomate de árbol, fruta promisorio para la diversificación del agro andino - 2005.

Corredig Milena, Kerr William and Wicker Louise. Separation of Thermostable Pectinmethylesterase from Marsh Grapefruit Pulp [Journal].// J. Agric. Food Chem. - 2000 - Vol. 48 - pp. 4918-4923.

Chamorro Derazo Jairo Libardo and Villarreal Daza Yesenia. Estudio de factibilidad para el montaje de una empresa procesadora y comercializadora de zumos naturales en la ciudad de San Juan De Pasto [Tesis]. - 2011.

Chen L, Kenyon L, Curtin F, Harayama S, Bembenek M, Hajipour G, Whitman C. 4-Oxalocrotonate tautomerase, an enzyme composed of 62 amino acid residues per monomer [Journal].// The Journal Of Biological Chemistry- 1992- Vol. 267 (25) - pp. 17716-17721

Cruz R. M. S, Vieira M. C and Silva C. L. M. Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*) [Journal] // Journal of Food Engineering. - 2006 - Vol. 72. - pp. 8–15.

Espachs-Barroso Alexandre, Van Loey Ann, Hendrickx Marc, Martin-Belloso Olga. Inactivation of plant pectin methylesterase by thermal or high intensity pulsed electric field treatments [Journal] // Innovative Food Science and Emerging Technologies - 2006 - Vol. 7 - pp. 40 – 48.

Fachin Diana M, Van Loey Ann, Guyen Binh Isabel, Verlent Marc E And Hendrickx Indrawati. Comparative Study of the Inactivation Kinetics of Pectinmethylesterase in Tomato Juice and Purified Form [Journal] // Biotechnol Prog - 2002- Vol. 18 - pp. 739–744

Fernández Cristina. Caracterización reológica y optimización de la textura de purés de patata frescos y congelados. efectos del proceso y adición de crioprotectores. [Tesis doctoral].// Universidad Complutense De Madrid - 2008.

Ferrer Laboratorios. Actividad enzimática.- 2007. - pp. 1-4.

Giner, J, V Gimeno, A Espachs, P Elez, GV Barbosa-Cánovas, and O. y Martín. "Inhibition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) pectin methylesterase by pulsed electric fields." *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2000: 57–67.

Gobernacion del Valle del Cauca. www.valledelcauca.gov.co [online]. - 14 de 08 de 2008. - 18 de 01 de 2012. - <http://www.valledelcauca.gov.co/agricultura/publicaciones.php?id=5858>.

Gordon Anthon, Sekine Yukio, Barrett Nobuo Watanabe and Diane M. Thermal Inactivation of Pectin Methylesterase, Polygalacturonase, and Peroxidase in Tomato Juice [Journal] // J. Agric. Food Chem. - 2002 - Vol. 50 - pp. 6153-6159.

Guerrero Jaramillo Andrea Paola. Influencia de la Temperatura en la Inactivación de la Pectinmetilesterasa Durante Tratamiento Térmico en la Pulpa de *Badea* (*p. quadrangularis*) [Tesis doctoral]. - 2008.

Hagerman Ann E and Austin Paul J. Continuous Spectrophotometric Assay for Plant Pectin Methyl Esterase [Journal]. // J. Agric. Food Chem. -1986 - Vol. 34 - pp. 440-444

Hermann Schmidt and Irma Pennacchiotti. Las enzimas en los alimentos [Periodica]. Universidad De Chile- 2001.

Hirsch Angelika R, Kirsten Förch (Née Resch), Sybille Neidhart, Gudrun Wolf, And Carle Reinhold. Effects of Thermal Treatments and Storage on Pectin Methylesterase and Peroxidase Activity in Freshly Squeezed Orange Juice [Journal].// J. Agric. Food Chem.- 2008-Vol. 56-pp. 5691–5699

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación-ICONTEC. Norma Técnica Colombiana 4129. Análisis sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores. Parte 1. Evaluadores seleccionados -1997

_____. Norma Técnica Colombiana 3925. Análisis sensorial. Metodología. Guia general -1997

_____. Norma Técnica Colombiana 3930. Análisis sensorial. Metodología Ordenamiento de acuerdo a un criterio específico (*Ranking*)-1997

_____. Norma Técnica Colombiana 5468. Zunos (jugos), nectares, pures (pulpas) y concentrados de frutas-1997

Institute of Food Technologists (IFT). Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies [Journal]. - 2000. [En línea]. - 19 de octubre de 2011. - 27 de octubre de 2011. - <http://www.ift.org/>

Ingallinera Barbara, Barbagallo Riccardo N, Spagna Giovanni, Palmer Rosai and Todaro Aldo. Effects of thermal treatments on pectinesterase activity determined in blood oranges juices [Journal] // Enzyme and Microbial Technology - 2005 - Vol. 36 - pp. 258–263

Irwe S and Olson I. Reduction of pectinesterase activity in orange juice by high-pressure treatment. [Journal] // Minimal Processing of Foods and Process Optimization. - 1994 - pp. 35–42.

Jakób Alina, Jolanta Bryjak and Milan Polakovič. Selection of a method for determination of activity of pectinolytic enzymes in berry fruit materials [Journal] // Chemical Papers - 2009 - Vol. 63 (6). pp. 677–682.

Jolie Ruben P, Duvetter Thomas, Houben Ken, Clynen Elke, Sila Daniel N, Van Loey Ann M and Hendrickx Marc E. Carrot pectin methylesterase and its

inhibitor from kiwi fruit: Study of activity stability and inhibition [Publicación periódica] // ScienceDirect. - 2009. - págs. 1-9.

Koffi E.K, Ezoua P, Sidibe D N. And Agbo G .Sensory analysis of the fruit juice of palmyrah palm (borassus aethiopum): a decision making tool [Journal].// African journal of food agriculture nutrition and developmet - 2010- Vol. 10 (7).-pp.1-16

Laboratorios Especializados De La Universidad De Nariño. Guía de análisis químico y microbilógico de alimentos - 2010

Lagos Tulio Cesar. Evaluación y selección de genotipos superiores de tomate de árbol (Cyphomandra betacea (Cav). Sendt) en la zona andina de Nariño - 2009

Lewis Michae J and Heppelln J. Continuous Thermal Processing of Foods: Pasteurization and Uht Sterilization [Book].Ed.Kathi litzenberg- 2005.

Lobo M. Recurso genéticos y mejoramiento de frutales andinos [Publicación periódica]. - [s.l.] : Revista Corpoica , 2006. - Vol. 7.

Luiz R. C, Medeiros H.T and Clemente E. Cinetica de inactivacao da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (persea americana MILL) [Journal] // Cienc. agrotec. - 2007. - pp. 1766-1773.

Matsui k. N, Granado I. M, Oliveira P. V and Tadini C. C. Peroxidase and polyphenol oxidase termal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. [Publicación periódica] // LWT. - 2007. - Vol. 40. - págs. 852 – 859.

Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB). - Enzyme Nomenclature [En línea]. - 19 de octubre de 2011. - 27 de octubre de 2011. - <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>.

Ocampo Elizabeth and Barrera Elizabeth. Evaluación de las características fisicoquímicas del tomate de árbol (cyphomandra betacea s.) en tres estados demaduración. [Journal].//SENA - 2009.

Odriozola Isabel. Obtencion de zumos y frutos cortados con alto potencial antioxidante mediante tratamientos no termicos [Tesis doctoral]. Universitat De Lleida- 2009.

Oliveros Homero, Chavez Carlos, Hashimoto José, Amaya Julio.Tomate de árbol (cyphomandra betacea) [Publicación]. Gerencia Regional De Recursos Naturales Y Gestión Del Medio Ambiente- Trujillo – Perú - 2006. - pp. 1-8.

Osorio O, Martinez-Navarrete N, Moraga J and Carbonell G. Effect of Thermal Treatment on Enzymatic Activity and Rheological and Sensory Properties of Strawberry Purees [Journal]. // Food Science and Technology International- 2008- Vol. 14 - pp. 103

Pelayo Maite. Conservación de alimentos: tratamientos térmicos alternativos [Journal]. //Chile Potencial Alimentaria- 2007.

Pelloux Jerome, Rusterucci Christine and Mellerowicz Ewa. New insights into pectin methylesterase structure and function [Journal]. // Elsevier - 2007- Vol.12 No.6. pp. 267 - 277.

Pierce Biotechnology Laboratory. Instructions Coomassie plus protein assay reagent kit. - 2010.

Ramirez Benavides Nelly Sughey. Optimización del proceso de elaboración de pulpa de tomate de árbol (*Solanum betaceum cav*), maximizando la retención de ácido ascórbico. [Journal] // universidad tecnica particular de loja, escuela de ingeniería en industrias agropecuarias.. - 2008. - pp. 1-119.

Repo Carrasco Ritva and Encina Zelada Christian. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas [Journal].// Rev Soc Quím Perú. -2008- Vol. 74(Nº 2)-pp.108-124

Revista Colombiana Inteligente. Sisav.valledelcauca.gov.co [Online] // sisav.valledelcauca.gov.co. - 10 01, 2009. - 08 12, 2010. - http://sisav.valledelcauca.gov.co/cadenas_pdf/hortofruticola/lulo%20perfil%20de%20producto.cci.pdf.

Ribeiro Mariotto Juliana. Estagio de docencia cinetica enzimatica. - 2006.

Rivas Rodrigo, Martínez G.V and Barbosa-Canovas Rodrigo. Effect of PEF and heat pasteurization on the physical–chemical characteristics of blended orange and carrot juice [Journal]. elsevier - Junio 7, 2006- Vol. 39 - pp. 1163–1170.

Rudra S. G, Shivhare U. S and Basu Santanu. Termal inactivation kinetics of peroxidasa in mint leaves [Publicación periódica] // Journal of Food Engineering. - 2008. - Vol. 85. - págs. 147 – 153.

Schmidt Hernann and Pennacchiotti Irma. Las enzimas en los alimetos [Journal]. // elsevier - Mayo 7, 2001- Vol. 34

Sentandreu E, Carbonell L, Carbonell J And Izquierdo V. Effects of Heat Treatment Conditions on Fresh Taste and on Pectinmethylesterase Activity of Chilled Mandarin and Orange Juices [Journal]. Food Science and Technology International -2007 - Vol. 11 - pp. 217-222

Silva Filipa V. M. and Gibbs Paul. Target Selection in Designing Pasteurization Processes for Shelf-Stable High-Acid Fruit Products [Journal] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition.. - 2004. - pp. 353 – 360.

Subprograma de cooperacion tecnica. Tomate de árbol cyphomadra betacea [Publicación periódica] // Identificacion De Mercados Y Tecnologia. - 2001. - págs. 1-30.

Tiwari B.K, Muthukumarappan K, O'donnell C.P and Cullen, P.J. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice [Journal] // Innovative Food Science and Emerging Technologies. - 2009. - pp. 166-171.

Torres E., Bayarr F, Sampedro S, Martinez F. And Carbonell J.V. Improvement of the Fresh Taste Intensity of Processed Clementine Juice by Separate Pasteurization of its Serum and Pulp [Journal]// Food Science and Technology International.- 2008.- Vol.14. -pp. 525

Universidad Nacional De Colombia. www.virtual.unal.edu.co [online] // www.virtual.unal.edu.co/http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2006228/teoria/obpulpfru/p1.htm

Vicente Ariel. Efecto de tratamientos térmicos de alta temperatura sobre calidad y fisiología postcosecha de frutillas (Fragaria x ananassa Duch.) [Tesis doctoral]. // Universidad Nacional de La Plata- 2004.

Vivar vera Maria A, Salazar Montoya Juan A, Calva Graciano and Ramos Ramirez Emma G. Extraction, thermal stability and kinetic behavior of pectinmethylesterase from hawthorn (Crataegus pubescens) fruit [Journal] // ScienceDirect. - 2005. - pp. 1-7.

ANEXOS

Anexo 1. FICHA DE PRESENTACIÓN

Nombre: _____ Edad: _____

Teléfono: _____

Dirección: _____

Ocupación: _____

Dificultad para hacer las pruebas: _____

Alergias a algún alimento: _____

Fuma:

Si: ____ No: ____

Observaciones:

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN.

Anexo 2. HOJA DE RESPUESTA - PRUEBA SENSORIAL EFECTIVA

EVALUACION SENSORIAL DE NECTAR DE TOMATE DE ÁRBOL.

FECHA: _____ HORA: _____

INSTRUCCIONES: Ante usted se encuentran 3 muestras de néctar de tomate de árbol. Identificadas con códigos 109, 280 y 467 marque con una X su preferencia en cuanto a **olor, color, sabor y aceptabilidad**.
Elimine los sabores entre cada muestra con agua.

CARACTERÍSTICAS	OLOR			COLOR			SABOR			ACEPTACION EN GENERAL		
	109	280	467	109	280	467	109	280	467	109	280	467
Me gusta mucho												
Me gusta												
Me es indiferente												
Me disgusta												
Me disgusta mucho												

OBSERVACIONES: _____

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN.

Anexo 3. HOJA DE RESPUESTA - PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DE SABORES BÁSICOS.

Nombre: _____

Fecha: _____

INSTRUCCIONES

Las soluciones pueden tener un gusto dulce, ácido, amargo y salado. También puede haber una o más muestras que tienen 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	SABOR
622	_____
826	_____
942	_____
577	_____
680	_____

Observaciones:

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Anexo 4. HOJA DE RESPUESTA - PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DE OLORES BÁSICOS.

Nombre: _____

Fecha: _____

INSTRUCCIONES

Los recipientes contienen sustancias olorosas que se encuentran comúnmente. Acerque el recipiente a su nariz, saque la tapa, repita brevemente 3 veces y trate de identificar el olor. Si no conoce el nombre exacto de la sustancia, trate de describir alguna cosa con la que usted asocie ese olor.

CÓDIGO

OLOR

402

319

768

823

Observaciones:

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

**Anexo 5. HOJA DE RESPUESTA- PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN -
ORDENAMIENTO.**

Nombre: _____ **Fecha:** _____

INSTRUCCIONES

Se le han entregado 17 muestras, indique sus respuestas usando el código señalado en cada una, de acuerdo a la solicitud de los puntos 1, 2 y 3.

- 1. SABOR:** *indique el código de las muestras, de menor a mayor intensidad.
Elimine sabores antes de empezar y entre cada muestra con agua.*

Código	MENOR			MAYOR

- 2. OLOR:** *indique el código de las muestras, de menor a mayor intensidad.*

Código	MENOR			MAYOR

- 3. COLOR:** *indique el código de las muestras, de menor a mayor intensidad.*

Código	MENOR								MAYOR

Observaciones:

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

**Anexo 6. HOJA DE RESPUESTA - PRUEBA DE DISCRIMINACIÓN -
ORDENAMIENTO.**

Nombre: _____ Fecha: _____

INSTRUCCIONES

*Frente a usted se encuentran 3 muestras de **Néctar De Tomate De Árbol** debe ordenarlas de menor a mayor intensidad de acidez y color y de malo a bueno olor y sabor.*

ACIDEZ.

	MENOR		MAYOR
Código			

COLOR.

	MENOR		MAYOR
Código			

OLOR.

	MALO		BUENO
Código			

SABOR.

	MALO		BUENO
Código			

Observaciones:

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Anexo 7. REPORTE DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS MUESTRA PATRON

 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.	LB-R-082A-11
Solicitante:	Mayra Patricia Maca Barrios	Muestra:	Zumo de Tomate de Árbol. Muestra 0	Código lab	422
Dirección:	Pandiaco	Procedencia: Planta Piloto Universidad de Nariño			
cc / nit:	1.089.480.055				
Teléfono:	3116068556	Fecha de Muestreo:	DD 16 MM 08 AA 11		
e-mail	mayrap88@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra	DD 17 MM 08 AA 11		
		Fecha Reporte	DD 09 MM 09 AA 11		
ANÁLISIS SOLICITADO		Humedad, Ceniza, Fibra, Proteína, Azúcares totales, Calcio, Fósforo, Hierro, Ácidoz, Energía			
PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Zumo Tomate de Árbol, Muestra 0
Humedad	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	89,3
Materia seca	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	10,7
Ceniza	Incineración mufla	Gravimétrica	g/100g	-	0,77
Fibra cruda	Digestión ácida-básica. Bolsas Ankom	Gravimétrica	g/100g	-	0,81
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	1,18
Energía	Bomba calorimétrica	Calorimétrica	Kcal/100g	-	41,9
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	9,76
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	22,5
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,34
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	4,61
Acidez titulable (ácido cítrico)	NTC 4623	Volumétrica	g/100g	-	2,09
OBSERVACIONES	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA Composición por cada 100 g de parte comestible				


Laboratorio de Bromatología y Alimentos
 Gloria Rodríguez Pinilla
 Téc. Laboratorio Bromatología

Elaboró: GSE 09/09/2011
 Revisó: GSE 09/09/2011

Anexo 8. REPORTE DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS MUESTRA 60°C x 20s

 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-082B-11
Solicitante:	Mayra Patricia Maca Barrios	Muestra:	Zumo de Tomate de Árbol. Muestra 1.R1	Código lab	423
Dirección:	Pandiaco	60 °C, 20"			
cc / nit: 1.089.480.055		Procedencia: Planta Piloto Universidad de Nariño			
Teléfono:	3116068556	Fecha de Muestreo	DD 16 MM 08 AA 11		
e-mail	mayrap88@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra	DD 17 MM 08 AA 11		
		Fecha Reporte	DD 09 MM 09 AA 11		
ANÁLISIS SOLICITADO		Humedad, Ceniza, Fibra, Proteína, Azúcares totales, Calcio, Fósforo, Hierro, Acidez, Energía			
PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Zumo Tomate de Árbol. Muestra 1
Humedad	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	89,3
Materia seca	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	10,7
Ceniza	Incineración mufla	Gravimétrica	g/100g	-	0,78
Fibra cruda	Digestión ácido-básica. Bolsas Ankom	Gravimétrica	g/100g	-	0,87
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	1,17
Energía	Bomba calorimétrica	Calorimétrica	Kcal/100g	-	43,0
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	9,19
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	24,1
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,49
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	5,46
Acidez titulable (ácido cítrico)	NTC 4623	Volumétrica	g/100g	-	2,07
OBSERVACIONES	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA Composición por cada 100 g de parte comestible				


Laboratorio de Bromatología y Alimentos
 Gloria Sandra Espinoza Martínez
 Téc. Laboratorio Bromatología

Elaboró: GSE 08/09/2011
 Revisó: GSE 09/09/2011

Anexo 9. REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS MUESTRA PATRON

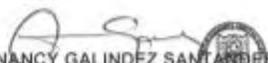
	SECCION DE LABORATORIOS INFORME RESULTADOS DE MICROBIOLOGÍA	Código: LBE-PRS-FR-103 Página: 1 de 1 Versión: 1 Vigente a partir de: 2010-09-30
---	--	--

AREA : LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Fecha toma muestra: 16 de Agosto de 2011 Hora toma muestra: 09.00 a.m. Fecha de Recepción: 17 de Agosto de 2011 Hora de Recepción: 03.00 p.m. Fecha de Reporte: 24 de Agosto de 2011 Producto: Zumos de Tomate de Arbol Muestra tomada por: Maira Patricia Maca Análisis solicitado: Microbiológico Observaciones: Muestra N°0	Acta número: 031 Código de la muestra: LMA11-142 Establecimiento: - Representante legal: Maira Patricia Maca Nit/C.C.: 1089480055 Dirección y Tel: 3116068556 Municipio - Depto: Pasto- Nariño Sitio de toma: Planta Piloto Motivo de Análisis: Estudio
--	---

RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO	VR. ADMISIBLE PARA JUGOS DE TOMATE RESOL1579084
Número más probable de Coliformes Totales/g	Menor de 3	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3	Menor de 3
Recuento de microorganismos Mesófilos ufc/g	21.000	100 - 300
Recuento total de Hongos / Levaduras ufc/g	120	20 - 50
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10	Menor de 10



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

Anexo 10. REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS MUESTRA 60°Cx20s

	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:	16 de Agosto de 2011	Acta número:	031
Hora toma muestra:	09:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA11-141
Fecha de Recepción:	17 de Agosto de 2011	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	03:00 p.m.	Representante legal:	Maira Patricia Maca
Fecha de Reporte:	24 de Agosto de 2011	Nit/C.C:	1089480055
Producto:	Zumo de Tomate de Arbol	Dirección y Tel:	3116068556
Muestra tomada por:	Maira Patricia Maca	Municipio - Depto:	Pasto- Narifo
Análisis solicitado:	Microbiológico	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Muestra N°1 R1	Motivo de Análisis:	Estudio

RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO	VR. ADMISIBLE PARA JUGOO DE TOMATE RESOL15790/84
Número más probable de Coliformes Totales/g	Menor de 3	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3	Menor de 3
Recuento de microorganismos Mesófilos ufg	10.000	100 - 300
Recuento total de Hongos / Levaduras ufg	10	20 - 50
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10	Menor de 10


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


 Laboratorio de Alimentos
 Universidad de Alimentos